	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO (SEROLOGIA)	1 DE 4
	PROCEDIMIENTO: DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI TREPONEMA PALLIDUM RPR	CODIGO

1. GENERALIDADES

El treponema pallidum es el agente causador de la sífilis, la misma que se caracteriza por ser una enfermedad infecciosa crónica.

La sífilis es una enfermedad venérea que invade las mucosas intactas o la piel en áreas de abrasiones. El contacto sexual es la forma más común de transmisión.

La detección y tratamiento de la enfermedad en sus estadios tempranos es fundamental a fin de evitar complicaciones graves como sífilis cardiovascular, neurosífilis y sífilis congénita.

El diagnóstico de esta enfermedad sufre la carencia de un método para cultivar el microorganismo en medios de laboratorio y la dificultad para detectarlos en estadios de la enfermedad en los que no se observan lesiones epidérmicas.

Sin embargo, desde el comienzo de la infección aparecen en el suero del individuo infectado ciertas sustancias denominadas reagentes, que reaccionan con antígenos de cardiolipina, lecitina y colesterol. Estas reagentes junto a los signos clínicos son por lo tanto los procedimientos más rápidos y útiles disponibles para diagnóstico de sífilis.

El RPR (Reagina Rápida en plasma) es una prueba serológica para sífilis que utiliza antígenos no treponémicos, los cuales son lípidos extraídos de tejido normal de mamíferos que reaccionan con la reagina sífilica que es una mezcla de anticuerpos IgM e IgA dirigidos contra algunos antígenos ampliamente distribuidos en los tejidos normales.

2. MUESTRA

Suero (no contaminado ni lipémico).

3. MÉTODO

Floculación.

4. FUNDAMENTO

Detección de reagina mediante una reacción de floculación macroscópica entre esta y antígenos no treponémicos. (cardiolipina).


	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO (SEROLOGIA)	2 DE 4
	PROCEDIMIENTO: DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI TREPONEMA PALLIDUN RPR	CODIGO

Tabla Nº 1: Detección de Anticuerpos Anti Treponema Pallidun RPR

EQUIPO	MATERIAL	REACTIVOS
Cronometro Rotador circula a 100 + ó -2rpm	Gotero para antígeno Agitadores o espátulas Tarjetas de diagnostico Aguja calibrada Tubos de hemólisis Micropipeta graduable de 10 a 100 ul Puntillas ó tips Cubetas para desecho de materiales	Antígeno. Control positivo Control negativo Lavandina

Fuente: Elaborado por Laboratorio Clínico, "Detección de Anticuerpos Anti Treponema Pallidun RPR", SSU, 2010.

5. PROCEDIMIENTO

- a) Llevar los reactivos y muestra a temperatura ambiente.
- b) Dispensar una gota de muestra empleando un gotero nuevo o una micropipeta de 50 ul colocando la muestra en el centro de los círculos de la tarjeta de diagnóstico. La pipeta debe ser colocada en posición vertical.
- c) Utilizando una espátula, distribuir la muestra por todo el área el círculo.
- d) Asegurarse de que la suspensión de antígeno sea homogénea agitando suavemente el frasco de plástico con dispensador (mas aguja) que contiene el antígeno. Situar la botella en posición vertical, dispensar varias gotas en la tapa del frasco dispensador para asegurarse de que la aguja no esté tapada, dejar caer por gravedad una sola gota en el mismo círculo de prueba.
- e) Colocar la tarjeta inmediatamente sobre un rotador automático y girar durante 8 minutos a 100 más o menos 2 rpm.


6. LECTURA E INTERPRETACIÓN

- Las tarjetas de diagnostico deben ser leídas inmediatamente finalizada su rotación.
- Se debe rotar suavemente con las manos 4 o 5 veces para lograr una buena diferenciación.
- Observar la presencia de flóculos tanto de los controles como de los sueros a probar.
- La presencia de flóculos indica un resultado reactivo que debe ser cuantificado realizando diluciones del suero con solución fisiológica.
- La ausencia de flóculos indica que el resultado es no reactivo.

7. CONTROL DE CALIDAD

Los controles positivos y negativos deben ser utilizados en cada corrida y comparados con las muestras desconocidas para poder distinguir la formación de flóculos.

Una vez por mes se debe probar sueros positivos y negativos conocidos con diferentes títulos que hayan sido procesados en el laboratorio para verificar la reproducibilidad de resultados.

	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO (SEROLOGIA)	3 DE 4
	PROCEDIMIENTO: DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI TREPONEMA PALLIDUM RPR	CODIGO

8. PRUEBA CUANTITATIVA

- a) Realizar diluciones $\frac{1}{2}$ del suero con resultado reactivo en la prueba cualitativa, empleando solución fisiológica.
- b) Proceder en la misma forma que en la prueba cualitativa dispensando una gota de cada dilución en un círculo diferente de la tarjeta de diagnóstico dispersándola con ayuda de una espátula y continuar con los pasos 2 a 4.

9. LECTURA E INTERPRETACIÓN

Determinar la dilución mayor que presente floculación el reporte final deberá incluir la dilución final en la que la muestra presenta floculación.

10. CONTROL DE CALIDAD

La posibilidad de obtener falsos positivos o falsos negativos deberá evitarse tomando en cuenta los siguientes aspectos:

Falsos negativos:


- Rotador: tiempo y velocidad.
- Exceso de suero.
- Cantidad de antígeno insuficiente o excesivo.
- Suero o antígenos no atemperados.
- Reactivos vencidos.
- Exceso de agitación
- Antígeno poco sensible.
- Error en la lectura en reactivos débiles.

Falsos positivos:

- Suero seco antes de agregar el antígeno.
- Tiempo mayor en la rotación (mas de 8 minutos).
- Rotación bajo cubierta seca o sin cubierta.
- Temperatura de los reactivos excesivamente alta.
- Error en la lectura.
- Antígeno viejo.

Antígeno:

- Siempre debe realizarse el control de lotes nuevos de reactivos con sueros control de reactividad conocida.
- Debe ser conservado a una temperatura entre 2 y 8 grados centígrados, no se debe congelar.

	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO (SEROLOGIA)	4 DE 4
	PROCEDIMIENTO: DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI TREPONEMA PALLIDUM RPR	CODIGO

- La suspensión de antígeno debe protegerse de la luz solar y temperatura sobre 29 grados centígrados.
- Tarjetas de diagnóstico.
- No tocar con los dedos el área dentro los círculos para no engrasar.
- Cada círculo debe usarse solo una vez.
- La tarjeta debe descartarse después de usada igual que las que se observen sucias o arrugadas.

Frasco plástico para dispensar el antígeno:

- Debe usarse con la suspensión de antígeno que trae el estuche comercial.
- Debe descartarse cuando se termina el antígeno.
- Una vez que el antígeno se deposite en el frasco, este debe ser etiquetado adecuadamente con número de lote, fecha de apertura, fecha de vencimiento y forma de mantenimiento, no debe utilizarse antígenos pasados.

Aguja para repartir el antígeno:

- Debe ser una aguja calibrada y limpia.

Rotador:

- Determinar velocidad de 100 rpm. Si la velocidad está por debajo de 95 rpm o sobre 110 rpm la reacción tiende a disminuir de intensidad de suero no diluido.

LIMITACIONES DE LA TÉCNICA DE RPR

- El diagnóstico de sífilis no debe hacerse basado únicamente en el resultado reactivo de la prueba RPR sin el apoyo de la evidencia clínica.
- No debe usarse la prueba RPR en tarjeta para analizar líquido cefalorraquídeo.
- No debe analizarse por la prueba RPR muestras de plasma por la interferencia que puede producir los anticoagulantes.
- No debe procesarse muestras contaminadas ni quillosas.