

DETERMINACION DE FACTOR REUMATOIDE Y PROTEINA "C" REACTIVA EN INDIVIDUOS DE EDAD GERIATRICA Y EN EL ADULTO - JOVEN

*Iris S. de Leal **

*Alis A. de Valbuena ***

*Ernesto García **

Naida Pereira

*Amílcar Castellano ****

RESUMEN

En la presente investigación se hizo la determinación del Factor Reumatoide y la Proteína C Reactiva mediante la técnica de aglutinación indirecta con partículas de Latex en 400 muestras de suero de una población de personas en edad geriátrica (65 - 90 años) y adulto joven (20 - 40 años) de ambos sexos, con la finalidad de realizar un estudio comparativo entre ambos grupos etarios, tomando en cuenta la variable sexo, con respecto a la incidencia del Factor Reumatoide y la proteína C Reactiva. Resultaron positivos para el Factor Reumatoide 36 muestras (20 sexo masculino y 16 sexo femenino) correspondiente a la población geriátrica, lo cual representa un 18% de positividad, mientras

* Profesores de la Cátedra de Inmunología. Escuela de Bioanálisis
Facultad de Medicina. Universidad de Zulia.

** Profesora de la Cátedra de Microbiología. Escuela de Medicina
Facultad de Medicina. Universidad del Zulia.

*** Profesor de la Universidad del Zulia.

que en la población joven - adulto la positividad fue nula. Con respecto a la Proteína C Reactiva, los resultados obtenidos en la población geriátrica fueron 48 positivos (24 para el sexo masculino y 24 para el sexo femenino) lo cual representa un 24% de positividad. En los jóvenes adultos la positividad fue de 34 muestras (20 para el sexo masculino y 14 para el sexo femenino), lo cual representa el 17% de positividad.

Estos hallazgos nos permiten suponer que la edad es una variable importante en la aparición del Factor Reumatoide, no siendo así para la Proteína C Reactiva; no obstante en ambos (Factor Reumatoide y Proteína C Reactiva) el sexo no parece ser una variable influyente en su aparición.

PALABRAS CLAVES:

Factor Reumatoide, Proteína C Reactiva, Aglutinación indirecta.

ABSTRACT

In the present research the measurement of Rheumatoid Factor and C Reactive Protein was done employing the Indirect Agglutination Technique with Latex particles; in 400 serum samples from a population whose ages ranged in two groups; one group with geriatric age (65 - 90 years old) the another one of young adults (20 - 40 years old) of both sex; the goal was to study comparatively both groups of ages, assuming the fact of sex variable refered to the incidence of Rheumatoid Factor and C Reactive Protein. Thirty six samples were positive for rheumatoid Factor (20 male and 16 female samples), grouped in the geriatric ages, this represents 18% of positiviness was nule. Referring to C Reactive Protein, the results obtained in the Geriatric population were positive for 48 samples (24 male and 24 females serum samples) this yields 48% positiviness. In young adults positiviness was found in 34 samples (20 male and 14 female samples), chich refers a 17% of positiviness.

These findings permitted us to suppose that there is an important variable in the presence of Rheumatoid Factor but nothing like it is

found for C Reactive Protein, the sex variable does not influences their presences.

KEY WORDS:

Reumatoid Factor, C Reactive Protein, Indirect Aglutination.

INTRODUCCION

La edad parece ser un factor importante en la regulación de la respuesta inmune en el hombre. Así los estudios realizados en individuos de edad avanzada (4) han mostrado alteraciones tanto en la respuesta celular como en la respuesta humoral no sólo contra antígenos extraños, sino también una respuesta aumentada contra antígenos autólogos. Estos hechos podrían explicar tal vez el aumento de la susceptibilidad en este grupo etario para padecer de procesos infecciosos y neoplásicos (5).

La primera indicación de que la respuesta inmunológica humoral se altera por el envejecimiento surgió de la investigación de los anticuerpos naturales en los sueros de individuos de diferentes edades. Se encontró que las concentraciones de isoaglutininas y de anticuerpos a los eritrocitos de carnero y a la flagelina de Salmonellas eran menores en los ancianos que en los individuos jóvenes (4). En contraste con esa declinación de los anticuerpos naturales con la vejez, existe un aumento de autoanticuerpos en la edad geriátrica, encontrándose autoanticuerpos para ácidos nucleicos, músculo liso, mitocondrias, linfocitos, células parietales gástricas, inmunoglobulinas (factor reumatoideo) y tiroglobulinas.

La aparición de estos autoanticuerpos es la consecuencia de los cambios del sistema linfoide debido a alteraciones policlonales de los Linfocitos B, ya que se ha demostrado que existen más linfocitos productores de autoanticuerpos en las personas ancianas que los testigos jóvenes (10).

El Factor Reumatoide uno de estos autoanticuerpos es una inmunoglobulina del tipo IgM que tiene la propiedad de reaccionar con la IgG humana o de otras especies animales (conejo, carnero, etc).

En 1940 se describió este factor en el suero humano, el cual es capaz de aglutinar los eritrocitos de carnero recubiertos de anticuerpos anti-eritrocitos de carnero preparados en conejo.

El Factor Reumatoide puede encontrarse no sólo en la fracción IgM de las inmunoglobulinas, sino también en cualquiera de las otras clases de inmunoglobulinas tales como la IgG y la IgA, sin embargo, rutinariamente sólo se determina el Factor Reumatoide de la clase IgM debido a la mayor eficacia de la molécula pentavalente de este tipo de inmunoglobulina (3).

En el laboratorio se dispone de varias pruebas para determinar el Factor Reumatoide. La primera empleada y que en la actualidad no se utiliza fue la reacción de aglutinación con *Streptococo*; surgieron luego las pruebas de hemaglutinación con glóbulos rojos de carnero y la de aglutinación con partículas de Latex. La prueba de aglutinación con partículas de Latex es el método más comunmente empleado, donde la inmunoglobulina IgG es absorbida a partículas de Latex. La prueba de hemaglutinación o de Rose Waaler utiliza eritrocitos de carnero sensibilizados con IgG, es más específica pero menos empleada. Ambas pruebas pueden realizarse semicuantitativamente (11).

El Factor Reumatoide se ha reportado en el 70% de los pacientes con Artritis Reumatoide y el 9% de otros pacientes no Reumatoide tales como la Poliartritis Crónica y el Lupus eritematoso. Ha sido reportado también en pacientes con hiperganmaglobulinemia asociadas a hepatopatías, sarcoidosis, sífilis y tuberculosis. Se ha observado aparición del Factor Reumatoide después de vacunación en reclutas y en un 4% de individuos sanos (5). La capacidad para producir Factor Reumatoide parece ser así una propiedad normal del Sistema Inmune, ya que puede ser medido tanto en enfermos como en poblaciones normales, lo cual representa presumiblemente una respuesta a la estimulación antigénica sostenida como sucede especialmente en algunas infecciones crónicas (4).

A pesar que la determinación del Factor Reumatoide se ha utilizado como soporte para el diagnóstico de Artritis Reumatoide, sin embargo

un gran número de los individuos con actividad antiglobulínica sérica del tipo Factor Reumatoide, no padecen Artritis Reumatoide, no obstante la seropositividad especialmente a títulos elevados ($> 1/80$) es lo que se observa en pacientes reumatoideos. La investigación del Factor Reumatoide en individuos de edad avanzada ha demostrado que aproximadamente $1/3$ de estos individuos lo presentan, algunos de estos ancianos tienen también autoanticuerpos contra una subpoblación de Linfocitos T. (5).

En condiciones experimentales el Factor Reumatoide humano puede desempeñar un papel en la neutralización de virus acoplado con anticuerpos, tal vez ayudando al complemento a cubrir el virión y existen también pruebas de que el Factor Reumatoideo puede competir con el complemento en los puntos de unión de la molécula de IgG (4). En los pacientes con Artritis Reumatoide la combinación del Factor Reumatoide con la IgG forma complejos inmunitarios, los cuales parecen participar en la patología de esta enfermedad como son la sinovitis y la vasculitis a través de la activación de la cascada del complemento y de la atracción de polimorfo nucleares a los sitios donde son depositados los complejos.

Aunque no está claro, el Factor Reumatoide parece contribuir también en los mecanismos de defensa contra la infección y/o a su regulación (11).

Otras proteínas diferentes al Factor Reumatoide pueden estar integradas en la respuesta inflamatoria e inmunológica, una de ellas es la Proteína "C" Reactiva, la cual aún cuando no es un autoanticuerpo aparece en caso de procesos inflamatorios como es la Artritis Reumatoide y también en procesos no inflamatorios como en casos de infecciones y necrosis de tejidos (2).

La Proteína "C" Reactiva fue descrita por primera vez en el año de 1930 por Tillet y Francis en pacientes con neumonía neumocócica en fase aguda, al demostrar que la Proteína "C" Reactiva formaba un precipitado con el polisacárido "C" del Neumococo, por lo que se consideró como un anticuerpo contra ese polisacárido (12).

La Proteína "C" Reactiva es una mezcla de diferentes proteínas, todas asociadas con los lípidos del suero, tiene las propiedades siguientes: es termolabil destruyéndose a 70°C por 30 minutos, no atraviesa la barrera placentaria, precipita con soluciones de sodio o de amoníaco y en la electroforesis migra con la fracción de inmunoglobulina (6). Su peso molecular es de 110- 140 Daltons, aunque se ha demostrado que la Proteína "C" Reactiva tiene seis unidades idénticas con su peso molecular de 21.000 Daltons.

McCarthy y Anderson determinaron la Proteína "C" Reactiva en 1950 siguiendo el método de precipitación capilar (1), más tarde Singer y Cols., en 1957, introdujeron la prueba de aglutinación con partículas de Látex (9). La Proteína "C" Reactiva no es demostrable en sueros normales al usar estas técnicas de precipitación (13) y de aglutinación con partículas de Látex (7, 9). pero utilizando métodos más sensibles tales como electroinmunodifusión, inmunodifusión radial, el radio inmunoensayo y métodos turbidimétricos, es posible demostrarse en individuos sanos a concentraciones entre 1-6 μ gr/ml de suero.

La Proteína "C" Reactiva puede determinarse en el suero cualitativa y semicuantitativamente por la técnica de precipitación en tubos capilares y la de aglutinación con partículas de Látex sensibilizados con Anti-Proteína "C" Reactiva (2). Su presencia por estos métodos se considera como índice de anormalidad, indicando un proceso infeccioso agudo o un proceso inflamatorio o degenerativo como Artritis Reumatoide, Infarto del Miocardio y enfermedades malignas (8, 13).

Dado que el Factor Reumatoide ha sido demostrado en individuos normales, especialmente en edad avanzada y a que la Proteína "C" Reactiva es un constituyente normal del suero en concentraciones no demostrables por métodos de aglutinación con partículas de Látex, se decidió realizar el siguiente trabajo en dos grupos de población (jóvenes y ancianos), investigando en los mismo el Factor Reumatoide y la Proteína "C" Reactiva, cualitativa y semicuantitativamente con la finalidad de determinar su presencia, teniendo en cuenta las variables edad y sexo, a fin de comparar si los resultados obtenidos guardan o no relación con dichas variables.

MATERIALES Y METODOS

Se procesaron 400 muestras de sueros tomadas selectivamente de pacientes sanos (sin antecedentes de procesos infecciosos o inflamatorios recientes o no); de las cuales 200 provenían de personas en edad geriátrica (65-90 años) y 200 de adulto joven (20-40 años) de ambos sexos.

Estas muestras se obtuvieron de los pacientes que asistían a las consultas externas del Hospital Central y Universitario de Maracaibo.

A las 400 muestras de suero se les practicaron las determinaciones de Factor Reumatoide y Proteína "C" Reactiva.

Para la determinación del Factor Reumatoide se empleó la técnica de aglutinación con partículas de Látex, utilizando equipos comerciales (Cooper-Biomedical).

Se realizó una prueba cualitativa con el suero diluído 1/20 y los respectivos controles (positivo negativo y positivo de bajo nivel). Se consideró positividad en la prueba al observar una aglutinación evidente de las partículas de Látex en un tiempo entre dos y cinco minutos.

Las muestras que resultaron positivas fueron cuantificadas, empleando diluciones de suero preparadas al doble desde 1/20 hasta 1/5120; a cada dilución se le realizó una determinación cualitativa, tomando como título del Factor Reumatoide la mayor dilución donde se obtuvo un resultado positivo (aglutinación visible).

Para la determinación de la Proteína "C" Reactiva se empleó la técnica de aglutinación con partículas de Látex (Laboratorio Ortho).

Se realizó una prueba cualitativa con el suero diluído 1/40 y los respectivos controles (positivos y negativos). Se consideró positividad en la prueba al observar una aglutinación evidente de las partículas de Látex en un tiempo no mayor de dos minutos.

Las muestras que resultaron positivas fueron cuantificadas, empleando diluciones de suero preparadas al doble desde 1/80 hasta 1/2560, a cada dilución se le realizó una determinación cualitativa tomando como título de Proteína C Reactiva la mayor dilución donde se obtuvo un resultado positivo. (Aglutinación visible).

Este método permite reportar concentraciones aproximadas de Proteína C Reactiva en suero al multiplicar la mayor dilución que mostró aglutinación por la sensibilidad del equipo determinada (μ grs/ml). La menor concentración detectada por este método es de 6 μ grs/ml.

RESULTADOS

En el Cuadro No. 1 se observa que los resultados de Proteína C Reactiva en adulto joven supera en un 5% de positividad a los de edad geriátrica.

En el Cuadro No. 2 se muestra la positividad de Proteína C Reactiva según el sexo en los dos grupos etarios estudiados. En el adulto joven el sexo masculino supera en un 6% de positividad al femenino y en los geriátricos en ambos sexos se obtuvo la misma positividad (24%).

En el Cuadro No. 3 se observa que en los resultados del Factor Reumatoideo por grupo etario la positividad fue nula para los adultos jóvenes y en los geriátricos fue de un 18%.

En el Cuadro No. 4 se muestran los resultados del Factor Reumatoide según el sexo en geriátricos, obteniéndose que el sexo masculino supera en un 4% de positividad al femenino.

En el cuadro No. 5 se muestran los títulos del Factor Reumatoide en geriátricos, encontrándose que la mayor frecuencia de los títulos fue de 1/20 en 21 muestras de las 36 positivas, 10 para 1/40 y 5 para 1/80.

En el Cuadro No. 6 aparecen los resultados de los títulos del Factor Reumatoide en relación con la Proteína "C" Reactiva obtenidos en el grupo geriátrico. Se observa que la Proteína "C" Reactiva fue positiva

en 16 de los 36 casos con Factor Reumatoide presentes, en 15 casos los título del Factor Reumatoide fueron de 1/20 y 1/40 y en un sólo caso el título fue de 1/80.

CUADRO No. 1

Distribución Conjunta de Resultados de la Proteína "C" Reactiva por Grupo Etario, Maracaibo 1987

P C R	GRUPO			
	ADULTO-JOVEN (1)		GERIATRICO (2)	
	No.	% *	No.	% *
POSITIVA	34	17	24	12
NEGATIVA	166	83	176	88
TOTAL	200	100	200	100

* Porcentajes Calculados Respecto del Total en cada Grupo (n = 200).

F. de I. (1) Hospital Central y (2) Hospital Universitario de Maracaibo.

CUADRO No. 2

Distribución Conjunta de los Resultados de Proteína "C" Reactiva Según Sexo, por Grupo Etario, Maracaibo 1987

P C R	ADULTO-JOVEN (1)		GERIATRICO (2)	
	MASC.	FEM.	MASC.	FEM.
	%	%	%	%
POSITIVA	20	14	24	24
NEGATIVA	80	86	76	76
TOTAL	100	100	100	100

F. de I. (1) Hospital Central y (2) Hospital Universitario de Maracaibo

CUADRO No. 3

**Distribución Conjunta de Resultados del Factor Reumatoideo
por Grupo Etario. Maracaibo 1987.**

RESULTADOS	GRUPO			
	ADULTO-JOVEN (1)		GERIATRICO (2)	
	No.	%*	No.	%*
POSITIVO	0	0	36	18
NEGATIVO	200	100	164	82
TOTAL	200	100	200	100

* Porcentajes Calculados Respecto del Total en cada Grupo (n = 200).

F. de I. (1) Hospital Central y (2) Hospital Universitario de Maracaibo.

CUADRO No. 4

**Distribución Conjunta de los Resultados del Factor Reumatoideo
Según Sexo en Geriátricos. Maracaibo 1987**

RESULTADOS	MASCULINO	FEMENINO
	%	%
POSITIVO	20	16
NEGATIVO	80	84
TOTAL	100	100

F. de I. Hospital Universitario de Maracaibo

CUADRO No. 5

**Títulos del Factor Reumatoideo en Grupos Geriátricos
Maracaibo 1987**

EDAD	TÍTULOS				TOTAL
	1/20	1/40	1/80	1/160	
65 - 75	13	5	1	0	19
76 - 85	8	5	4	0	17
TOTAL	21	10	5	0	36

F. de I. Hospital Central de Maracaibo

CUADRO No. 6

**Distribución Conjunta de los Títulos del Factor Reumatoideo
en Relación con la Positividad de Proteína "C" Reactiva
en Grupo Geriátrico**

P C R	TÍTULOS DE FACTOR REUMATOIDEO				TOTAL
	1/20	1/40	1/80	1/160	
POSITIVO	11	4	1	0	16
NEGATIVO	10	6	4	0	20
TOTAL	21	10	5	0	36

F. de I. Hospital Central y Hospital Universitario de Maracaibo.

DISCUSION

Durante las últimas décadas se han ampliado considerablemente los conocimientos sobre los procesos inmunitarios y la influencia que la edad ejerce sobre los mismos.

El efecto del envejecimiento sobre la respuesta inmunitaria es variable pero generalmente la mayoría de los individuos muestran una deficiencia en la respuesta inmunitaria con disminución en la producción de anticuerpos naturales y estimulados y una producción aumentada de autoanticuerpos. Esta paradoja en relación con la regulación anormal de la producción de anticuerpos en el anciano (disminución de la producción de anticuerpos contra antígenos extraños y aumento de autoanticuerpos) pudiera ser la consecuencia de una función aberrante de las células inmunoreguladoras (células T) y de las células B productoras de anticuerpos.

Dentro de los autoanticuerpos, el Factor Reumatoide ha sido estudiado en relación con la vejez, encontrándose que está presente en un 20% de estos individuos en comparación con el 1% al 4% de la población general (4). Hallazgos similares a éstos encontramos en el presente trabajo, donde el Factor Reumatoide fue demostrado en el grupo de edad geriátrica en un 18% de los casos estudiados en contraste con la ausencia de este Factor en el grupo de los adultos jóvenes.

No se encontraron variaciones importantes en la positividad del Factor Reumatoide en cuanto al sexo.

Al estudiar separadamente la población geriátrica en dos grupos de edades 65-75 años y 76-85 años, no hubo diferencia en el porcentaje de positividad del Factor Reumatoide sin embargo, al comparar los títulos del Factor Reumatoide en relación con estas edades, se encontró una diferencia importante ya de que de los 5 casos con Factor Reumatoide a título de 1/80, 4 de ellos fueron del grupo de 76-85 años. La interpretación de estos resultados corrobora aún más el hecho de que a mayor edad la capacidad inmunitaria para la producción de autoanticuerpos es también de mayor cuantía.

En cuanto a la positividad del Factor Reumatoide a títulos entre 1/20 y 1/80 pudiera corresponder simplemente a los defectos de inmunoregulación que ocurren durante la senectud o tal vez a otros procesos que pudieran causar la producción de Factor Reumatoide a títulos menores de 1/80 tales como son tuberculosis, lepra, hepatitis crónica, etc., afecciones que pueden acompañarse también de la presencia de una Proteína "C" Reactiva positiva.

La Proteína "C" Reactiva como prueba de ayuda en el diagnóstico clínico ha sido empleada desde hace mucho tiempo. Hasta hace poco los métodos utilizados para su determinación eran cualitativos limitando así su uso, tales métodos reportan la Proteína "C" Reactiva como ausente o presente y al emplear estos semicuantitativamente pueden reportarse desde + a ++++ cruces (Método de precipitación en tubo capilar) o en títulos que oscilan desde 1/40 hasta la mayor dilución que presente aglutinación (Método de aglutinación con partículas de Látex). La utilización de estas pruebas llevó al concepto de que la Proteína "C" Reactiva normalmente no estaba presente en el suero de individuos sanos y que su mera presencia tenía significado patológico. Sin embargo, se ha demostrado en los últimos años que la proteína "C" Reactiva puede ser detectada en el suero de individuos normales al emplear métodos más sensibles (3). Estos métodos no son muy utilizados por su costo elevado y por la necesidad de equipos especializados. Es por ello que las pruebas semicuantitativas de precipitación y aglutinación siguen siendo las empleadas de manera rutinaria en los laboratorios de diagnósticos clínico.

La investigación de Proteína "C" Reactiva en dos grupos etarios (adulto joven y edad geriátrica), nos permitió encontrar en el presente trabajo que esta Proteína fue detectada en el 17% de adultos jóvenes y en el 12% del grupo geriátrico. Tales hallazgos no eran los esperados y llamaron la atención ya que para el momento de la toma de la muestra no existía ninguna patología aparente en estos individuos. La presencia de esta Proteína pudiera considerarse como el resultado de procesos inflamatorios triviales que pueden sucederse día a día pero que no tienen gran significado clínico. Estas inferencias se deducen debido a que la mayor concentración de Proteína "C" Reactiva encontrada de ambos

grupos etarios fue de 48 μ grs/ml de suero, valor que corresponde a la dilución de 1/320. Tales concentraciones de proteína pueden considerarse como insignificantes en relación con las grandes elevaciones de la misma que ocurren en procesos inflamatorios o infecciosos donde en un tiempo de 16 a 24 horas la Proteína "C" Reactiva alcanza valores de más de 1.000 veces su concentración inicial (3) para alcanzar su valor normal con la resolución del proceso.

La producción de Proteína "C" Reactiva no parece guardar relación con el sexo, ya que en los grupos etarios estudiados sólo se encontró una diferencia de un 6% más de positividad en el sexo masculino con respecto al sexo femenino.

Con la finalidad de poder esclarecer en los pacientes geriátricos si la Proteína "C" Reactiva guardaba relación con algún proceso inflamatorio o infeccioso no encontrado al momento de la toma de la muestra y que fuera capaz de influir en la positividad del Factor Reumatoide, se estudiaron conjuntamente los títulos de Factor Reumatoide en relación con los resultados de Proteína "C" Reactiva. Se encontró que 16 de los 36 casos con Factor Reumatoide positivo tenían también la Proteína "C" Reactiva positiva y que el mayor número de positividad estaba en las diluciones 1/20 y 1/40 (15/16 casos). Estos resultados de Factor REumatoide positivo y Proteína "C" Reactiva positiva pudieran considerarse que guardan relación con algún proceso infeccioso, inflamatorio o degenerativo que en estos 16 casos debieran ser investigados. De acuerdo a estos últimos hallazgos consideramos que la presencia de Factor Reumatoide en un anciano no debe ser tomado en el 100% de los casos como autoanticuerpo desarrollado a consecuencia de su senectud.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ANDERSON, H. and McCARTY M.: Determination of C Reactive Protein in the blood as a measure of the detivite of the disease process in acute rheumatic fever. *Am. J. Med.* 8: 445, 1950.
2. BRACHO, D. Manual de Immunodiagnóstico, Fundamentos y aplicaciones. EDILUZ. 1ra. Edición. 109. 1987
3. EOTSCHLIEH, Z. and EDELMAN, E.: C-Reactive Protein: a molecule Composed of sub units. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 54: 558, 1965.
4. HOLBOROW, E. J. Factores Reumatoides y Anticuerpos Antinucleares. Tratado de Reumatología. Salvat Editores. 162. 1983.
5. PORTER, David D. *Advances In Immunology.* 29: 287. 1980
6. SCHULTZE, H.; SCHWICK, E.; SOMNET, J.; HEREMANS, J. And MI-CHAAUX, J. *Klin Wschr* 38: 62, 1960.
7. SHETLAR, M.; BOLLOCK, J.; SHETLAR, C. and PAYNE, R.: Comparison of suero C Reactive Protein Glucoprotein and Seromuroid in Cancer, Arthritis, Tuberculosis and Pregnancy. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 88: 107. 1955.
8. SINGER, J.; PLOTZ, C. and EOLDIN, M.: PADER, E. and ELSTERS: The Latex-Fixation Test. III. Aglutination test for C Reactive Protein and comparison with the capillary precipiten method. *Am. I. Clin. Patnol.* 28: 611, 1957.
9. SPRUNT, D. and HALE, W.: *Proceedings of the American Association for Cancer Research.* 2: 15, 1955
10. STITES, D.; FUNDERBERG, H.; STOB, Y.; WELLS, V.: *Inmunología Básica y Clínica.* 7ma. Edición. Editorial El Manual Moderno. 316. 1986.
11. TODD SANFORD. *Diagnóstico Clínico para el Laboratorio* 6ta. Edición. Salvat Editores: 1484, 1978
12. YOCUN, S.; DOERNER, A.: A Clinical Evolution of the Proteina C Reactive Proteins Test. *Arch. Inter. Med.* 99: 74. 1957
13. ZIMMERMAN, K. and ZACH, J.: *Klin Wsch.* 38: 1193. 1960