

INSTITUTO DE ONCOLOGIA Y RADIOBIOLOGIA

## Estudio comparativo de tres técnicas para determinar la proteína C reactiva

Lic. *Emilio Grueiro Azcano*, Dra. *Susana Esquenazi Mitrani*, Aux. Téc. *Vladimir Grueiro Yen*,  
Téc. *Gelsys Echevarría Maden*

**Grueiro Azcano, E. y otros:** *Estudio comparativo de tres técnicas para determinar la proteína C reactiva.*

Se plantea que la proteína C reactiva es una proteína de la "fase aguda" y que es una proteína anormal que aparece en el suero de pacientes que presentan en su organismo un proceso inflamatorio, local o generalizado. Se informa que la proteína C reactiva está presente en infecciones bacterianas, reumatismo articular agudo, infarto del miocardio con necrosis y embolia pulmonar. Los autores plantean haberla encontrado con una frecuencia mayor del 10% en más de 3 000 pacientes estudiados en el momento de su inscripción en el IOR, realizando este estudio por la técnica que se expone. La técnica es la de doble inmunodifusión en agar, Ouchterlony. No está en uso en Cuba para determinar la proteína C reactiva. Se muestra en este artículo un estudio comparativo de tres técnicas: la de precipitación en medio líquido con tubo capilar. La técnica de látex y la propuesta por nosotros. Se estudió una muestra de 455 pacientes del INOR. Se dan resultados. Se demuestra que la técnica propuesta es la más sencilla, sensible y económica.

### INTRODUCCION

La proteína C reactiva es una proteína de la "fase aguda".<sup>1,2</sup> Es una proteína anormal que aparece en el suero de los enfermos que presentan en su organismo un proceso inflamatorio local o generalizado, la cual aparece no sólo en inflamaciones debidas a procesos bacterianos, sino también en inflamaciones de origen mecánico, viral, alérgico y de cualquier otra índole.<sup>3</sup> *Tillet* y *Francis* en 1930 fueron los que observaron por primera vez que se formaba un precipitado cuando al suero de un paciente con neumonía neumocócica aguda se le añadía el polisacárido C de los neumococos.<sup>1</sup>

\* Licenciado en Química, Investigador del Laboratorio de Análisis Bioquímicos Clínicos.

\*\* Dra. en Ciencias Físico-Químicas. Jefa del Laboratorio de Análisis Bioquímicos Clínicos.

\*\*\* Auxiliar técnico del Laboratorio de Inmunoematología. Hospital Pedro Borrás Astorga".

\*\*\*\* Técnico de Laboratorio de Análisis Bioquímicos Clínicos.

Según prospecto de la casa comercial DIFCO<sup>4</sup> se informa que la proteína C reactiva está presente en: infecciones bacterianas, reumatismo agudo, infarto del miocardio con necrosis y embolia pulmonar y que *Lopstron*, *Kroop* y *Shakkman*, la encontraron en pacientes con enfermedades agudas asociadas con la degeneración del tejido y en la insuficiencia coronaria del infarto del miocardio. *Grueiro*<sup>5</sup> la encontró con una alta frecuencia en pacientes con cáncer avanzado, lo cual se relacionó con procesos inflamatorios y de destrucción tisular (hística). *Child*<sup>11</sup> propone que se utilice la proteína C reactiva para monitorear los linfomas.

La técnica propuesta es la de *Ouchteriony*<sup>1</sup> *Grabar*<sup>8</sup> considera que es el medio más adecuado para la reacción antígeno-anticuerpo.

#### MATERIAL Y METODO

Se estudia una muestra tomada al azar de 320 pacientes ambulatorios del IOR en el momento de su inscripción y 135 pacientes ingresados en el IOR; todos hombres y mujeres adultos. A todos se les determina la proteína C reactiva por las siguientes técnicas:

- a) Doble inmunodifusión (*Ouchteriony*), precipitación en agar<sup>7</sup>
- b) Precipitación en medio líquido, tubo capilar<sup>4</sup>
- c) Látex, floculación<sup>9</sup>

#### Descripción de la técnica propuesta

Reactivo: Antisuero antiproteína C reactiva (comercial Difeo)

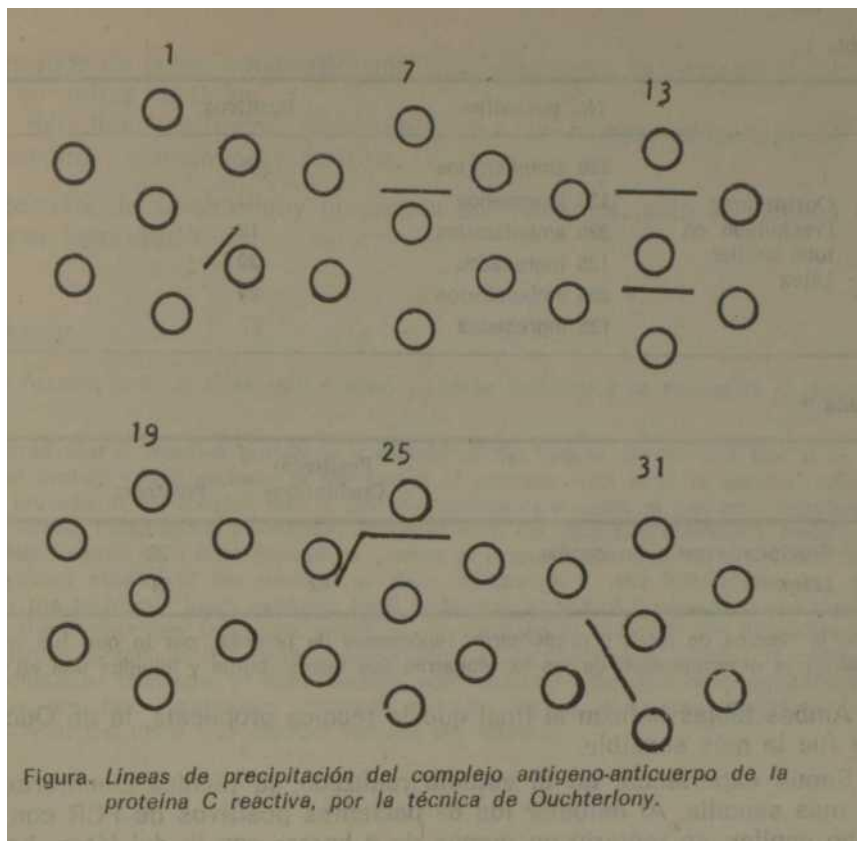
Agar para inmunodifusión Disolución fisiológica

Disolución colorante: negro de amido — 0,2 g Acido acético glacial 7 *mi* Agua destilada 100 *mi*

Disolución decolorante: ácido acético al 3%.

#### Procedimiento:

1. Preparar el gel de agar con disolución fisiológica al 1,3%.
2. Con el gel caliente se preparan placas de 1-2 *mm* de altura.
3. Horadar el gel solidificado con un troquel de siete posiciones, una en el centro y seis alrededor.
4. Depositar en cada una de las seis pocetas suero de pacientes y en la del centro el antisuero.
5. Se deja difundir 15-24 horas en una superficie nivelada y en una cámara húmeda a temperatura ambiente.
6. Si es positivo, se observa una línea de precipitación blanca, que de acuerdo con la intensidad y posición puede evaluarse (figura 1).



Si se desea se puede teñir (nosotros no lo hacemos):

1. Se lavan las placas, primero con disolución fisiológica durante 24 horas con dos cambios de esta disolución y a continuación se lavan con agua destilada de 10 a 14 horas.
2. Se ponen a secar; se coloca sobre el agar un papel de filtro.
3. Se colorea con la disolución de negro de amido y para eliminar el exceso de colorante se lava con disolución de ácido acético al 3%.

#### RESULTADOS Y DISCUSION

Prozona: fenómeno por el cual la muestra con PCR muy alta disuelve el precipitado, por lo que es necesario diluir uno en diez la muestra.

Según la tabla 1 con la técnica de Ouchterlony se obtuvieron 62 (el mayor número de positivos); con la del tubo capilar, 38 y con la del látex, 51.

En la tabla 2 se observa que de los 62 pacientes con proteína C reactiva positiva por la técnica de Ouchterlony, las otras técnicas detectaron parte de éstos, o sea, la del látex el 88% y la del tubo capilar el 61,3%.

Tabla 1.

	No. pacientes	Positivos	%
	320 ambulatorios	293	9,1
Ouchterlony	135 ingresados	33	24,4
Precipitado en tubo capilar	320 ambulatorios	16	5,0
	135 ingresados	22	16,3
Látex	320 ambulatorios	24	7,5
	135 ingresados	27	20,0

Tabla 2.

	Positivos Ouchterlony	Positivos	%
Precipitado en tubo capilar	62	38	61,3
Látex	62	51	82,2

Con la técnica de látex 9 presentaron fenómenos de prozona, por lo que fue necesario realizar la determinación de las 62 muestras dos veces: puras y diluidas una en diez.

Ambas tablas indican al final que la técnica propuesta, la de Ouchterlony fue la más sensible.

Según experiencia en el estudio realizado, la técnica Ouchterlony fue la más sencilla. Al estudiar los 62 pacientes positivos de PCR con la del tubo capilar, se requirió no menos de 8 horas; con la del látex, haciendo las determinaciones de cada muestra pura y diluida, se invirtió no menos de 4 horas. Con la técnica de Ouchterlony, en 2 horas se estudiaron los 62 pacientes con PCR positivo. En el caso de realizarse menos de 10 determinaciones, la técnica del látex es la más sencilla.

Comparación de costos, considerando un valor unitario.

Con el "set" de la técnica en tubo capilar (Difeo), se pueden efectuar de 150 a 200 determinaciones, este "set" contiene 6 *mi* de antisuero anti-proteína C reactiva, con los cuales, por la técnica de Ouchterlony se pueden hacer no menos de 2 000 determinaciones, o sea, es diez veces más económico.

Con un "set" de la técnica del látex, *Behrlinwerke* que contiene 10 *mi* de látex (el antisuero), se pueden hacer de 200 a 300 determinaciones. Si consideramos que estos milímetros de látex se corresponden con 10 *mi* de antisuero anti-proteína C reactiva, se pueden hacer más de 3 000 determinaciones, y es 10 veces más económica.

La proteína reactiva está presente en procesos inflamatorios agudos de destrucción hística, en diversas enfermedades<sup>1-5,10,11</sup> por lo que se puede considerar importante su determinación.

El método de inmunodifusión recomendado resulta práctico para la realización masiva, la evolución y pronóstico de pacientes con diversas enfermedades.

El método de doble inmunodifusión para determinar la proteína C reactiva no se utiliza en Cuba.

Los estudios realizados demuestran que la técnica propuesta es la más sensible, económica y sencilla.

La técnica de Ouchterlony propuesta por nosotros, está al alcance de cualquier laboratorio.

#### SUMMARY

Grueiro Azcano, E. et al. *Comparative study of three techniques to determine C reactive protein.*

It is stated that C reactive protein is a protein of the "acute phase" and that it is an abnormal protein which appears in the serum of patients with local or general inflammatory process. It is reported that C reactive protein is present in bacterial infections, acute articular rheumatism, myocardial infarction with necrosis and pulmonary embolism. The authors stated they have found this protein at a rate higher than 10% in more than 3 000 patients studied at the moment of their registration in the IOR. performing the study by the technique being exposed. Such technique is that of double immunodiffusion in agar, the Ouchterlony technique, which is not yet used in Cuba for the determination of C reactive protein. In this paper a comparative study of three techniques is showed: the precipitation technique in fluid médium with capillary tube, the látex agglutination technique, and the Ouchterlony technique proposed by us. A sample comprising 455 patients from the INOR was studied. Results are offered.

#### RÉSUMÉ

Grueiro Azcano, E. et al. *Etude comparative de trois techniques pour le dosage de la protéine C réactive.*

La protéine C réactive est une protéine de la "phase aiguë" et elle est une protéine anormale qui apparaît dans le sérum de malades qui présentent un processus inflammatoire local ou généralisé. La protéine C réactive est présente dans les infections bactériennes, le rhumatisme articulaire aigu, l'infarctus du myocarde avec nécrose et l'embolie pulmonaire. Les auteurs signalent qu'ils ont trouvé cette protéine avec une fréquence supérieure à 10% chez plus de 3 000 malades étudiés au moment de leur inscription à l'Institut d'Oncologie et de Radiobiologie, l'étude étant réalisée par la technique qu'ils exposent. La technique utilisée est celle de la double immunodiffusion en agar (Ouchterlony), qui n'est pas employée à Cuba pour le dosage de la protéine C réactive. Dans cette article on montre une étude comparative de trois techniques: la technique de précipitation en milieu liquide avec tube capillaire, la technique du látex et celle que les auteurs proposent. L'étude a porté sur un échantillon de 455 malades inscrits à l'Institut National d'Oncologie et de Radiobiologie; les résultats obtenus sont montrés.

#### BIBLIOGRAFIA

1. *Wuhrmann, F.; N. Marki: Disproteinemia y paraproteinemia. Ed. Científico Médico, Madrid. P. 232, 1966.*
2. *Clínicas Médicas de Norteamérica. Oligoelementos. Editorial Interamericana. Julio 1976.*
3. *Unanue, E.: Proteína C reactiva. Su determinación e importancia clínica. Rev Cub Lab Clin pp. 33-35, 1955.*

4. Prospecto de la casa comercial "Difco" C protein reagents. Difeo Laboratories. Detroit, Michigan, USA, Feb., 1975.
5. *Grueiro, E.:* Estudio de más de 3 000 pacientes del INOR en el momento de su inscripción de oligo y macroelementos, proteínas y enzimas presentado en la Sociedad de Oncología y Radiobiología. Set. 1981.
6. *Child, J. A. y otros:* Serum beta-2 macroglobulin and C reactive protein in the monitoring of lymphomas. *Cáncer* 45: (2), 1980.
7. *Ouchterlony, O.:* Antigen-antibody reaction in gels. *Acta Patol Microbiol Scand* 26: 507-515, 1949.
8. *Grabay, P.; P. Burtin:* Inmunoelectroforesis. Edición española Toray-Masson S.A., 1968.
9. Prospecto de la casa comercial Behring Instituí Látex CRP. Reagent for detection of C reactive protein (CRP). *Behringwerke A. G., W. Merburg.* Germany, Feb. 1979.
10. *Grueiro, E.:* Estudio comparativo de tres técnicas para determinar la proteína C reactiva. 6ta. Jornada Científica del Instituto "Carlos J. Finlay", 1981.
11. *Grueiro,* La proteína C reactiva. 7ma Jornada Científica del Instituto "Carlos J. Finlay", 1982.

Recibido: 12 de noviembre de 1984  
Aprobado: 8 de enero de 1985

Lic. *Emilio Grueiro Azcano*  
instituto Nacional de Oncología y Radiobiología  
Calle 29 y F  
Vedado, Ciudad de La Habana  
Cuba