

Métodos de aglutinación con partículas de látex y Rantz-Randall para el diagnóstico de las infecciones estreptococicas

Agglutination and Rantz - Randall methods for the diagnosis of streptococcal infections

Pozo de N.E.¹; Romero, T.²; Ruiz, A.³; Hidalgo, R.⁴; Quintero, S.⁴, Vivas, C.⁴

1. Profesora asociada. Práctica Profesional de Inmunología. Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina. La Universidad del Zulia. Maracaibo, Estado Zulia. Venezuela.

2. Profesora titular. Cátedra de Inmunología. Escuela de Medicina. Facultad de Medicina. La Universidad del Zulia. Maracaibo. Estado Zulia, Venezuela.

3. Becario docente. Cátedra de Hematología. Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina. La Universidad del Zulia. Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela.

4. Licenciados en Bioanálisis.

RESUMEN

En el presente trabajo se compararon los métodos de aglutinación con partículas de látex (AL) y Rantz-Randall (R.R.) para investigar anticuerpos antiestreptolisina "O" en 72 muestras de sueros sanguíneos. Este estudio reveló un mayor porcentaje de positividad, por el método R.R. (55,5%) que por AL (16,6%). Cuando evaluamos la discordancia en nuestros datos, se observa que un suero positivo por AL (título 400 UI/ml) fue negativo para R.R., lo cual pudo ser un falso positivo por la presencia de anticuerpos inespecíficos. En el caso de las 19 muestras de suero que resultaron positivas por R.R. a diluciones superiores a 1:240 y negativas por AL, podría explicarse por la mayor sensibilidad de la primera técnica y/o la presencia de falsos negativos por la técnica de AL, debido al fenómeno de prozona. El análisis estadístico mediante

MÉTODOS DE AGLUTINACIÓN CON PART

el Chi cuadrado, determinó que entre los métodos de R.R. y AL, hubo diferencia significativa, lo cual reveló la importancia de este estudio, ya que demuestra que el método de R.R. constituye una alternativa superior al de AL, como complemento del diagnóstico clínico y bacteriológico de las infecciones estreptocócicas.

Palabras claves: Infección estreptococia, Rantz-Randall, Aglutinación con partículas de látex.

ABSTRACT

In the present study we compared the Látex Agglutination (AL) and Rantz-Randall methods to determine antistreptolysin O antibodies in 72 serum samples. Our study revealed a greater percentage of positivity in the R.R. (55,5%) compared to the AL (16,6%) method. Evaluating the discordance of our results, we observed that a serum which was positive by AL (titer 400 UI/ ml), was negative by R.R., this could be explained by the presence of non specific antibodies. The case of the 19 samples that resulted positive by R.R. at dilutions above 1:240 and negative by AL, could be explained because of the higher sensitivity of the first method and/or presence of false negatives for the AL method caused by the prozone effect. The Chi² statistical analysis revealed a significant difference between methods, outstanding the relevance of our study, that demonstrates that the R.R. method is a better alternative as a complement of the clinical and bacteriologic diagnosis in streptococcal infection.

Key words: Streptococcal infections, Rantz Randall, Agglutination.

INTRODUCCIÓN

Streptococcus β -hemolítico del grupo "A" es un microorganismo de distribución cosmopolita identificado por primera vez por Pasteur a fines del siglo XIX. Esta especie es patógena para el hombre y se transmite de persona a persona por vía respiratoria. Son bacterias Gram positivas, de forma esférica u ovoide, que se disponen en pares o cadenas de longitud variada, que pertenecen al Género: *Streptococcus*, Especie: *S. pyogenes*.[6,7,12](#) Este microorganismo es la causa más frecuente de faringoamigdalitis; sin embargo, el índice de portadores se encuentra entre el 16 y 20%.[10,12](#) Su importancia clínica radica en las

MÉTODOS DE AGLUTINACIÓN CON PART

complicaciones que se pueden presentar, como son: fiebre, reumática, glomerulonefritis aguda post-estreptocócica y eritema nodoso.³

La fiebre reumática es una enfermedad que aparece luego de un período de aproximadamente tres semanas después de la infección estreptocócica de la faringe. Clínicamente, se manifiesta por fiebre, escalofríos, malestar, artritis y carditis; se observa entre los 5 y 15 años de edad.³ El mecanismo etiopatogénico consiste en una reacción cruzada entre los anticuerpos antiproteína M estreptocócica y el tejido cardíaco.¹¹

La glomerulonefritis aguda es una forma de nefritis caracterizada por una inflamación del glomérulo que aparece luego de un período de latencia de aproximadamente 10 días después de una infección por *estreptococcus β-hemolítico* del grupo "A". Clínicamente, se manifiesta con hematuria, proteinuria, edema e hipertensión. La glomerulonefritis aguda se incluye dentro de los grupos de enfermedades por complejos inmunitarios, confirmado por la demostración de estos complejos depositados en la membrana glomerular. ^{3,12,20}

Eritema nodoso es una paniculitis caracterizada por nódulos subcutáneos eritematosos, dolorosos, habitualmente en la parte anterior de las piernas. La hipersensibilidad a medicamentos, sobre todo anticonceptivos orales, es una de las causas de este proceso y su mecanismo patogénico es desconocido.^{3,16}

El diagnóstico de las enfermedades post-estreptocócicas puede establecerse mediante la historia clínica del paciente, el cultivo bacteriológico y la medición de los anticuerpos que se producen en respuesta a los diversos antígenos somáticos y extracelulares.^{5,7,8} La detección de estos anticuerpos por diferentes métodos de laboratorio ha sido usada por los clínicos para ayudar en el diagnóstico de las infecciones estreptocócicas.^{5,8,9} Entre los anticuerpos inducidos por los antígenos del microorganismo en referencia tenemos; antiproteína M estreptococia,^{1,2} antiestrepsilina "O",^{5,7} antihialuronidasa,³ antidesoxirribonucleasa,³ y antinicotinamida adenina dinucleotidasa.³ De las anteriores, la más importante es la antiestreptolisina "O", detectándose en aproximadamente el 85% de los pacientes con faringitis estreptocócica y actualmente se dispone de pruebas fáciles estandarizadas para su determinación.³

Las infecciones por estreptococos tienen una alta incidencia en el mundo en áreas tropicales y subtropicales,¹⁷ debido a esto su diagnóstico clínico,

MÉTODOS DE AGLUTINACIÓN CON PART

bacteriológico y serológico en conjunto establece una gran contribución para los profesionales de la salud, encargados de indicar la terapéutica específica que puede ayudar al paciente a resolver su problema de salud y mejorar su calidad de vida.

Esta investigación tiene como finalidad establecer comparación entre dos pruebas serológicas utilizadas en el diagnóstico de las enfermedades estreptocócicas, las cuales son Aglutinación con partículas de látex (AL) y Rantz-Randall (R.R.) y determinar cuál de los métodos permite la mayor detección de casos.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. *Recolección de la muestra.* Se seleccionaron por punción venosa 72 muestras de sueros sanguíneos provenientes de pacientes aparentemente sanos referidos al Instituto Hematológico de Occidente (Banco de Sangre), Maracaibo, Estado Zulia.

Las muestras de sangre obtenidas sin anticoagulante se centrifugaron a 3000 r.p.m. durante 10 min. Separando luego el suero en dos alícuotas siendo almacenadas a menos de 20°C hasta el momento de su estudio.

2. *Métodos.*

2.1 *Técnica de aglutinación con partículas de látex. (AL)*

2.1.1 *Fundamento de la prueba.*

Se basa en la determinación de anticuerpos contra la estreptolisina "O" (antiestreptolisina "O") presente en la muestra de suero por investigar, los cuales reaccionan con la estreptolisina "O" estabilizada y adherida a la superficie de las partículas de látex, evidenciándose el complejo antiestreptolisina "O"-estreptolisina "O" por la formación de grumos (aglutinación) que puede observarse macroscópicamente.

2.1.2 *Procedimiento*

Se realizó según la técnica Humatex Aso, Laboratorios Human.

La formación de grumos (aglutinación) en muestras no diluidas indica que existe un contenido de antiestreptolisina "O" mayor de 200 UI/ml, determinándose el título de la última dilución del suero donde se observa aglutinación. Para reportar la concentración de antiestreptolisina "O" se

MÉTODOS DE AGLUTINACIÓN CON PART

multiplica este título por el factor de conversión que en este caso es 200 y así obtener los resultados en UI/ml, por ejemplo:

Título 1:5 \otimes concentración de ASO - 5×200 (UI/mL) = 1000 UI/mL

En el caso de no observarse formación de grumos en la muestra sin diluir se reporta:

Concentración de ASO - 200 UI/ml

Todo resultado que se reporta debe ir acompañado de los valores normales, que en el caso de los niños es de 300 UI/ml y en los adultos es de 200 UI/ml.

2.2 Técnica de Rantz-Randall

2.2.1. Fundamento de la prueba

Se basa en la capacidad que tiene la estreptolisina "O" de combinarse con la antiestreptolisina "O" presente en el suero del paciente por analizar, y la propiedad que tiene la enzima, que no se recombina con el anticuerpo, de lisar los glóbulos rojos de humano, o de animales como: carnero o conejo.

2.2.2 Procedimiento

La enzima utilizada es de los laboratorios Difco.

Se consideró positiva la máxima dilución del suero en el cual se observó inhibición total de la hemólisis.

Se reporta el inverso de la dilución en unidades todd. Ej: título 1:480 = 480 Uds. todd.

RESULTADOS

Como podemos apreciar en el Cuadro 1, de los 11 sueros sanguíneos estudiados, utilizando los métodos AL y R.R., 12 (16.6%) resultaron positivos para AL y 40 (55.5%) fueron positivos para R.R.



En el Cuadro 2, se observa que del total de muestras procesadas con los métodos de AL y R.R., 40 (55.5%) mostraron concordancia negativa y 12 (16.6%) concordancia positiva, lo cual constituye una concordancia global del

MÉTODOS DE AGLUTINACIÓN CON PART

72.1 % (52 sueros). En relación a la discordancia entre ambas pruebas, 1 muestra (1.4%) resultó positiva por AL y negativa por R.R. y 19 sueros (26,4%) resultaron negativos por AL y positivos por R.R., lo cual hace un total de 20 sueros (27.8%) con resultados discordantes.



Si observamos el Cuadro 3, encontramos que los 19 sueros (100%) negativos para AL, resultaron positivos para R.R. con la siguiente distribución: 1 suero (5.3%) reveló títulos de 1:240, 7 (36,8%) títulos de 1:340, 1 (5.3%), títulos de 1:480, y 10 (52,6%) títulos de 1:680.

La obtención del chi cuadrado revela que el χ^2 observado (11.67%), es superior al χ^2 crítico (3.84) lo que determina un resultado significativo.



DISCUSIÓN

Los estreptococos β -hemolíticos del grupo A producen varios antígenos intracelulares y extracelulares que estimulan la producción de anticuerpos por parte del paciente infectado. Muchos de estos anticuerpos son detectables mediante pruebas serológicas apropiadas. La mayoría de las que se realizan en el presente utiliza antígenos extracelulares solubles, el más familiar de los cuales es la estreptolisina O. Las siguientes enzimas sirven asimismo como antígenos estreptocócicos extracelulares: desoxirribonucleasa B (D-Nasa B), hialuronidasa, nicotinamina adenina dinucleotidasa y estreptoquinasa. Las pruebas serológicas y los anticuerpos que detectan son: antiestreptolisina O (ASO), antidesoxirribonucleasa B (ADN-B), antihialuronidasa (AA), antinicotinamina adenina dinucleotidasa (AN AD), antiestreptoquinasa (ASK) y antipolisacárido estreptocócico A(ASPAT).¹⁴

Las pruebas para la determinación de antiestreptolisina O fueron seleccionadas porque: 1) tienen una buena reproducibilidad, 2) el antígeno es producido por la mayoría de las cepas de estreptococos del grupo A, 3) el antígeno es accesible comercialmente y 4) son las pruebas más conocidas.¹⁴

Al analizar nuestros resultados, apreciamos que hubo mayor porcentaje de

MÉTODOS DE AGLUTINACIÓN CON PART

positividad por el método de R-R. (55,5%) que por el método de aglutinación con partículas de látex (16,6%). Cuadro N° 1.

La concordancia positiva entre los dos métodos nos permite deducir que los 12 sueros estudiados (Cuadro N° 2) tenían anticuerpos estreptocócicos, mientras que la concordancia negativa (Cuadro N° 2) obtenida con los sueros de 40 individuos evaluados por ambos métodos, nos indica que no presentaban anticuerpos anti-estreptolisina.

Cuando evaluamos la discordancia en nuestros datos, se observó que un suero positivo por AL (título 400 UI/ml) fue negativo para R.R. (Cuadro N° 2), lo cual pudo ser un falso positivo por la presencia de anticuerpos inespecíficos. Las reacciones falsas negativas de R.R. podrían ser consecuencia de un fenómeno de prozona debido al exceso de anticuerpos, lo cual determina mala formación de las estructuras del enrejado molecular y bloque esférico.¹⁹ Para R.R. fue descartado este fenómeno, debido a que se realizaron diluciones seriadas de los sueros.

En el caso de las 19 muestras de suero que resultaron positivas por R.R. a diluciones superiores a 1 :240 y negativos por aglutinación con partículas de látex (Cuadro N° 3), podría explicarse por la mayor sensibilidad de la primera técnica⁹ y/o la presencia de falsos negativos para la técnica AL, debido al fenómeno de prozona. En esta oportunidad no se realizó las diluciones seriadas del suero para AL, que nos permitieron confirmar el fenómeno en referencia. Por lo tanto, en la práctica recomendamos que cuando los resultados para AL den negativos, se realicen diluciones de suero, tomando en consideración los resultados de nuestra investigación.

El análisis estadístico mediante el chi cuadrado, determinó un resultado significativo entre los métodos de R.R. y AL, lo cual demostró que el método de R.R. constituye una alternativa superior al de AL, como complemento del diagnóstico clínico y bacteriológico de las infecciones estreptocócicas. Esta superioridad del método de R.R, sobre el de A.L. reafirma el comentario emitido por Klein, G.¹⁴ quien señala que el método recomendado por la mayoría de los proveedores de reactivos para la prueba de antiestreptolisina O en los Estados Unidos, es el de Rantz-Randall con una reproducibilidad del 98,1%. Utilizar métodos de laboratorio que permitan detectar el mayor porcentaje de casos, representa un elemento clave en el estudio integral del paciente.

MÉTODOS DE AGLUTINACIÓN CON PART

CONCLUSIONES

1. Nuestra investigación demostró que hubo mayor positividad por el método R.R. que por el método AL, lo cual revela la superioridad de la primera técnica.

2. El método AL aportó el mayor porcentaje de falsos negativos, lo cual representa un problema desde el punto de vista clínico, diagnóstico y epidemiológico, ya que podría dejarse sin tratamiento a pacientes que lo requieran.

3. Nuestro estudio determinó la importancia de las diluciones seriadas de los sueros, montados por AL, ya que el fenómeno de prozona es determinante en la aparición de los falsos negativos. Por otro lado, tomar en cuenta todos los títulos en una prueba permite detectar la presencia de anticuerpos en infecciones estreptocócicas recientes y con títulos en ascenso.

4. A pesar de que existen técnicas (R.R.) de laboratorio superiores a otras (AL), es necesario considerar que todo paciente debe ser estudiado desde el punto de vista integral (clínico, bacteriológico y serológico), para poder lograr un diagnóstico definitivo y una terapéutica adecuada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. Inmunología celular y molecular. 2^{da} edición. Madrid, España. Interamericana McGraw-Hill. 1995. pp 517.

2. BELLANTI, J.A. Inmunología. 3^a edición. México, México. Interamericana, 1986. pp. 31.

3. BRACHO, D.L. Manual de inmunodiagnóstico. 1^{ra} edición. Maracaibo, Venezuela. Ediluz, 1985. pp. 72-79.

4. CAMALIAS, F.; VIVER, J.; BELETA, J.; GONZÁLEZ, F.; JAVIER, F. Purification and characterization of Streptolysin O from Streptococcus pyogenes. *Inl, I. Biochem*, 1992; 24: 1073-1079.

5. CURTIS, G.D.; AGKRAAK, W.; MITCHELL, R.G. Comparison of latex and haemolysin for determination of antistreptolysin O (ASO) antibodies, *J. Clin. Pathol*, 1988; 41:1331-1333.

6. DIVO, A, Microbiología médica, 4^{ta} edición. Volumen 8. México. Interamericana, 1990, pp. 116-124.

7. FREEMAN, B. A. Microbiología de Burrows. 22^{da} edición, Madrid, España.

MÉTODOS DE AGLUTINACIÓN CON PART

Interamericana, 1986. pp. 433-451.

8. FUMMOTO, H., SATO, K.; MIURA, T.; ISHIMORJA, A. Antiestreptolisina O. Rinsho-Byori, 1992.40:21-7.

9. GERBER, M. A.; CAPARAS, L. S.; RANDOLPH, H. F. Evaluation of a new later agglutination test for detection of Streptolysin O antibodies. J. Clin. Microbiol. 1990; 28: 413-415.

10. GÓMEZ, M.; HERNÁNDEZ, C.; UZCÁTEGUI, Z.; ZAMORA, F.; MUÑOZ, F. Frecuencia de estreptococos beta-hemolíticos en estudiantes de la escuela "Luis Razetti". Boletín de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 1996; 16:6-9.

11. JANEWAY, C.A.; TRAVERS, P. Immunobiology. 1^{ra} edición. New York, E.E. U.U. Garland Publishing Inc, 1994. pp 11:20.

12. JAWETZ, E.; MELNICK, E.; ADELBERG, E.; BROOKS, G.; BUTELL, J.; ORNSTON, L, Microbiología médica. 15^{va} edición. México, D.F, Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V., 1996. pp 231-247.

13. KARL, H. S.; DIETER, G.; WOLLWEBER, L.; WERNER, R.; KARHEINZ, M.; IORG, H. O.; BERNARD, F. Mitogenicity of Ms, Protein extracted from Streptococcus pyogenes cells is due to streptococcal pyrogenic exotoxin C and mitogenic factor MF. Infection and immunity. 1995; 63:4569-4575.

14. KLEIN, G. Respuesta inmune a la infección estreptococica (antiestreptolisina O, antidesoxirribonucleasa B). En; Rose, N.; Friedman, H. El laboratorio en inmunología clínica. 2^{da} edición. Buenos Aires, Argentina. Editorial Médica Panamericana, 1984. pp. 492-502.

15. KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. E.; JANDOW, M.; SCHEEHEMBERGER, P. C.; Diagnostic microbiology. 4^a edición, Philadelphia, Editorial Lippincott, 1992. pp, 431-435.

16. PERE, E. J. Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica. 1^{ra} edición. Volumen 1. Barcelona, España. Doyma. 1992, pp, 3-14.

17. ROTTA, J.; FACKAM, R. R. Manual of microbiological diagnostic methods for streptococcal infections and their sequelae. Published by W.H.O., 1983. p. 3.

18. SIECK, J.O.; AWAD, M.; SAOUR, J.; ALT, H.; QUMIBI, W.; MERCER, E. Concurrent post-streptococcal carditis and glomerulonephritis: Serial echocardiographic diagnosis and follow-up. Eur-Heart.J. 1992; 13:1720-1723.

19. STITES, D.P.; CHANNING, R.A.P. Métodos clínicos de laboratorio para detectar la función inmunitaria celular. En: Stites, D.P.; Stobo, J.D.; Wells, J.V.

MÉTODOS DE AGLUTINACIÓN CON PART

Inmunología básica y clínica. 6^{ta} edición. México, D.F. Editorial El Manual Moderno. 1988. p. 272.

20. VAN P.G.; GAGGIN, J.A, MARTIN, D.; PUGSLEY, D.; MATHEWS, J.D. Streptococcal infección and renal disease, markers in australian aboriginal children. Med. J. Aus. 1992; 156: 537-540.