




GUIA DE INMUNOLOGIA

VERSION 2.0

San Juan de Pasto
2014

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	2

GUIA DE INMUNOLOGIA

PASTO SALUD E. S. E.

Elaborado por:

JORGE ENRIQUE RESTREPO SOLARTE
ANGELA PAOLA MEDINA OBANDO
 Bacteriólogos

San Juan de Pasto

2014



	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	3

TABLA DE CONTENIDO

RESOLUCION 499 DEL 26 DE NOVIEMBRE DE 2014.....	4
CONTROL DE CAMBIOS.....	9
INTRODUCCION.....	10
1. GENERALIDADES	11
1.1. OBJETIVO.....	11
1.2. ALCANCE	11
1.3. RESPONSABILIDAD.....	11
1.4. PERIODICIDAD PARA LA REVISIÓN.....	11
2. DIAGNOSTICO SEROLÓGICO DE LA SIFILIS.....	12
2.1. PRUEBAS SEROLÓGICAS NO TREPONÉMICAS	14
2.2. PRUEBAS SEROLÓGICAS TREPONÉMICAS	15
3. PRUEBAS SEROLOGICAS PARA DETERMINACION DE GONADOTROPINA CORIONICA HUMANA (HCG).....	20
4. PRUEBAS SEROLOGICAS PARA LA DETERMINACION DE LA PROTEINA C REACTIVA (PCR).....	22
5. PRUEBAS SEROLOGICAS PARA LA DETERMINACION DE FACTOR REUMATOIDEO (RA – TEST).....	24
6. PRUEBA SEROLOGICA PARA LA DETERMINACION DE ANTIESTREPTOLISINA (ASTOS).....	26
7. BRUCELOSIS	28
8. HEPATITIS B.....	32
9. DETERMINE HIV.....	35
10. PRUEBA TREPONEMICA SYPHILIS TP. DETERMINE (PRUEBA RAPIDA).....	38
BIBLIOGRAFIA	

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	4



RESOLUCIONES			
VERSION	PROCESO / PROCEDIMIENTO	CODIGO	NUM
2.0	GESTION JURIDICA	GJ	062
GERENCIA			

RESOLUCIÓN No. 499
(26 de noviembre de 2014)

"Por medio de la cual se adoptan unos procedimientos y protocolos de aplicación en los procesos de Atención al Cliente Asistencial de Pasto Salud ESE.

El Gerente de la Empresa Social del Estado Pasto Salud ESE, en ejercicio de sus facultades Constitucionales y legales, el Acuerdo No. 004 del 2006 del Concejo Municipal de Pasto, el Acuerdo N° 008 del 2009 de la Junta Directiva de la empresa Social del Estado Pasto Salud, y teniendo en cuenta los enunciados de la Resolución 2003 de 2014 emitida por el Ministerio de Salud y Protección Social y el Manual de Estándares de Acreditación en Salud adoptado por la Resolución 123 de 2012 del Ministerio antes mencionado,

CONSIDERANDO:

Que, la Empresa Social del Estado Pasto Salud ESE, está comprometida en un proceso de mejoramiento continuo bajo la perspectiva de garantizar seguridad en la prestación de los servicios de salud.

Que, la Resolución 2003 de 2014 emitida por el Ministerio de Salud y Protección Social, mediante la cual se adopta el manual de estándares de habilitación para entidades prestadoras de servicios de salud, en sus diferentes grupos especialmente el relacionado con procesos prioritarios, requiere que las instituciones prestadoras de servicios de salud garanticen la seguridad en la atención a sus pacientes, mediante la implementación de procesos seguros y documentados para todas aquellas atenciones en salud que en dicho manual se contemplan.


Que, los Estándares del Sistema Único de Acreditación en Salud, adoptados mediante Resolución 123 de 2012 del Ministerio de Salud y Protección Social en el grupo de Atención al Cliente Asistencial, igualmente requieren de una serie de procesos y protocolos documentados, que en su implementación garanticen la prestación de servicios de salud bajo condiciones de calidad y seguridad para el paciente.

Que, Pasto Salud ESE, realizó el proceso de autoevaluación de condiciones de habilitación, encontrando oportunidades de mejora especialmente en el grupo de procesos prioritarios, requiriéndose en este sentido documentar e implementar varios procesos orientados al cumplimiento de los estándares de habilitación.

Que, durante el año 2013 Pasto Salud realizó proceso de autoevaluación de estándares del Sistema Único de Acreditación en Salud, encontrando oportunidades de mejora para su cumplimiento, especialmente en la implementación de procesos orientados a garantizar calidad en la prestación de servicios de salud.

Que para cerrar las brechas detectadas en autoevaluación de estándares de habilitación y acreditación, el equipo de salud de Pasto Salud ESE y los Directores Operativos de Red iniciaron un proceso de revisión, actualización y documentación y despliegue de los procesos y protocolos que a continuación se detallan:

- ✓ *Protocolo de comunicación entre el equipo de salud*
- ✓ *Protocolo programa de información a Usuarios y Familias*
- ✓ *Protocolo programa de atención Binomio Madre Hijo*
- ✓ *Protocolo para el manejo del Consultador Crónico*
- ✓ *Protocolo de Identificación Inequivoca de pacientes en Imagenología*
- ✓ *Protocolo de Prevención de Úlceras por Presión*

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	5

	RESOLUCIONES			
	VERSION	PROCESO / PROCEDIMIENTO	CODIGO	NUM
	2.0	GESTION JURIDICA	GJ	062

GERENCIA

- ✓ *Protocolo Prevención de Caídas*
- ✓ *Protocolo de adopción de Guías Clínicas de Atención*
- ✓ *Protocolo de Alertas tempranas frente a valores críticos en Laboratorio Clínico*
- ✓ *Protocolo de atención a Pacientes con Síndrome de Abstinencia por consumo de SPA*
- ✓ *Procedimientos que requieren consentimiento informado*
- ✓ *Protocolo para la identificación e intervención de necesidades emocionales*
- ✓ *Protocolo para el manejo del dolor*
- ✓ *Protocolo para la identificación de grupos poblacionales específicos*
- ✓ *Protocolo de identificación inequívoca de pacientes*
- ✓ *Instructivo manejo de clasificación de víctimas*
- ✓ *Instrumento para el seguimiento al protocolo de identificación inequívoca de pacientes*
- ✓ *Instrumento de seguimiento a procesos*
- ✓ *Metodología y estandarización para el reporte de eventos adversos*
- ✓ *Protocolo de identificación de alergias*
- ✓ *Protocolo de manejo y contenido de carro de paro*
- ✓ *Protocolo para el manejo de pertenencias del paciente*
- ✓ *Estrategia de despliegue de lavado de manos*
- ✓ *Ficha indicadores lavado de mano*
- ✓ *Formato verificación adherencia a lavado de manos*
- ✓ *Lista de chequeo insumos lavado de manos*
- ✓ *Protocolo de muerte cerebral*
- ✓ *Protocolo Código Azul*
- ✓ *Protocolo de Reanimación Cardio Cerebro Vascular*
- ✓ *Protocolo de intubación y Extubación Orotraqueal*
- ✓ *Estrategia de despliegue de la política de seguridad del paciente*
- ✓ *Protocolo de suturas*
- ✓ *Protocolo de lavado de oídos*
- ✓ *Protocolo de extracción de cuerpo extraño de ojos, vías respiratorias superiores y piel*

Guías y protocolos aplicables a laboratorio clínico

- ✓ *Protocolo de control de calidad interna y externa en laboratorio Clínico versión 2*
- ✓ *Protocolo de identificación inequívoca de pacientes y muestras de laboratorio clínico.*
- ✓ *Guía de bioseguridad, limpieza y desinfección en el laboratorio clínico versión 2*
- ✓ *Guía de frotis vaginal y uretral versión 2*
- ✓ *Guía de obtención y envío de muestras para análisis de eventos en salud pública versión 2*
- ✓ *Guía de TSH Neonatal versión 2*
- ✓ *Protocolo de KOH versión 2*
- ✓ *Protocolo de frotis uretral versión 2*
- ✓ *Protocolo de frotis vaginal versión 2*
- ✓ *Guía de Hematología versión 2*
- ✓ *Protocolo Hematología versión 1*
- ✓ *Guía de Inmunología versión 2*
- ✓ *Protocolo de Inmunología versión 2*
- ✓ *Guía de Tuberculosis versión 2*
- ✓ *Guía de Urocultivo versión 2*
- ✓ *Protocolo de Antibiograma versión 2*
- ✓ *Protocolo Tuberculosis versión 2*
- ✓ *Protocolo Urocultivo versión 2*
- ✓ *Guía de Coprológicos versión 2*
- ✓ *Guía de Orinas versión 2*

FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	6

RESOLUCIONES

VERSION	PROCESO / PROCEDIMIENTO	CODIGO	NUM
2.0	GESTION JURIDICA	GJ	062

GERENCIA

- ✓ *Protocolo de Orina y Coprológicos versión 2*
- ✓ *Protocolo de Ácido Úrico versión 2*
- ✓ *Protocolo de Amilasa versión 2*
- ✓ *Protocolo de Bilirrubina versión 2*
- ✓ *Protocolo de Colesterol HDL versión 2*
- ✓ *Protocolo de Colesterol DLD versión 2*
- ✓ *Protocolo de Colesterol Total versión 2*
- ✓ *Protocolo de Creatinina versión 2*
- ✓ *Protocolo de Fosfatasa Alcalina versión 2*
- ✓ *Protocolo de Glucosa versión 2*
- ✓ *Protocolo de Hemoglobina Glicolisada versión 2*
- ✓ *Protocolo de Microalbuminuria versión 2*
- ✓ *Protocolo de Nitrógeno Ureico versión 2*
- ✓ *Protocolo de Potasio Serico versión 2*
- ✓ *Protocolo de Triglicéridos versión 2*
- ✓ *Fichas técnicas de Indicadores de Laboratorio*
- ✓ *Lista de chequeo de identificación de paciente y muestras de laboratorio.*

Que los anteriores documentos han sido desplegados al talento humano de la empresa, concertados y ajustados según el consenso de los equipos de trabajo, incluyendo el pilotaje.

Que en Reunión del Comité de Calidad y Seguridad del Paciente realizada el día 25 de noviembre de 2014, los Directores Operativos de Red hicieron el despliegue de los documentos relacionados a los integrantes del Comité, poniendo a consideración para su adopción mediante acto administrativo.

Que el Comité de Calidad y Seguridad del Paciente en dicha reunión aprobó los documentos relacionados que corresponden a los protocolos, guías y procedimientos, y, recomendó al Gerente emitir el correspondiente acto administrativo de adopción.

Que es necesario, los Protocolos, Guías y Procedimientos antes mencionados para que sean implementados en los procesos de atención al cliente asistencial.

En mérito de lo expuesto

RESUELVE:

ARTÍCULO PRIMERO: *Adoptar los siguientes Protocolos, Guías y Procedimientos para que sean aplicados en los procesos de atención al cliente asistencial en Pasto Salud ESE:*

- ✓ *Protocolo de comunicación entre el equipo de salud*
- ✓ *Protocolo programa de información a Usuarios y Familias*
- ✓ *Protocolo programa de atención Binomio Madre Hijo*
- ✓ *Protocolo para el manejo del Consultador Crónico*
- ✓ *Protocolo de Identificación Inequivoca de pacientes en Imagenología*
- ✓ *Protocolo de Prevención de Úlceras por Presión*
- ✓ *Protocolo Prevención de Caídas*
- ✓ *Protocolo de adopción de Guías Clínicas de Atención*
- ✓ *Protocolo de Alertas tempranas frente a valores críticos en Laboratorio Clínico*
- ✓ *Protocolo de atención a Pacientes con Síndrome de Abstinencia por consumo de SPA*
- ✓ *Procedimientos que requieren consentimiento informado*
- ✓ *Protocolo para la identificación e intervención de necesidades emocionales*
- ✓ *Protocolo para el manejo del dolor*

FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	7

RESOLUCIONES

VERSION	PROCESO / PROCEDIMIENTO	CODIGO	NUM
2.0	GESTION JURIDICA	GJ	062

GERENCIA

- ✓ *Protocolo para la identificación de grupos poblacionales específicos*
- ✓ *Protocolo de identificación inequívoca de pacientes*
- ✓ *Instructivo manejo de clasificación de víctimas*
- ✓ *Instrumento para el seguimiento al protocolo de identificación inequívoca de pacientes*
- ✓ *Instrumento de seguimiento a procesos*
- ✓ *Metodología y estandarización para el reporte de eventos adversos*
- ✓ *Protocolo de identificación de alergias*
- ✓ *Protocolo de manejo y contenido de carro de paro*
- ✓ *Protocolo para el manejo de pertenencias del paciente*
- ✓ *Estrategia de despliegue de lavado de manos*
- ✓ *Ficha indicadores lavado de mano*
- ✓ *Formato verificación adherencia a lavado de manos*
- ✓ *Lista de chequeo insumos lavado de manos*
- ✓ *Protocolo de muerte cerebral*
- ✓ *Protocolo Código Azul*
- ✓ *Protocolo de Reanimación Cardio Cerebro Vascular*
- ✓ *Protocolo de intubación y Extubación Orotraqueal*
- ✓ *Estrategia de despliegue de la política de seguridad del paciente*
- ✓ *Protocolo de suturas*
- ✓ *Protocolo de lavado de oídos*
- ✓ *Protocolo de extracción de cuerpo extraño de ojos, vías respiratorias superiores y piel*

Guías y protocolos aplicables a laboratorio clínico

- ✓ *Protocolo de control de calidad interna y externa en laboratorio Clínico versión 2*
- ✓ *Protocolo de identificación inequívoca de pacientes y muestras de laboratorio clínico.*
- ✓ *Guía de bioseguridad, limpieza y desinfección en el laboratorio clínico versión 2*
- ✓ *Guía de frotis vaginal y uretral versión 2*
- ✓ *Guía de obtención y envío de muestras para análisis de eventos en salud pública versión 2*
- ✓ *Guía de TSH Neonatal versión 2*
- ✓ *Protocolo de KOH versión 2*
- ✓ *Protocolo de frotis uretral versión 2*
- ✓ *Protocolo de frotis vaginal versión 2*
- ✓ *Guía de Hematología versión 2*
- ✓ *Protocolo Hematología versión 1*
- ✓ *Guía de Inmunología versión 2*
- ✓ *Protocolo de Inmunología versión 2*
- ✓ *Guía de Tuberculosis versión 2*
- ✓ *Guía de Urocultivo versión 2*
- ✓ *Protocolo de Antibiograma versión 2*
- ✓ *Protocolo Tuberculosis versión 2*
- ✓ *Protocolo Urocultivo versión 2*
- ✓ *Guía de Coprológicos versión 2*
- ✓ *Guía de Orinas versión 2*
- ✓ *Protocolo de Orina y Coprológicos versión 2*
- ✓ *Protocolo de Ácido Úrico versión 2*
- ✓ *Protocolo de Amilasa versión 2*
- ✓ *Protocolo de Bilirrubina versión 2*
- ✓ *Protocolo de Colesterol HDL versión 2*
- ✓ *Protocolo de Colesterol DLD versión 2*
- ✓ *Protocolo de Colesterol Total versión 2*
- ✓ *Protocolo de Creatinina versión 2*

FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	8

RESOLUCIONES

VERSION	PROCESO / PROCEDIMIENTO	CODIGO	NUM
2.0	GESTION JURIDICA	GJ	062

GERENCIA

- ✓ *Protocolo de Fosfatasa Alcalina versión 2*
- ✓ *Protocolo de Glucosa versión 2*
- ✓ *Protocolo de Hemoglobina Glicosilada versión 2*
- ✓ *Protocolo de Microalbuminuria versión 2*
- ✓ *Protocolo de Nitrógeno Ureico versión 2*
- ✓ *Protocolo de Potasio Serico versión 2*
- ✓ *Protocolo de Triglicéridos versión 2*
- ✓ *Fichas técnicas de Indicadores de Laboratorio*
- ✓ *Lista de chequeo de identificación de paciente y muestras de laboratorio*

ARTICULO SEGUNDO: *La aplicación de los protocolos, guías y procedimientos adoptados es de carácter obligatorio por parte del equipo de salud en los procesos de atención al cliente asistencial de Pasto Salud ESE.*

ARTÍCULO TERCERO: *El seguimiento a su implementación y cumplimiento se hará por parte de los Directores Operativos en cada Red y por el Equipo de Auditoría para el Mejoramiento de la Calidad a través del programa de auditoría a la calidad del registro y adherencia.*

ARTÍCULO CUARTO: *Una vez los protocolos, guías y procedimientos adoptados sean codificados en Planeación, se publicarán en el servidor documental para ser consultados por el Talento Humano de la Empresa.*


ARTÍCULO QUINTO: VIGENCIA: *La presente resolución rige a partir de la fecha de su expedición.*

COMUNÍQUESE Y CÚMPLASE

Dada en San Juan de Pasto, a los veintiséis (26) días del mes de noviembre de dos mil catorce (2014.)


BERNARDO OCAMPO MARTÍNEZ
Gerente

Proyectó: Subgerencia de Salud e Investigaciones.
Revisó: Oficina Asesora Jurídica.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	9


CONTROL DE CAMBIOS

E: Elaboración del Documento

M: Modificación del Documento

X: Eliminación del Documento

VERSIÓN	CONTROL DE CAMBIOS AL DOCUMENTO	INFORMACIÓN DE CAMBIOS					ACTO ADMINISTRATIVO DE ADOPCIÓN
		E	M	X	ACTIVIDADES O JUSTIFICACIÓN	ELABORÓ /ACTUALIZÓ	
2.0	Guía de Inmunología		x		La presente Guía se realizó como documento de apoyo y consulta en el desarrollo de las actividades diarias del Laboratorio Clínico, teniendo en cuenta la necesidad del servicio y el buen desempeño en pro del aseguramiento y mejoramiento continuo de la calidad.	JORGE ENRIQUE RESTREPO SOLARTE. ANGELA PAOLA MENA OBANDO Bacteriólogos	Resolución 499 del 26 de noviembre de 2014

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	10

INTRODUCCION


Dentro de la gama de pruebas que se procesan diariamente en el laboratorio clínico, las pruebas inmunológicas han tomado una gran importancia no solo como ayuda diagnóstica sino también como elemento fundamental en el monitoreo de pacientes que pueden estar atravesando por un proceso autoinmune como también en aquellos que están desarrollando enfermedades infecciosas.

De la gran cantidad de procesos infecciosos que afectan la humanidad, algunos pueden diagnosticarse por métodos inmunológicos, los cuales han tenido gran desarrollo en los últimos años. Se define como inmunológicos de laboratorio, aquellos en los que hay implicada una reacción antígeno-anticuerpo.

Hay una gran variedad de métodos inmunológicos y todos están en un rango muy amplio que va desde un simple método de aglutinación hasta las técnicas más refinadas utilizando procesos físicos o químicos de separación de moléculas con el fin de identificarlas más precisamente, tratando así de mejorar la sensibilidad y la especificidad del método en cuestión.

Las pruebas inmunológicas no solo han servido para la identificación de agentes infecciosos en los tejidos o en el suero o para la identificación de anticuerpos contra los microorganismos; sino que también han sido utilizadas para tratar de cuantificar e identificar moléculas que se encuentran en cantidades muy pequeñas en los fluidos orgánicos como es el caso de hormonas y drogas, las cuales si se pueden identificar y cuantificar van a servir para determinar un estatus fisiológico o patológico. Estos métodos cada día gozan de mayor sensibilidad, especificidad y reproducibilidad.

El fin primordial de este manual es tratar de dar no solo a los profesionales del laboratorio sino también a las demás disciplinas relacionadas con la salud, una descripción de los diferentes métodos inmunológicos que se utilizan en nuestro laboratorio clínico. Se presenta una introducción sobre el método, el principio del mismo, la técnica que se utiliza y la interpretación junto con los posibles factores técnicos que pueden producir interferencias en dichas pruebas.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	11

1. GENERALIDADES

1.1 OBJETIVO

Facilitar al personal que labora en los distintos laboratorios clínicos de la E.S.E. Pasto Salud una guía que les permita realizar las diferentes pruebas inmunológicas de una forma práctica, correcta y acertada que les permita correlacionar los resultados con la patología del paciente.

1.2 ALCANCE


Para todo el personal de la red de laboratorios clínicos de la E.S.E. Pasto Salud y a los vinculados recientemente, que requieran de una descripción clara sobre las pruebas inmunológicas para las cuales el laboratorio ha demostrado su competencia técnica y analítica de las mismas.

1.3 RESPONSABILIDAD

Los responsables de la revisión y actualización periódica de la guía de inmunología son los Bacteriólogos y Auxiliares del Laboratorio Clínico de Pasto Salud ESES., y principalmente el Bacteriólogo encargado del área en los diferentes laboratorios de la Empresa.

1.4 PERIODICIDAD PARA LA REVISIÓN

La revisión de la guía será cada 3 años teniendo en cuenta la fecha de aprobación y la resolución, y, cada vez, que se presente una variación en el desarrollo del procedimiento o técnica utilizada en las pruebas, se debe solicitar y registrarse en el listado de control de documentos.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	12

2. DIAGNOSTICO SEROLÓGICO DE LA SIFILIS

La sífilis es una enfermedad de transmisión principalmente sexual, producida por el *Treponema pallidum* el cual tiene algunas cepas de las cuales las más importantes son la Nichols, que se considera como patógena para los humanos; la cepa Reiter, Nogushi y Kazam.

La sífilis dentro de sus manifestaciones clínicas post natales se ha clasificado en tres tipos:

Sífilis Primaria: Es la primera manifestación de la enfermedad en la cual su principal característica es la presencia de un chancro en el sitio de inoculación del *Treponema*.

Sífilis Secundaria: Es el segundo estadio de la enfermedad en donde lo más característico es la presencia de un eritema, este periodo se prolonga por dos a seis semanas.

Sífilis Terciaria: Es la tercera manifestación en la cual ya hay compromiso sistémico o de múltiples órganos principalmente a nivel óseo y del sistema nervioso.


Cada uno de estos periodos se caracteriza por presentar entre cada uno de ellos periodos de latencia que varían en su duración. El periodo de latencia más largo es quizá el que se produce entre las fases secundaria y terciaria de la enfermedad. Este periodo de latencia se ha dividido en temprano y tardío. El periodo de latencia temprano, es el que se produce dentro del año en que desaparecen todos los síntomas secundarios. El estado latente tardío se caracteriza porque después del año, la tercera parte evoluciona al estado tardío o terciario.

Esta enfermedad también puede ser adquirida durante el embarazo, conduciendo a la producción de secuelas en el recién nacido o también a la muerte del feto, el grado de gravedad va a depender del estadio de la enfermedad en la cual se encuentra la madre. Desde 1985 se ha visto un incremento en los casos de sífilis congénita sin tener en cuenta que muchos casos no son diagnosticados porque el bebé nace sin sintomatología, se ha visto que más o menos la mitad de los bebés que nacen con sífilis no presentan ningún síntoma.

Dentro de las características que hace pensar que un recién nacido padezca sífilis están: bajo peso al nacer, anemia con reacción leucemoide y formas inmaduras de la serie blanca, evidencia de hepatitis y lesiones maculo papulares diseminadas, pero que son más notorias en las palmas de las manos y plantas de los pies.

Otras anomalías con las que los recién nacidos con sífilis congénita aparecen son lesiones en huesos largos y costillas sin embargo la causa más frecuente de muerte es la neumonitis intersticial seguida de la hepatitis.

Sífilis Congénita: La sífilis congénita es el resultado de la transmisión de la infección por vía perinatal al fruto de la gestación, que puede ocurrir in útero por paso transplacentario o durante el paso a través del canal del parto, y que le es transmitida verticalmente por su madre infectada y quien no ha sido tratada adecuadamente.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	13

La probabilidad de que la enfermedad se transmita de una madre infectada que no ha recibido tratamiento a su hijo es de aproximadamente 70%, pero tiene rangos amplios (30-100%) dependiendo del tiempo de la primoinfección de la madre. La transmisión de la sífilis ocurre in útero, pero las manifestaciones clínicas aparentes en el fruto de la gestación son muy variables determinando en periodo de incubación clínico en el fruto de la gestación.

La infección sífilítica del feto produce, dependiendo de su severidad: aborto tardío espontáneo (20-40%), mortinato (20-25%), parto pretérmino (15-55%) con infección congénita, recién nacido vivo a término con infección congénita (40-70%). La infección congénita puede manifestarse, según su severidad, como muerte neonatal, enfermedad neonatal, o infección látete, pudiendo desarrollarse secuelas tardías.

La muerte prenatal es el resultado más frecuente, pues ocurre entre el 40% y hasta el 70% de las gestaciones de las mujeres con sífilis no- tratada o tratada inadecuadamente; la mayoría de los recién nacidos vivos son asintomáticos pudiendo desarrollar manifestaciones tardías. Las manifestaciones clínicas pueden ser tempranas o tardías, su espectro es muy variado.

- **Factores asociados a la adquisición de la infección por la madre**

Contacto sexual de riesgo.

Conducta sexual riesgosa.

Presencia de múltiples compañeros sexuales en el pasado o en la actualidad.

Enfermedad de transmisión sexual (ETS) de cualquier tipo en la actualidad o en el pasado.


Consumo de drogas psicoactivas. (Marihuana, bazuco, cocaína, heroína, alcohol, etc.) que disminuyan el control y la capacidad de juicio para protegerse de la transmisión de las ETS durante la relación sexual.

Nivel socio económico o educativo bajo, pues existe un menor nivel de educación sexual, un desconocimiento del riesgo en que se incurre, una limitada capacidad de negociación de la relación sexual, una baja cobertura en los servicios de salud, una mayor incidencia al abuso y al trabajo sexual, y un menor nivel de la mujer en la familia.

- **Factores asociados a la transmisión vertical madre – hijo**

La ausencia de atención prenatal oportuna y adecuada es el factor más importante en la incidencia de sífilis congénita; el control adecuado incluye la búsqueda, tratamiento y seguimiento oportunos de la enfermedad. La oferta de los servicios en el proceso de atención de la sífilis gestacional y la sífilis congénita, deben incluir los procedimientos de:

- Educación para la prevención
- Detección
- Diagnostico
- Tratamiento
- Seguimiento
- Rehabilitación

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	14

La detección de casos de sífilis gestacional y congénita se fundamenta en la búsqueda sistemática en todas las gestantes durante el control prenatal, a través de la realización de la prueba serológica no- treponémica VDRL durante:

- La primera consulta de atención prenatal
- Se debe hacer prueba no treponemica en el segundo y tercer trimestre de gestación.
- Al momento de la terminación de la gestación, sea un aborto, mortinato, parto pretérmino o parto a término por cualquier mecanismo (vaginal o por cesárea) para establecer el diagnostico del binomio madre e hijo.
- Si la terminación de la gestación no fue institucional la prueba debe realizarse en la primera consulta del puerperio o postaborto.
- Si la prueba serológica no treponemica es positiva, se evaluará la necesidad de prueba treponémica FTA-Abs.


El pilar del diagnostico de la sífilis congénita es la prueba de selección para sífilis llamada VDRL en la madre al terminar la gestación (aborto, parto o puerperio), la prueba de confirmación de la madre (FTA-Abs) y la historia del tratamiento y seguimiento de la sífilis materna.

- **Caso de sífilis gestacional:** se define como una mujer gestante con prueba serológica de selección para sífilis (VDRL) reactiva en 1:8 o más diluciones o en menor dilución si ella tiene una prueba treponemica reactiva (FTA.Abs).
- **Diagnostico diferencial de la sífilis congénita:** se debe diferenciar la sífilis congénita de las infecciones causadas por toxoplasma, rubeola, citomegalovirus y el herpes simplex (agentes causales del llamado síndrome de (TORCH).
- **Caso de sífilis congénita:** es el recién nacido, mortinato o aborto, de madre con sífilis gestacional con tratamiento inadecuado o sin tratamiento. Un tratamiento inadecuado consiste en: cualquier terapia materna con antibiótico diferente a la penicilina, terapia administrada a la madre con menos de 30 días de anterioridad a la terminación de la gestación.

2.1 PRUEBAS SEROLÓGICAS NO TREPONÉMICAS

Son pruebas que se empezaron a utilizar en 1906 con Wasserman, el cual al tomar tejidos de pacientes sifilíticos, encontró que ellos reaccionaban muy bien con el suero de ellos mismos y al agregarle a esta reacción complemento, posteriormente hubo evidencia de que la substancia que reaccionaba con el suero no eran los Treponemas, sino elementos lipídicos propios de los tejidos, los cuales eran fácilmente extraídos con alcohol y lecitina, así pues, que substancias que no eran exactamente de origen treponémico producían reacción cruzada con los anticuerpos producidos contra este.

Las pruebas no treponémicas han tenido mucha aceptación por la facilidad de la ejecución de las mismas a pesar de que su sensibilidad y especificidad no es ideal puesto que algunas enfermedades autoinmunes producen falsos positivos.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	15

Las técnicas más utilizadas actualmente son el V.D.R.L. (venereal Diseases Research Laboratories), la cual tiene muchos años de uso en los laboratorios clínicos y que en los laboratorios no automatizados no ha sido reemplazada por ninguna otra prueba de screening más rápida, sensible y barata para el diagnóstico de sífilis. Además del V.D.R.L., hoy se usan otras pruebas como RPR (prueba rápida de reagina en plasma), es una técnica más sensible pero menos específica que el V.D.R.L. es una prueba que no necesita de la inactivación del suero y que se diferencia del V.D.R.L. en que además de tener cardiolipina, colesterol y lecitina tiene también cloruro de colina más carbón vegetal que hace que la prueba pueda ser visualizada macroscópicamente.

- Procedimiento

Las reaginas, presentes en individuos infectados por *Treponema pallidum* se detectan en suero por la reacción con un antígeno cardiolipínico purificado y estabilizado. Si la muestra contiene reagina esta se unirá al antígeno produciendo una floculación visible al microscopio. Las reacciones inespecíficas se evitan con el empleo de un antígeno altamente purificado y el agregado de cloruro de colina, técnica en la cual no es necesario inactivar la muestra. La muestra puede ser suero, plasma con E.D.T.A libre de hemólisis o lipemia.

En un placa de serología plana se agrega 50 lambdas de muestra (suero) y con el gotero incorporado en el reactivo adicione 1 gota del antígeno el cual debe estar muy bien homogenizado antes de su adición. Coloque a agitar horizontalmente la placa a 180 r.p.m. en el agitador de manzini durante 4 minutos. Observar inmediatamente en el microscopio en objetivo 10X.


La prueba se interpreta según la presencia de floculación en la muestra bajo la observación microscópica la cual de haber presencia de dicha floculación se considera reactiva. De no existir floculación se considera no reactiva. Reportar como: Reactiva o No Reactiva de acuerdo a lo observado.

En caso de ser reactiva, se debe practicar la prueba semicuantitativa en suero realizando diluciones de la muestra 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32... con solución fisiológica y realizar para cada dilución la prueba como se describe anteriormente. El título está dado por la inversa de la última dilución que se observe reactiva.

No olvidar antes de realizar la prueba de Serología, montar el control de Calidad Interno con los controles que vienen en el kit y hacer el respectivo registro en el SIS destinado para este fin. De igual manera recordar que toda muestra de serología reactiva se debe guardar en congelación para ser enviada los cinco (5) primeros días de cada mes para supervisión indirecta (Control de Calidad Externo), al Laboratorio de Salud Pública. Esto permite verificar con que calidad se están realizando las pruebas y tomar acciones correctivas en caso de ser necesarias.

2.2 PRUEBAS SEROLÓGICAS TREPONÉMICAS

Son las técnicas ideales para el diagnóstico de sífilis, ya que usan antígenos del mismo *Treponema pallidum*, por lo tanto la sensibilidad y la especificidad de la misma es alta. El problema es que la mayoría de estos métodos necesitan cierta clase de tecnología por

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	16

parte del laboratorio para su realización, por lo cual no está al alcance de todos los laboratorios, sin embargo, en los últimos tiempos las técnicas se han simplificado y por lo tanto, en consecuencia, los costos se han disminuido haciendo que éstas sean cada vez más accesibles al laboratorio clínico de base.

Dentro de estas pruebas están:

- K.R.RP. (KOLMER REITER PRECIPITIN).
- FTA- ABS: Es una técnica de inmunofluorescencia indirecta de dos pasos donde se utilizan dos cepas de Treponema Pallidum. En el primer paso se utiliza la cepa Reiter para absorber los anticuerpos inespecíficos y en el segundo se utiliza la cepa Nichols para producir la reacción antígeno-anticuerpo, la cual se visualiza posteriormente utilizando un anticuerpo marcado con fluoresceína. Esta técnica se caracteriza por ser muy sensible y específica.
- P.H.A (PASIVE HEMAGLUTINACION): Es una técnica muy sencilla en la que los glóbulos rojos se han sensibilizado con antígenos del Treponema, los cuales al ponerse en contacto con el suero van a producir la reacción antígeno-anticuerpo (antiinmunoglobulina G) que ayude a producir la hemaglutinación observándose entonces un enmallado de glóbulos rojos en el fondo del tubo.
- PRUEBA TREPONEMICA SYPHILIS TP. DETERMINE (PRUEBA RAPIDA)


Determine syphilis TP es un inmunoanálisis cualitativo in vitro de lectura visual para la detección de los anticuerpos frente al treponema pallidum, la bacteria causante de la sífilis en suero o plasma . Este ensayo está indicado como ayuda en la detección de los anticuerpos frente al Treponema pallidum en muestras de individuos infectados.

La muestra se añade en la superficie absorbente .Mientras la muestra traspasa el área del conjugado, lo reconstituye y se mezcla con el conjugado de coloide de selenio de los antígenos del Treponema Pallidum. Esta mezcla traspasa la fase solida hasta llegar a los antígenos inmovilizados del Treponema pallidum en la ventana de resultados del paciente Si los anticuerpos frente al treponema pallidum están presentes en la muestra, se unen a los antígenos del Treponema Pallidum de coloide de selenio y a los antígenos del Treponema pallidum de la ventana de resultado del paciente formándose una barra roja en esta ventana. Si los anticuerpos frente al Treponema Pallidum no están presentes, el coloide de selenio con antígeno del Treponema Pallidum traspasa la ventana de resultados del paciente y no aparece ninguna línea roja en esta ventana.

Para asegurar la validez de los resultados, este ensayo incluye un control del procedimiento.

CONTENIDO : Alere determine syphilis TP x 100 test , Que son tarjetas de ensayo recubiertas de antígenos del Treponema Pallidum.. Las tarjetas se deben almacenar entre 2 – 30 grados centígrados.

MUESTRA: Suero o Plasma.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	17

- Procedimiento:

Separe del kit solamente las pruebas a utilizar. El resto guárdelas en el empaque original debidamente sellado.

Retire el adhesivo protector de la prueba, con una pipeta automática calibrada dispense 50 lamdas de suero o plasma sobre la superficie absorbente. Espere 15 minutos y lea el resultado.

Para asegurar la validez de la prueba el ensayo incorpora un control del procedimiento. Si la barra del control no se vuelve de color rojo al finalizar el análisis, el resultado no es válido y se debe volver a analizar la muestra.

- Interpretación de los Resultados

POSITIVO: Dos barras de color rojo.

NEGATIVO: Una barra de color rojo en la ventana de control y no aparece nada en el resultado del paciente.

NO VALIDO: No aparece ninguna barra de color en la ventana del control y del ensayo.

- Interpretación de las Pruebas Serológicas para Sífilis


En la sífilis primaria, los valores del V.D.R.L., van a estar negativos o con títulos bajos; se considera que el 30% de los infectados en el estadio primero son seronegativos. Por esta técnica la detección se produce un mes y medio después de la infección, es decir 2 a 3 semanas después de la aparición del chancro; luego de este tiempo el título aumenta paulatinamente, se considera que un título menor de 32 dils, corresponde a una persona con sífilis primaria no tratada. Si el título da negativo este debe repetirse al cabo de una semana, al mes y a los tres meses; si después de este tiempo la prueba sigue siendo negativa se excluye el diagnóstico de sífilis.

En la sífilis secundaria, es cuando se encuentran los títulos más altas en el V.D.R.L., donde valores de 32 dils o más se presentan en esta fase, pacientes con valores menores y con lesiones atípicas se les debe repetir la prueba no treponémica y hacer una prueba confirmatoria.

En la sífilis latente, es usual encontrar pruebas Treponémicas y no Treponémicas reactivas, donde el paciente no tiene evidencia clínica de la enfermedad; si este paciente no tiene historia previa de sífilis se considera que esta cruzado con una sífilis latente temprana, pero si por el contrario hay evidencia previa de la enfermedad, se considera con una fase latente tardía y la conducta a seguir es hacer un V.D.R.L. En LCR para descartar neurosífilis.

En la sífilis tardía los títulos del V.D.R.L. pueden estar muy bajos. En el 15% de los casos estas reagentas caen por debajo de los niveles de detección, pero lo común es que el paciente presente una disminución paulatina de sus títulos o una persistencia de títulos elevados.

Uno de los usos principales del V.D.R.L. esta en el monitoreo del tratamiento de los pacientes a los cuales se les ha diagnosticado sífilis. Si el tratamiento contra esta

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	18

enfermedad se instaura en la fase primaria es posible que no haya positivización y por tanto el paciente permanecerá seronegativo.

En la etapa secundaria los valores de esta prueba empiezan a disminuir rápidamente hasta negativizarse al cabo de varios meses a un año; se espera que al cabo de tres meses los títulos disminuyan cuatro veces el valor original y ocho veces el título entre el sexto y el octavo mes. Si el tratamiento se establece durante la fase tardía los valores no se negativizan consolidándose entonces lo que se ha denominado la cicatriz inmunológica, donde el paciente permanece con títulos bajos, sin embargo los títulos de anticuerpos disminuyen gradualmente.


En caso de que el paciente se vuelva a infectar, los primeros anticuerpos en aparecer son los inmovilizantes, seguidos de las reaginas, los cuales aumentan rápidamente, usualmente, se produce un aumento de cuatro veces el título, este aumento no solo puede infectar reinfección sino también, Falla en el tratamiento instaurado.

Las pruebas no treponémica durante el embarazo, se consideran como un método de screening para evaluar el riesgo para el feto de adquirir una sífilis congénita, entonces a toda paciente que vaya por primera vez al control prenatal se le solicita la serología la cual se debe repetir durante el tercer trimestre del embarazo y en el momento del parto. La paciente embarazada puede presentar resultados reactivos, que pueden ser falsos positivos, por lo tanto deben ser confirmados por medio de una prueba treponémica. Si la paciente tiene historia previa de sífilis y un título estable, puede observarse un aumento inespecífico de este sin que esto indique que hay una reinfección o una recaída, si esto ocurre es necesario hacer un monitoreo serológico una semana después.

- Otro problema que se presenta con el V.D.R.L. para detectar sífilis congénita es que pueden producirse falsos positivos y falsos negativos. Los falsos positivos se producen cuando la sangre se toma de cordón umbilical y esta se contamina con la gelatina de Wharton y los falsos negativos se producen cuando el feto se infecta tardíamente en el embarazo; cuando esto ocurre la madre es seropositiva pero el recién nacido, el cual no llega a ser seroreactivo sino al cabo de un mes de edad, pero quizá el problema más grave sería que la madre se infecte en las últimas semanas del embarazo y está cursando con la etapa primaria de la enfermedad y el feto se infecta en el momento del parto al entrar en contacto con un chancro.


Los pacientes con sífilis deben ser sometidos también a monitores serológicos para HIV, ya que la presencia de la enfermedad, debido a su forma de transmisión puede también indicar la posibilidad de infección con el virus, pero además la presencia de los chancros como soluciones de continuidad puede ser una vía fácil de entrada del virus al huésped. Pacientes con SIDA, pueden también tener riesgo de presentar sífilis, por lo tanto deben ser monitoreados serológicamente.

Estos pacientes con SIDA también pueden presentar falsos positivos y falsos negativos en pruebas no Treponémicas, por lo cual un paciente con una prueba no treponémica negativa y una lesión sugestiva de sífilis debe ser sometido a análisis histopatológico. Cuando menos un 1% de los pacientes con SIDA pueden presentar manifestaciones

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	19

clínicas compatibles con neurosífilis. La prevalencia de la sífilis en los pacientes con HIV, puede alcanzar hasta un 20% de la población infectada con el virus.

Las pruebas no Treponémicas pueden tener dos tipos de falsos positivos los agudos y los crónicos. Los primeros son aquellos en el que el V.D.R.L. se negativiza después de 6 meses de haberse hecho la prueba, este tipo de reacciones se presentan en infecciones agudas virales como la mononucleosis infecciosa y la hepatitis, en infecciones bacterianas y parasitarias como las neumonías, tuberculosis, fiebre escarlatina, endocarditis bacteriana, tifo etc. También pueden surgir falsos positivos agudos en intoxicaciones por arsénico, éter, alcohol y alucinógenos. Por el contrario los falsos positivos crónicos suelen presentarse en aquellos pacientes en los que aún después de 6 meses continúan siendo reactivos. Estos se presentan en casos como el lupus eritematoso sistémico, lupus inducido por drogas, lupus discoide, hiperglobulinemias, artritis reumatoide, leucemia, linfomas y diabetes.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	20

3. PRUEBAS SEROLOGICAS PARA DETERMINACION DE GONADOTROPINA CORIONICA HUMANA (HCG)

La Gonadotropina coriónica humana es una hormona que se considera dentro del grupo de las gonadotropinas, es la única que es producida extra hipofisiariamente, específicamente en el trofoblasto del blastocisto en desarrollo y posteriormente por el corión y la placenta en la mujer.

Dentro de las otras gonadotropinas se encuentra la hormona folículo estimulante (FSH), la hormona luteinizante (LH), las cuales también tienen su función a nivel de los órganos genitales tanto femeninos como masculinos, pero que al contrario de la HCG estas sí son producidas por la hipófisis. Estas hormonas junto con la hormona TSH tienen una estructura similar.

La HCG es una glucoproteína que se caracteriza por tener dos subunidades idénticas unidas de manera no covalente, la alfa que tiene 92 aminoácidos de los cuales 89 son de secuencia igual a las de las otras gonadotropinas y la beta de 146 aminoácidos donde la LH y HCG son idénticas en un 80%, pero difieren en su secuencia carboxiterminal en donde la HCG tiene 30 aminoácidos que no los tiene la LH, haciendo que esta molécula sea por lo tanto de mayor tamaño y que desde el punto de vista inmunológico haya una diferencia antigénica que permita diferenciar ambas hormonas.


La HCG se encuentran normalmente en mujeres no embarazadas en niveles muy bajos, los cuales no pueden ser detectados por los métodos comunes, pero en las mujeres embarazadas los niveles comienzan a incrementar desde el momento de la implantación del embrión, aproximadamente a las 48 horas después de la concepción, hasta las 12 semanas de gestación, durante el primer trimestre del embarazo los niveles aumentan exponencialmente, donde la cifra del día anterior se duplica al día siguiente. A partir del segundo trimestre los niveles disminuyen un poco pero permanecen estables hasta el final del embarazo; no se conoce la razón de esta disminución, pero coincide con el inicio de la producción de progesterona.

Después del parto, los niveles de Gonadotropina caen muy lentamente persistiendo hasta el día 20 después de este. Después de un aborto no molar, es posible que haya que esperar más días para que la HCG descienda a los niveles no detectables, debido a las cifras tan altas que se producen durante el embarazo y también porque se retienen algunos productos de la gestación.

La función de la HCG es el mantenimiento del cuerpo lúteo con el fin de mantener la producción de progesterona ovárica durante el primer trimestre de la gestación. El fin primordial de la detección de esta hormona es el de hacer un diagnóstico de embarazo en las primeras semanas de gestación.

- Procedimiento

La técnica permite hacer la detección de HCG en muestras como suero y orina. Se puede recolectar la muestra de suero en cualquier momento del día sin necesidad de

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	21

ayuno ni restricción dietaria, es importante obtener una muestra libre de hemólisis o contaminación. Las muestras pueden ser analizadas el mismo día pero si esto no es posible puede refrigerarse a 4°C por máximo 2 días y en congelación -20°C por un máximo 1 mes.

Para cualquiera de los casos anteriores la muestra debe estar a temperatura ambiente, se debe agregar 3 gotas de la muestra en el orificio del cassette, esperar 5 minutos. Los resultados deberán leerse a los 3 minutos cuando se analice orina o a los 5 minutos cuando se analice una muestra de suero. Una concentración baja de hCG podría dar lugar, después de un periodo de tiempo prolongado, a la aparición de una débil línea en la región de la prueba (T); por tanto, no interprete el resultado después de 10 minutos. Dependiendo de la concentración de la HCG en la muestra, los resultados positivos pueden observarse incluso antes de 40 segundos. Sin embargo para confirmar los resultados negativos se requiere el tiempo completo de reacción (5 minutos). No se debe interpretar los resultados después de 10 minutos debido a que podemos dar un resultado equivocado.


Recuerde realizar el control de calidad interno de las pruebas registrándolo en la planilla SIS, destinada para este fin.

- Interpretación

- **Negativo:** Aparece únicamente una banda de color en la región de control (C), no hay una banda visible en la región de la prueba (T).
- **Positivo:** Aparecen dos bandas de color una en la región de control (C) y otra en la región de prueba (T), la intensidad del color puede variar debido a que la HCG varía durante las diferentes etapas del embarazo. El resultado positivo indica que se ha detectado presencia de las hormonas en una concentración mayor o igual 25 mUI/ml en la muestra.
- **Prueba inválida:** No se visualiza bandas en la región de control (C), por lo tanto debe utilizarse un nuevo cassette.

En casos de embarazo ectópico, toxemia del embarazo y aborto inminente la excreción de la hormonas puede estar disminuida y presentarse falsos resultados negativos. En mujeres con enfermedades trofoblásticas como coriocarcinoma o mola hidatiforme pueden presentarse falsos positivos puesto que segregan concentraciones de la hormona en ausencia de embarazo.

La determinación de HCG en la mola hidatidiforme es importante para el diagnóstico de la enfermedad, para el monitoreo del tratamiento y la evolución de la enfermedad. En el hombre se encuentran niveles elevados de esta hormona en enfermedades como teratomas, tumores malignos testiculares, carcinomas prostáticos etc.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	22

4. PRUEBAS SEROLOGICAS PARA LA DETERMINACION DE LA PROTEINA C REACTIVA (PCR)

La proteína C reactiva se encontró primero durante infecciones neumocócicas donde reaccionaba y producía precipitación del polisacárido C del neumococo. La proteína C tiene un papel comparable con el de las inmunoglobulinas. Esta ha sido observada en numerosas especies de animales con pequeñas variaciones en la secuencia de aminoácidos.

Esta proteína aparece en el suero de individuos en respuesta a varias condiciones inflamatorias o necrosis tisular y desaparece como ceden las condiciones que la causan. Es rutina encontrarla en casos de infección bacteriana, fiebre reumática activa o algunas enfermedades malignas y es frecuentemente vista asociada con casos de artritis reumatoidea, infecciones virales y tuberculosis. La proteína C reactiva ha sido también detectada en pacientes seguida una transfusión sanguínea y operaciones quirúrgicas; así como en pacientes con quemaduras.

La eficacia del régimen terapéutico puede ser valorado por monitoreo de los niveles séricos en el tratamiento de la infección o sepsis del neonato. La prueba de aglutinación para proteína C reactiva es un ensayo sensible para la detección o semicuantificación de la proteína C reactiva en suero.


La Proteína C reactiva s una alfa globulina de tipo glucoproteico ligada a los lípidos del suero. La vida media en circulación de esta molécula es de 4 a 5 horas pero algunos sugieren hasta 18 horas de circulación.

- Procedimiento

La técnica permite hacer la detección de proteína C reactiva en muestras de suero. No utilizar plasma ni suero inactivado. Se puede recolectar la muestra de suero en cualquier momento del día sin necesidad de ayuno ni restricción dietaria, es importante obtener una muestra libre de hemólisis o contaminación. Las muestras pueden ser analizadas el mismo día pero si esto no es posible puede refrigerarse a 4°C por máximo 2 días y en congelación –20°C por un máximo 1 mes.

El principio se basa en las detección de la PCR en el suero del paciente utilizando una anti PCR IgG unida a partículas de látex que se unen por reacción inmunoquímica produciendo una aglutinación visible. La muestra debe estar a temperatura ambiente, se debe agregar 50 lambas de la muestra a las placas plásticas negras, mezclar muy bien el reactivo y adicionar una gota de la suspensión del látex, mezclar bien y agitar a 100 r.p.m. por 2 minutos posteriormente a esto realizar la lectura.

Use los controles negativo y Positivo como referencia para realizar la lectura por aglutinación visible macroscópica, y no olvide registrar la lectura de los controles positivo y negativo en la planilla SIS destinada para este fin cada vez que monte una prueba. Esto garantiza la calidad de funcionamiento del reactivo.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	23

En caso de ser positiva la aglutinación, se debe practicar la prueba semicuantitativa en suero realizando diluciones de la muestra 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 y 1:32 con solución fisiológica y realizar para cada dilución la prueba como se describe anteriormente.

El título está dado por la mayor dilución que se observe aglutinación. Los resultados se calculan multiplicando 6 x factor de dilución de la muestra.

- Interpretación

- **Negativo:** ninguna aglutinación de las partículas de látex indica niveles de PCR menores de 6 mg/L en la muestra. Las pruebas negativas reportarlas como menor de 6 mg/l
- **Positivo:** aglutinación de las partículas de látex dentro de los 2 minutos de mezcla. Indica niveles de PCR iguales o mayores de 6mg/L.


Los niveles de PCR aparecen 4 horas después que se produce la injuria del tejido, los niveles máximos se alcanzan a las 24 a 72 horas después, sus niveles van disminuyendo a medida que el proceso patológico desaparece o cuando ha disminuido el estímulo. Por estas razones su mayor utilidad está en el uso para el monitoreo de los pacientes en su proceso clínico.

Esta molécula junto con la VSG son los dos parámetros que juegan un papel importante en el diagnóstico de un proceso inflamatorio.

Elevaciones moderadas de la PCR indican un proceso inflamatorio, infarto del miocardio, pancreatitis, infección bacteriana aguda, trauma mayor, vasculitis sistémica.

La medición de la PCR también se utiliza para el seguimiento de la actividad de algunas enfermedades reumáticas tales como gota, artritis reumatoride, polimialgia reumática, lupus eritematoso sistémico etc. Durante el embarazo la PCR se encuentra con valores ligeramente elevados con respecto a una paciente no embarazada debido a la inducción en las síntesis de proteínas por los niveles altos de estrógenos, también por la respuesta inflamatoria continuada o respuesta inmunológica al feto.

La proteína C reactiva puede predecir hasta con 4 días de anticipación la producción de un rechazo de trasplante de riñón. Al parecer la PCR puede producir alguna función en los mecanismos de rechazo. Luego de las transfusiones hay un leve aumento de la PCR, en el 55.6% de los casos este aumento no es muy significativo, pero si este es mayor de 10 mg/del puede indicar la presencia de un proceso inflamatorio o infeccioso.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	24

5. PRUEBAS SEROLOGICAS PARA LA DETERMINACION DE FACTOR REUMATOIDEO (RA – TEST)

El factor reumatoideo, se considera como un anticuerpo que aparece en algunas enfermedades de tipo autoinmune y también en algunas otras de tipo infeccioso, se considera que está altamente asociado con la artritis reumatoide, en la cual se presenta en un 80% de los pacientes que tienen artritis reumatoide clásica y en el 10-20% de los que tienen artritis reumatoide juvenil.

El factor reumatoideo inmunológicamente, se considera como una inmunoglobulina que reacciona contra la porción FC de la inmunoglobulina G (IgG) humana, por esta razón entonces, se considera como un anticuerpo. En el 85% de los casos, este factor es una IgM, también se ha descrito del IgE. Siempre se hace medición de la IgM, sin embargo se ha encontrado que la cuantificación del Factor Reumatoideo de tipo IgG puede estar asociado con la evolución de la enfermedad y que el factor reumatoideo IgA se ha asociado con procesos articulares.

Al reaccionar este factor reumatoideo con las inmunoglobulinas de los pacientes se producen complejos inmunes de bajo y alto peso molecular, que se deposita en la membrana sinovial de las articulaciones, activando la vía clásica del complemento, el cual al actuar sobre este complejo producirá daño a nivel de la membrana sinovial y será una de las causas de la patología articular producida en esta enfermedad, los títulos de factor reumatoide de tipo IgG correlacionan con la intensidad de la sinovitis que se presenta.


- Procedimiento

El método se fundamenta en una reacción de aglutinación de una suspensión de partículas en látex poliestireno sensibilizadas con IgG, específicamente tratadas para evitar aglutinaciones inespecíficas. La aglutinación es visible en una concentración de FR en suero igual o superior a 8UI/ml.

La muestra debe ser suero libre de hemólisis y contaminación. No se debe utilizar sueros altamente lipémicos pues podrían dar una aglutinación no específica. La muestra debe estar a temperatura ambiente, se debe agregar 50 lambas de la muestra a las placas plásticas negras, mezclar muy bien el reactivo y adicionar una gota de la suspensión del látex, mezclar bien y agitar a 100 r.p.m. por 2 minutos posteriormente a esto realizar la lectura. Use los controles negativo y positivo como referencia para realizar la lectura por aglutinación visible macroscópica. Y no olvide registrar la lectura de los controles positivo y negativo en la planilla SIS destinada para este fin cada vez que monte una prueba. Esto garantiza la calidad de funcionamiento del reactivo

En caso de ser positiva la aglutinación, se debe practicar la prueba semicuantitativa en suero realizando diluciones de la muestra 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 y 1:32 con solución fisiológica y realizar para cada dilución la prueba como se describe anteriormente.

El título está dado por la mayor dilución que se observe aglutinación. Los resultados se calculan multiplicando 8 x factor de dilución de la muestra.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	25

- Interpretación


- **Negativo:** ninguna aglutinación de las partículas de látex indica niveles de FR menores de 8 mg/L en la muestra.
- **Positivo:** aglutinación de las partículas de látex dentro de los 2 minutos de mezcla. Indica niveles de FR iguales o mayores de 8mg/L.

La presencia de factor reumatoideo junto con el daño de las articulaciones pequeñas y el inicio de la artritis en la infancia tardía, se asocian con un mal pronóstico. La probabilidad de presentarse factor reumatoideo en un paciente con artritis reumatoide es mayor durante los primeros meses de la enfermedad, posteriormente el porcentaje de positivos va disminuyendo.

Títulos altos de FR en la artritis reumatoide, se asocian con nódulos reumatoides, enfermedad destructiva de las articulaciones y complicaciones sistémicas como pleurítis, pericarditis, úlceras de los miembros inferiores etc.

Otra variedad de enfermedades que también pueden producir factor reumatoideo son:

- Silicosis.
- Cirrosis Hepática
- Fibrosis pulmonar idiopática
- Infarto del miocardio
- Asma

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	26

6. PRUEBA SEROLOGICA PARA LA DETERMINACION DE ANTIESTREPTOLISINA (ASTOS)

El título de antiestreptolisina es la prueba de laboratorio que se ha usado para determinar el nivel de anticuerpos que un paciente tiene con respecto al estreptococo Beta hemolítico del grupo A y B. El estreptococo, se caracteriza por tener varios antígenos importantes:

- Los antígenos de membrana.
- Los antígenos solubles.

Los antígenos de membrana se localizan en la pared celular de la bacteria dentro de los cuales están antígenos C que son carbohidratos que se encuentran en las paredes bacterianas del estreptococo. Los principales carbohidratos son la ramnosa y la hexosamina. Otros son los antígenos M en los cuales está el determinante de patogenicidad del estreptococo y se localiza en las fimbrias del mismo.


Los antígenos solubles son aquellos que la bacteria saca al exterior y por lo tanto se encuentran en los tejidos o líquidos vecinos, se consideran como los de mayor patogenicidad y son las estreptocinasa la cual su acción se centra en la lisis de los coágulos de sangre catalizando la transformación de plasminógeno a plasmina. El otro antígeno es la estreptodornasa (DNAasa) que e una enzima típica de los estreptococos del grupo A, su acción es despolimerizar el DNA, se conocen 4 tipos inmunológicamente diferentes los cuales se denominan A,B,C y D. No son citotóxicos ya que no penetran las membranas de las células, pero si actúan sobre el ADN de los glóbulos blancos muertos despolimerizando su ADN y por tanto fluidificando la pus y permitiendo entonces, el fácil transporte del estreptococo de un sitio a otro.

La proteinasa estreptocócica es una enzima capaz de destruir otro factor de patogenicidad como lo es la proteína M. Tiene una especificidad relativamente amplia, puede actuar también sobre otras enzimas como la estreptolisina y la estreptocinasa. Se caracterizan porque se liberan cuando el pH está entre 5.5 y 6.5; se activa por agentes reductores como los radicales sulfidrido, se ha implicado en las lesiones a nivel del miocardio en animales cuando se inyecta intravenosamente, no se sabe si desempeña algún papel en la patogenia de la fiebre reumática.

La estreptolisina es una enzima que tiene su acción sobre los glóbulos rojos y los glóbulos blancos, por esto también se le conoce como hemolisinas y leucocidinas.

En el estreptococo se han descrito dos tipos de estreptolisinas que son:

- Estreptolisina O: También conocida como oxígeno lábil, es inhibida reversiblemente por el oxígeno e irreversiblemente por él. También es tóxica contra distintas células o fracciones celulares incluyendo los polimorfonucleares, las plaquetas, el corazón de mamíferos y anfibios.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	27

- Estreptolisina S: Es producida por el estreptococo que crece en suero o en presencia de otras sustancias como seroalbúmina, alfalipoproteína, ARN o detergentes como Tween. Esta toxina no es antigénica es termolábil y oxígeno estable.

- Procedimiento

El método se fundamenta en una reacción de aglutinación de una suspensión de partículas de látex poliestireno sensibilizadas con estreptolisina O estabilizada. La aglutinación es visible en una concentración de ASO en suero igual o superior a 200 UI/ml.

La muestra debe ser suero libre de hemólisis y contaminación. No se debe utilizar sueros altamente lipémicos pues podrían dar una aglutinación no específica. La muestra debe estar a temperatura ambiente, se debe agregar 50 lambas de la muestra a las placas plásticas blancas, mezclar muy bien el reactivo y adicionar una gota de la suspensión del látex, mezclar bien y agitar a 100r.p.m. por 2 minutos posteriormente a esto realizar la lectura. Use los controles negativo y positivo como referencia para realizar la lectura por aglutinación visible macroscópica. Y no olvide registrar la lectura de los controles positivo y negativo en la planilla SIS destinada para este fin cada vez que monte una prueba. Esto garantiza la calidad de funcionamiento del reactivo.

En caso de ser positiva la aglutinación, se debe practicar la prueba semicuantitativa en suero realizando diluciones de la muestra 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 y 1:32 con solución fisiológica y realizar para cada dilución la prueba como se describe anteriormente. El título está dado por la mayor dilución que se observe aglutinación. Los resultados se calculan multiplicando 200 x factor de dilución de la muestra.


- Interpretación

- **Negativo:** ninguna aglutinación de las partículas de látex indica niveles de FR menores de 200 UI/mL en la muestra.
- **Positivo:** aglutinación de las partículas de látex dentro de los 2 minutos de mezcla. Indica niveles de FR iguales o mayores de 200UI/ml.

La prueba positiva para estreptolisinas se encuentra en pacientes con recientes enfermedades debidas a estreptococos del grupo A Beta hemolíticos.

En nuestro medio sin embargo, se considera que estos valores por si solos carecen de valor si no van acompañados de la valoración de los títulos dos semanas después, lo cual servirá para observar el comportamiento de los anticuerpos después de un tiempo determinado o luego de instaurado un tratamiento.

Se considera que valores de dos diluciones superiores pueden ser sugestivos de fiebre reumática o de glomerulonefritis, pero el diagnóstico no se puede hacer utilizando solamente la prueba serológica, sino también con la ayuda de los hallazgos clínicos del paciente.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	28

7. BRUCELOSIS

La brucelosis, también llamada fiebre malta o fiebre ondulante, es una enfermedad bacteriana (infecciosa) que ataca a varias especies de mamíferos dentro de los cuales se encuentra el hombre, causando la brucelosis humana. También infecta a otros mamíferos dentro de los cuales se encuentran algunos con alta relevancia económica como pueden ser los ganados bovino, equino, porcino, ovino y caprino y a otras especies silvestres. Puede afectar a varios órganos del cuerpo. El diagnóstico de la brucelosis puede establecerse bien sea por el aislamiento del microorganismo en sangre o heces, o por la demostración de la presencia de anticuerpos específicos en el suero del paciente. El reactivo debido a su formulación en un tampón de pH ácido, es capaz de reaccionar con anticuerpos IgG o IgM, por lo que es muy útil para el diagnóstico de individuos en fase crónica de la enfermedad, los cuales presentan un nivel elevado de anticuerpos IgG difícilmente detectables por el método tradicional de aglutinación en tubo.

- ETIOLOGÍA

El género *Brucella* está compuesto por 10 especies, las cuales se han diferenciado con base en sus características antigénicas y su hospedador animal preferencial: *B. abortus* (bovinos), *B. canis* (caninos), *B. ceti* (delfines, marsopas, ballenas), *B. melitensis* (ovejas, cabras), *B. microti* (zorros rojos, roedores de campo), *B. neotomae* (roedores), *B. ovis* (ovejas), *B. pinnipedialis* (focas), *B. suis* (porcinos), y *B. inopinata* recientemente descrita (2009), aislada de una infección en implante mamario de una paciente de 71 años. Pertenecen al grupo de las alfa-proteobacterias y más específicamente a la clase Rhizobiales.


La infección en humanos con *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* y *B. canis*, siendo *B. melitensis* la especie más virulenta (10 a 100 bacterias pueden infectar a un hombre) y causa el cuadro clínico más grave. *B. canis* es la menos virulenta.

- EPIDEMIOLOGÍA

Algunos de los reservorios naturales son los [bovinos](#), [caprinos](#), [ovinos](#), [cerdos](#) y mamíferos marinos, pero se han encontrado brucellas en una inmensa cantidad de mamíferos tan dispares como pequeños [roedores](#), [cánidos](#), [camélidos](#) y [cetáceos](#).

Cabe destacar que la bacteria en los animales también causa la enfermedad, aunque puede que con distinta sintomatología, dependiendo del huésped y la especie de *Brucella* en cuestión.

Las vías de contagio suelen ser: mucosas, heridas en la piel y la vía digestiva. La bacteria puede incluso entrar por las vías respiratorias mediante aerosoles. Muchas infecciones provienen de la manipulación de animales contaminados, por ingesta de leche o de sus productos no pasteurizados y de carnes poco cocidas. En países desarrollados es una enfermedad típicamente ocupacional donde las personas más expuestas son veterinarios, peones de campo y trabajadores de la industria de la carne.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	29

- MANIFESTACIONES CLÍNICAS

El periodo de incubación dura de una a seis semanas. El inicio de las manifestaciones clínicas se caracteriza por fiebre, artralgias, mialgias y diaforesis. Las manifestaciones clínicas dependen de la vía de transmisión del organismo: si es respiratoria, el paciente cursa con neumonía, si entra por la piel las manifestaciones incluyen celulitis y linfadenopatía regional. Los microorganismos pueden luego diseminarse a otros tejidos vía sanguínea. Las bacterias también pueden entrar al organismo a través del tracto gastrointestinal, por la ingestión de alimentos contaminados, principalmente leche y sus derivados; inicialmente se presentan síntomas gastrointestinales y posteriormente sistémicos. La evolución de la enfermedad dependerá de la respuesta inmune del hospedero, principalmente de la respuesta inmune celular.

La forma aguda de la brucelosis se caracteriza por fiebre que en la mayoría de los casos es alta e intermitente (ondulante), presentándose generalmente por la tarde/noche acompañada de cefalea intensa frontal y occipital, y diaforesis. En bazo, hígado, ganglios linfáticos aparecen nódulos granulomatosos que pueden evolucionar hasta convertirse en abscesos.

En la forma crónica, las manifestaciones más comunes son:

- Síndrome febril: habitualmente de poca intensidad.
- Osteoarticulares: poli o monoartritis, gránulos óseos, abscesos.
- Psíquicas: síndrome depresivo, nerviosismo, irratibilidad.
- Digestivas: esplenopahetomegalía, hepatitis.
- Neurológicas: meningobrucelosis, polineuritis, síndrome ciático, síndrome radicular.
- Hematológicas: anemia hemolítica, anemia ferropriva.
- Respiratorias: bronquitis, neumonía.
- Genitourinarias: orquiepididimitis, cistitis, amenorrea.


- DIAGNÓSTICO

Se diagnostica generalmente mediante la detección de anticuerpos específicos contra *Brucella* en sangre por seroaglutinación. También por aislamiento del patógeno mediante hemocultivo.

Con el advenimiento de las tecnologías del ADN en las últimas décadas se está utilizando para diagnóstico la PCR (Polymerase Chain Reaction) la cual es altamente específica e incluso sirve para distinguir entre las diferentes especies de *Brucella*, pero su costo hace que la seroaglutinación siga siendo la técnica más utilizada.

- PRINCIPIO DEL MÉTODO

La Rosa de Bengala es una técnica de aglutinación en porta para la detección cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos anti-*Brucella* en suero humano o animal. La suspensión bacteriana y coloreada, es aglutinada por anticuerpos IgG o IgM presentes en el suero del paciente.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	30

a. Reactivos

- **Rosa de Bengala:** suspensión de Brucela abortus cepa S99, en tampón lactato 1 mol/L, fenol 5 g/L, Rosa Bengala, pH 3,6.
- **Control positivo (tapón rojo):** suero animal con un contenido de anticuerpos anti_Brucela >50 UI/mL. Azida sódica, 0,95 g/L.
- **Control Negativo (tapón azul):** suero animal. Azida sódica, 0,95 g/L.

b. **Conservación y estabilidad:** todos los reactivos del kit están listos para su uso. Mantener bien cerrados a 2-8°C, No congelar.

c. **Muestra:** suero fresco. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a menos 20°C. las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de la prueba. No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

d. Procedimiento

- **Método cualitativo**

- 1) A temperar los reactivos y la muestra a temperatura ambiente. La sensibilidad del ensayo disminuye a temperaturas bajas.
- 2) Depositar 50 uL de la muestra a ensayar y una gota de cada uno de los controles Positivo y Negativo sobre círculos distintos de una lamina plástica de color blanco. Y no olvide registrar la lectura de los controles positivo y negativo en la planilla SIS destinada para este fin cada vez que monte una prueba. Esto garantiza la calidad de funcionamiento del reactivo.
- 3) Homogenizar suavemente el reactivo de Rosa de Bengala antes de usar y luego depositar una gota (50 uL) junto a las muestras y el control positivo y negativo.
- 4) Mezclar las gotas con un palillo, procurando extender la mezcla por toda la superficie interior del círculo.
- 5) Coloque la lámina en el agitador de manzini a 80-100 r.p.m durante cuatro minutos. El exceso de tiempo de agitación puede original la aparición de falsos positivo. Luego observe la presencia o ausencia de aglutinación.


- **Método semicuantitativo**

- 1) Realizar diluciones dobles de la muestra en solución salina 9 g/L.
- 2) Proceder para cada dilución, como en la prueba cualitativa.

e. Lectura e interpretación


Observe macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación inmediatamente después de retirar la lámina del agitador. La presencia de aglutinación indica una concentración de anticuerpos anti-Brucela igual o superior a 25 UI/mL. El método semi cuantitativo se define el título como la dilución mayor que da resultado positivo.

- **Cálculos:** la concentración aproximada de anticuerpos anti-Brucela en la muestra del paciente se obtiene de la siguiente manera:

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	31

25 título de anti-Brucella = UI/MI

- **Control de calidad:** se recomienda utilizar el control positivo y negativo para controlar la funcionalidad de reactivo, cada vez que monte una prueba.
- **Valores de referencia:** hasta 25 UI/mL.
- **Interferencias:** hemoglobina (10g/L), lípidos (10g/L) y factores reumatoideos (300UI/mL) no interfieren. La bilirrubina interfiere a partir de 2,5 mg/dL.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	32

8. HEPATITIS B

La hepatitis B es una enfermedad hepática causada por el virus de la hepatitis B (HBV). El virus de la hepatitis B fue el primer virus de hepatitis que se identificó. Es una enfermedad que afecta a 300 millones de personas en el mundo y se estima que es responsable de entre 250.000 y 500.000 muertes al año. La prevalencia de la infección por el virus de la hepatitis B varía en forma importante en diferentes partes del mundo.

La mayoría de las personas que adquieren el virus de la hepatitis B se recupera sin consecuencias. Esta forma de infección, que dura menos de 6 meses, se conoce como hepatitis B aguda. Por el contrario, cuando la infección perdura por más de 6 meses, se conoce como hepatitis B crónica. Aproximadamente el 5% de los adultos que adquieren la infección desarrollan la forma crónica. La probabilidad de desarrollar una hepatitis B crónica depende de la edad y del estado inmunitario (defensas) del sujeto, siendo mayor cuando se adquiere en la infancia que cuando se adquiere siendo adulto.

Las manifestaciones clínicas de la infección por el virus de la hepatitis B son muy variadas, y es importante recalcar que frecuentemente esta infección puede no dar ningún síntoma por muchos años lo cual no significa necesariamente que la infección esté controlada. El daño que produce el virus de la hepatitis B en el hígado es también variable y depende de la capacidad de reparación del hígado y de la capacidad del organismo de controlar la infección. Las consecuencias más importantes de esta infección en el largo plazo son el desarrollo de cirrosis hepática y de carcinoma hepatocelular.


- ETIOLOGIA

Pertenece a la familia Hepadnaviridae (virus ADN hepatotrópico). Es una enfermedad infecciosa del hígado causada por este virus y caracterizada por necrosis hepatocelular e inflamación. Puede causar un proceso agudo o un proceso crónico, que puede acabar en cirrosis (pérdida de la "arquitectura" hepática por cicatrización y surgimiento de nódulos de regeneración) del hígado, cáncer de hígado, insuficiencia hepática e incluso la muerte.

Con aproximadamente 360 millones de personas crónicamente infectadas por el virus de la hepatitis B, es la infección más común en todo el mundo, con alrededor de un tercio del mundo con valores detectables de anticuerpos contra el VHB. Además de la hepatitis C, la hepatitis B es la causa más frecuente de enfermedad hepática crónica con la posible consecuencia de la cirrosis hepática o carcinoma hepatocelular. El tratamiento de la hepatitis B crónica es posible sólo en parte, por lo que la vacunación preventiva es la medida más importante para prevenir la infección y reducir los portadores del virus como una fuente permanente de infección.

Vía De Transmisión

- Actividad sexual.
- Parenteral.
- Contacto íntimo: cárceles, manicomios y hospitales.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	33

- Inoculación accidental: agujas contaminadas, navajas o cuchillos, ingestión de material contaminado.
- Madre-hijo-perinatal: microtransfusiones madre-hijo durante el parto, contacto con secreciones infectadas en el canal del parto o bien ingeridas y a través de la lactancia materna.
- Con infección en el tercer trimestre del embarazo se afecta en el 75% de los hijos, no así cuando es en el primer trimestre.

- DETERMINE HBsAg

Técnica

Determine HBsAg es un inmunoensayo cualitativo invitro de lectura visual para la detección del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) en suero, plasma o sangre humana.

Explicación del ensayo

Los ensayos para HBsAg se utilizan en sangre para detectar la presencia de HBsAg con el fin de evitar la transmisión del virus de la hepatitis B (VHB) a los receptores de estos productos. Los ensayos se utilizan habitualmente en el diagnóstico de posibles infecciones por (VHB) y en la monitorización del estado de los individuos infectados; es decir para averiguar si se ha resuelto la infección o si la paciente ha devenido portador crónico del virus.

La muestra se añade en la superficie absorbente. Mientras la muestra traspasa el área del conjugado de coloide de selenio-anticuerpos. Esta mezcla traspasa la fase solida hasta llegar a los anticuerpos inmovilizados en la ventana de resultados del paciente.

Si el HBsAg está presente en la muestra, se une al coloide de selenio-anticuerpos y a los anticuerpos de la ventana de resultados del paciente formándose una barra roja en esta ventana.

Si el HBsAg no está presente, el coloide de selenio-anticuerpos traspasa la ventana de resultados del paciente y no aparece ninguna banda roja en esta ventana.


Para asegurar la validez de los resultados, este ensayo incluye un control del procedimiento.

Contenido

Tarjetas de ensayo determine HBsAg recubiertas de anticuerpos anti-HBs (monoclonal, de ratón).

Almacenamiento

Las tarjetas de ensayo determine HBsAg se deben almacenar a una temperatura entre 2 y 30 °C.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	34

Muestras

Suero, plasma y sangre humanos por venopunción, recogidas asépticamente de tal manera que se evite la hemólisis.

- PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Retire el plástico de protección de los ensayos
2. Añada 50 ul de muestra (suero) con una pipeta automática en la superficie absorbente (señalada con una flecha).
3. Espere 15 minutos como mínimo (no espere más de 24 horas) y lea el resultado.

Control de calidad

Para asegurar la validez de los resultados el ensayo incorpora un control del procedimiento (“control”), al final de cada prueba. Si la barra de control no se vuelve de color rojo al finalizar el ensayo, el resultado del ensayo no es válido y se debe volver a analizar la muestra..


Recuerde solicitar un suero control valorado (positivo), para hacer control de calidad interno a las pruebas y este resultado debe ser registrado en el formato SIS destinado para este fin.

Interpretación de los resultados

POSITIVO (2 barras): tanto en la ventana de control como en la ventana de resultados del paciente, aparecen barras rojas. Cualquier tipo de tonalidad roja que aparezca en la ventana de resultados del paciente implica que el resultado es positivo.

NEGATIVO (1 barra): en la ventana de control aparece una barra roja y en la ventana de resultados del paciente no aparece ninguna barra roja.

NO VALIDO (ninguna barra): si no aparece ninguna barra roja en la ventana de control del ensayo, el resultado no es válido y se debe repetir el ensayo (aunque haya aparecido una barra roja en la ventana de resultados del paciente).

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	35

9. DETERMINE HIV

El Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) es causado por un retrovirus humano llamado Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) que fue descubierto en el año de 1983. Pertenece a la familia retroviridae y contiene material genético de tipo ácido ribonucleico (RNA). Este virus destruye lentamente el sistema inmunitario del humano, principalmente los linfocitos ayudadores, los cuales poseen el receptor llamado “CD4” al cual se une el virus, destruyendo éstas células y causando un grave daño en las funciones de la inmunidad celular y el control de la inmunidad humoral.

La enfermedad por el VIH causa una deficiencia progresiva del sistema inmunitario de la persona infectada. En su estado más avanzado la enfermedad es conocida con el nombre de SIDA, en el que se presentan manifestaciones clínicas del tipo de las infecciones o neoplasias oportunistas secundarias al estado de inmunodeficiencia. En la historia natural de la enfermedad, el periodo de tiempo entre la infección por el virus y la aparición del SIDA (periodo de incubación) es de aproximadamente de 7 a 11 años, cuando se adquiere por vía sexual, sin embargo, este periodo es muy variable.

La transmisión del VIH de una persona a otra ocurre a través de varios mecanismos: transmisión sexual, transmisión vertical o perinatal, transfusión sanguínea, por el uso compartido de jeringas y accidente laboral biológico.

Determine HIV1/2 es un ensayo inmunocromatográfico para la detección cualitativa de anticuerpos frente al HIV-1 y HIV-2. La muestra se añade en la superficie absorbente y mientras la muestra traspasa el área del conjugado, lo reconstituye y se mezcla con el conjugado de coloide de selenio – antígenos. Esta mezcla emigra por la fase sólida hasta llegar a los antígenos recombinantes y péptidos sintéticos inmovilizados en la ventana de resultados del paciente.


Si los anticuerpos frente al VIH-1 y/o VIH-2 están presentes en la muestra, se une al coloide de selenio – antígenos y a los antígenos de la ventana de resultados del paciente formándose una barra roja en esta ventana. Si los anticuerpos frente al VIH-1 y/o VIH-2 no están presentes en la muestra, el coloide de selenio – antígenos traspasa la ventana de resultados del paciente y no aparece ninguna barra roja en la ventana. Para asegurar la validez de los resultados, éste ensayo incluye una barra de control del procedimiento. “Ninguna prueba de VIH puede ser procesada sin el previo consentimiento informado”.

- TÉCNICA

Determine HIV ½ es un inmunoensayo cualitativo invitro de lectura visual para la detección de anticuerpos de HIV1/2 en suero, plasma o sangre humana.

- MATERIALES Y REACTIVOS

- Ensayo Determine HIV - 1/2: tarjeta de ensayo Determine HIV – 1/2
- Puntas de pipeta

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	36

- EQUIPOS

- Timer
- Pipeta automática

Verificar que todos los equipos tengan la hoja de vida respectiva con los mantenimientos preventivos.

- MUESTRA

Suero o plasma, preferiblemente en ayunas.

- PROCEDIMIENTO

1. Retire el plástico de protección de los ensayos.
2. Rotule con código interno, nombre y apellido del paciente y fecha de procesamiento.
3. Añada 50 ul de muestra con la pipeta automática sobre la superficie absorbente (señalada con una flecha).
4. Espere un mínimo de 15 minutos y un máximo de 60 minutos para leer el resultado.
5. Observe y reporte el resultado de la prueba.

- FACTORES DE CONTROL

- Algunos medicamentos
- Vacunación reciente
- Infección viral, bacteriana o parasitosis reciente
- Preguntar al paciente: si ingiere algún tipo de medicamento y cuál o cuáles, si ha sido vacunado recientemente o si ha sufrido algún tipo de infección viral, bacteriana o parasitosis recientemente.

- REPORTE DE RESULTADOS

POSITIVO: dos barras rojas

NEGATIVO: una barra de color rojo en la ventana de control y en la ventana de resultado del paciente no aparece una barra roja


INVALIDO: no aparece barra roja en la ventana de control del ensayo. El resultado no es válido y se debe repetir el ensayo.

- VALORES DE REFERENCIA

NEGATIVO

- CONFIRMACIÓN DE RESULTADOS

Para toda prueba rápida positiva se debe tomar una segunda muestra y enviarlo al Hospital Local Civil para procesarlo por la técnica de ELISA quienes una vez procesada la muestra se informara de inmediato el resultado para seguir el protocolo y tomar acciones en caso de ser necesarias.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	37

Para toda prueba positiva (dos pruebas de Elisa reactivas) se debe realizar prueba confirmatoria, la cual es responsabilidad de La EPS a la que pertenece el paciente. Recuerde entregar los resultados al jefe administrativo para que se realice los trámites para prueba confirmatoria.

- CONTROL DE CALIDAD


INTERNO: Tener un suero control positivo valorado y montarlo dos veces al mes para verificar el funcionamiento y la calidad de la prueba.

EXTERNO: enviar al Laboratorio de Salud Pública el 100% de los sueros positivos y el 10% de los negativos para la supervisión indirecta mensual.

Participar en las pruebas de idoneidad enviadas por el Laboratorio de Salud Pública como parte del control de calidad externo del laboratorio.

- REGISTROS GENERADOS

Registro diario, orden médica, reporte de resultados en SIOS, consentimiento informado y registro de control de calidad interno.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	38

10. PRUEBA TREPONEMICA SYPHILIS TP. DETERMINE (PRUEBA RAPIDA)

Determine syphilis TP es un inmunoanalisis cualitativo in vitro de lectura visual para la detección de los anticuerpos frente al treponema pallidum, la bacteria causante de la sífilis, en suero o plasma. Este ensayo está indicado como ayuda en la detección de los anti cuerpos frente al Treponema pallidum en muestras de individuos infectados.

La muestra se Añade en la superficie absorbente .Mientras la muestra traspasa el área del conjugado, lo reconstituye y se mezcla con el conjugado de coloide de selenio de los antígenos del Treponema Pallidum. Esta mezcla traspasa la fase solida hasta llegar a los antígenos inmovilizados del Treponema pallidum en la ventana de resultados del paciente Si los anticuerpos frente al treponema pallidum están presentes en la muestra, se unen a los antígenos del Treponema Pallidum de coloide de selenio y a los antígenos del Treponema pallidum de la ventana de resultado del paciente formándose una barra roja en esta ventana. Si los anticuerpos frente al Treponema Pallidum no están presentes, el coloide de selenio con antígeno del Treponema Pallidum traspasa la ventana de resultados del paciente y no aparece ninguna línea roja en esta ventana.

Para asegurar la validez de los resultados, este ensayo incluye un control del procedimiento.

CONTENIDO : Alere determine syphilis TP x 100 test , Que son tarjetas de ensayo recubiertas de antígenos del Treponema Pallidum.. Las tarjetas se deben almacenar entre 2 – 30 grados centígrados.

MUESTRA: Suero o Plasma.

- PROCEDIMIENTO

Separe del kit solamente las pruebas a utilizar. El resto guárdelas en el empaque original debidamente sellado.

Retire el adhesivo protector de la prueba,

Con una pipeta automática calibrada dispense 50 lamdas de suero o plasma sobre la superficie absorbente. Espere 15 minutos y lea el resultado


Para asegurar la validez de la prueba el ensayo incorpora un control del procedimiento. Si la barra del control no se vuelve de color rojo al finalizar el análisis, el resultado no es válido y se debe volver a analizar la muestra.

- INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

POSITIVO: Dos barras de color rojo.

NEGATIVO: Una barra de color rojo en la ventana de control y no aparece nada en el resultado del paciente.

NO VALIDO: No aparece ninguna barra de color en la ventana del control y del ensayo.

	GUIA DE INMUNOLOGIA			
	FORMULACION	CODIGO	VERSION	PAG
	Subgerencia de Salud e Investigación	GU-INM	2.0	39

BIBLIOGRAFIA

BALCELLS G, Alfonso. La Clínica y el Laboratorio. 14 edición. Barcelona: Ed. Marín; 1996.

Diccionario de Medicina Océano Mosby. 4 ediciones. Barcelona: Océano; 2002

KONEMAN, Elmer W. Diagnóstico microbiológico. 3 edición. Buenos Aires: Ed. Panamericana; 1992.

MONCADA, Ligia y CORREDOR, Augusto. Principales Helminthos en Colombia. Primera edición. Ed. ITALMEX; 1993.

MURRAY, Patrick R. et al. Microbiología Médica. 4 edición. España: Times Mirror de España. S.A.; 1998