	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO (SEROLOGIA)	1 DE 2
	PROCEDIMIENTO: HEMAGLUTINACION INDIRECTA PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS CONTRA TRYPANOSOMA CRUZI	CODIGO

1. GENERALIDADES

Los anticuerpos específicos contra trypanosoma cruzi, presumiblemente presentes en el suero en estudio, aglutinan al antígeno fijando sobre la superficie de los glóbulos rojos estabilizados, los cuales sedimentan formando un manto en el fondo del pocillo de la microplaca.

2. MUESTRA

Emplear suero fresco y límpido, los sueros pueden ser conservados entre 2 y 8 grados centígrados hasta 48 horas, o congelados a -20 grados centígrados para un almacenamiento prolongado.

3. MÉTODO

Hemaglutinación indirecta.

4. FUNDAMENTOS

Consiste en una suspensión estabilizada de hematíes de carnero sensibilizados con antígeno de tripanosoma cruzi, los cuales se aglutinan en presencia de diluciones de suero humanos de animales que contengan anticuerpos específicos.


Tabla Nº 1: Hemaglutinación Indirecta para la Detección de Anticuerpos Contra Tripanosoma Cruzi

EQUIPO	MATERIAL	REACTIVOS
Cronómetro.	Tubos de hemólisis. Micropipetas de 25 ul. Pipeta multicanal. Policubetas. Puntas y gradilla. Recipientes para sumergir. Recipientes para sumergir.	Antígeno. Diluyente de la muestra. Solución proteica. Hematíes no sensibilizados. Control positivo. Control negativo Control negativo.

Fuente: Elaborado por Laboratorio Clínico, "Hemaglutinación Indirecta para la Detección de Anticuerpos Contra Tripanosoma Cruzi", SSU, 2010.

5. PROCEDIMIENTO

- Preparar el diluyente de muestra (0.5 ml de solución por cada 10 ml de diluyente de muestra).
- Depositar 25 ul de esta dilución desde el posillo 1 hasta los pocillos con la dilución que desee investigar.
- Transferir 25 ul de la muestra, control positivo, control negativo al primer pocillo.
- Homogeneizar y transferir 25 ul desde el primer pocillo hasta el pocillo con la dilución que se desee investigar, despreciando los últimos 25 ul.

	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO (SEROLOGIA)	2 DE 2
	PROCEDIMIENTO: HEMAGLUTINACION INDIRECTA PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS CONTRA TRYPANOSOMA CRUZI	CODIGO

- Depositar 25 ul de hematíes no sensibilizados en los pocillos 1 y 2 (dilución $\frac{1}{2}$ y $\frac{1}{4}$) solamente del suero. No colocar en las diluciones de los controles positivos y negativos.
- Depositar 25 ul de antígeno en los restantes pocillos.
- Agitar la policubeta golpeando con los dedos sobre sus paredes laterales, durante no menos de 30 segundos.
- Dejar la policubeta en reposo durante mínimo de dos horas y leer.

6. LECTURA E INTERPRETACIÓN

Reacción Positiva: formación de un manto en el fondo del pocillo por aglutinación del antígeno, que debe ocupar más del 50 % del mismo.

Reacción Negativa: formación de un botón nítido o botón con centro de luz, de bordes regulares, por sedimentación del antígeno.

7. LIMITACIONES DEL MÉTODO

La serología sólo constituye un dato auxiliar para el diagnóstico, la hemaglutinación indirecta, como cualquier otra técnica serológica, no puede ser concebida como un método de diagnóstico definitivo.