

# Guía para la utilización de pruebas rápidas de sífilis

Presidente de la Nación  
**Ing. Mauricio Macri**

Ministra de Salud y Desarrollo Social  
**Dra. Carolina Stanley**

Secretario de Gobierno de Salud  
**Prof. Dr. Adolfo Rubinstein**

Secretario de Promoción de la Salud, Prevención y Control de Riesgos  
**Dr. Mario Kaler**

Subsecretaria de Prevención y Control de Enfermedades  
Comunicables e Inmunoprevenibles  
**Dra. Miriam Inés Burgos**

Directora de Sida, ETS, Hepatitis y TBC  
**Prof. Dra. Claudia Gabriela Rodríguez**

Autores  
**Bernardo Larramendy, Patricia Galarza, Mónica Díaz, Mercedes Nadal,  
Silvina Vulcano, Miriam Bruno y Julia Recchi**

Edición, corrección y diseño  
**Área de Comunicación de la Dirección de Sida, ETS, Hepatitis y TBC**

# Guía para la utilización de pruebas rápidas de sífilis

**Dirección de Sida, ETS, Hepatitis y TBC, Secretaría de Gobierno de Salud,  
Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Argentina, 2019.**

Está permitida la reproducción total o parcial de este material y la información contenida, citando la fuente.

# Índice

1. Introducción.....	5
2. <i>Treponema pallidum</i> .....	6
3. Pruebas diagnósticas .....	6
3.1. Diagnóstico de sífilis.....	6
4. Pruebas rápidas para sífilis en el punto de atención (PRS) .....	7
4.1. Procedimiento PRS .....	8
4.2. Flujogramas para el diagnóstico de sífilis con pruebas rápidas.....	11
4.3. Evaluación de la implementación y el uso de las PRS.....	13
4.4. Procesamiento del control de calidad.....	14
4.5. Procedimiento para la elaboración del control de calidad.....	16
4.6. Bioseguridad.....	17
5. Anexos .....	18
Anexo I. Registro de resultados y Registro de stock.....	20
Anexo II. Guía rápida de procesamiento del control de calidad.....	24
Anexo III. Planillas a utilizar en el Control de calidad.....	27
6. Bibliografía.....	34

## 1. Introducción

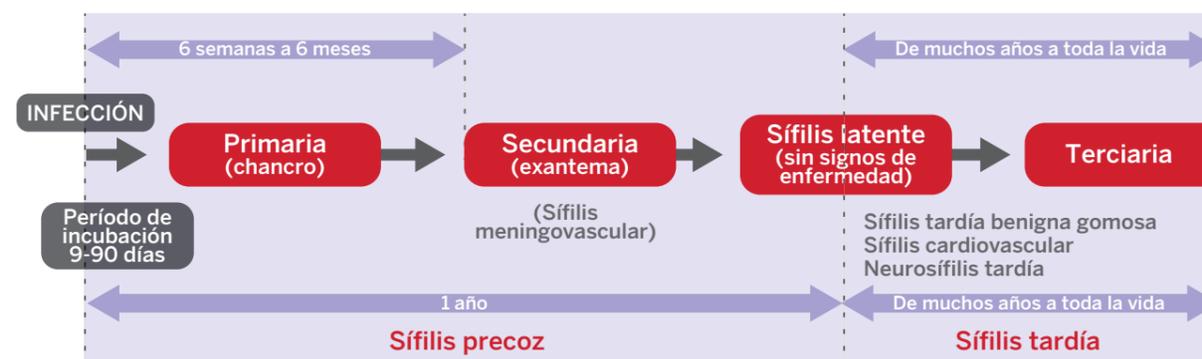
La sífilis es una infección curable de carácter sistémico causada por una bacteria llamada *Treponema pallidum*. Se transmite por vía sexual y también durante el embarazo, de la persona gestante al feto, a través de la placenta (sífilis congénita) y en menor medida en el canal de parto. Dado que la sífilis causa úlceras genitales, aumenta la probabilidad de infección y transmisión del VIH.

Durante su evolución atraviesa varias etapas denominadas sífilis primaria, secundaria y terciaria, con diferentes características clínicas, inmunológicas e histopatológicas, alternando entre periodos sintomáticos y no sintomáticos (latencia), pudiendo durar muchos años o toda la vida. Cuando no es tratada, cerca del 35% de las personas progresarán a la cura espontánea; cerca del 35% permanecerán en estado de latencia y el resto progresarán a sífilis terciaria.

Sin tratamiento, puede tener consecuencias graves en el curso de un embarazo como partos prematuros, abortos y muerte neonatal. Los daños durante el embarazo son prevenibles si se detecta y trata a tiempo. Es de fundamental importancia el tratamiento de la/s pareja/s sexuales para evitar reinfecciones.

La detección y el tratamiento tempranos también son fundamentales para prevenir las complicaciones graves a largo plazo (neurosífilis, sífilis cardiovascular, sífilis gomosa) y la transmisión a las parejas sexuales.

No existe vacuna y la infección por el *T. pallidum* no confiere inmunidad protectora, pudiendo las personas re-infectarse tantas veces como sean expuestas a la bacteria.



Fuente: Diagnóstico de laboratorio de las infecciones de transmisión sexual, incluida la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana / editado por Magnus Unemo et al-OPS-OMS, 2014

## 2. *Treponema pallidum*

El *Treponema pallidum* se caracteriza por ser un microorganismo de forma espiralada, fino, que gira en torno de su eje mayor y con movimientos característicos hacia adelante y hacia atrás, los cuales facilitan su penetración en los tejidos de la persona infectada.

Posee baja resistencia al medio ambiente, resecaándose rápidamente. El *T. pallidum* puede sobrevivir hasta 10 horas en superficies húmedas, sin embargo es muy sensible a la acción del jabón y de otros desinfectantes.

## 3. Pruebas diagnósticas

Las pruebas diagnósticas para las infecciones de transmisión sexual (ITS) se agrupan en tres tipos. El primer grupo lo integran las técnicas que buscan identificar componentes del microorganismo o al microorganismo completo. Esta identificación puede realizarse mediante la detección directa microscopía en fresco o mediante una tinción, a través del cultivo, la detección de antígenos o del material genético (ADN, ARN). El segundo grupo se centra en la detección de la respuesta del huésped a la infección (detección de anticuerpos). El tercer tipo está integrado por las pruebas que detectan metabolitos microbianos, como las sustancias que alteran el pH de las secreciones genitales y las aminas biógenas.

### 3.1. Diagnóstico de sífilis

Entre las técnicas de examen directo para la detección de *T. pallidum*, la más difundida es la microscopía de campo oscuro. Permite investigar la presencia de la bacteria en muestras recogidas de las lesiones sifilíticas primarias y secundarias (tanto para sífilis adquirida o para sífilis congénita). Esta técnica es diagnóstico confirmatorio de sífilis independientemente del resultado de la serología. Solo se utiliza en lesiones húmedas y debe observarse inmediatamente.

Como muchas personas con sífilis no tienen síntomas ni signos, el diagnóstico depende muchas veces de la detección de anticuerpos, dado que el *T. pallidum* no crece en medios de cultivo y los métodos de detección directa para la identificación del microorganismo no siempre están disponibles.

Las pruebas serológicas se agrupan en dos tipos, las no treponémicas (inespecíficas) como la VDRL (Venereal Disease Reference Laboratory), USR (VDRL modificada en suero no calentado) y la RPR (prueba rápida de reagina plasmática); y las treponémicas (específicas), entre ellas la hemaglutinación (TPHA), la aglutinación de partículas (TPPA), la reacción de absorción de anticuerpos fluorescentes (FTA-ABS), los inmunoensayos enzimáticos (EIA), quimioluminiscentes (CMIA) y las pruebas rápidas.

Las pruebas treponémicas (PT) son las primeras en presentar resultados positivos después de la infección. Generalmente permanecen reactivas durante toda la vida, independientemente del tratamiento, no siendo útiles para el monitoreo de la terapia. Por eso el control del tratamiento se realiza con pruebas no treponémicas (PNT), ya que estas presentan variaciones en los títulos.

Cerca del 1% de la población presenta falsos positivos para las pruebas treponémicas. Las PNT frente a una infección por sífilis resultan positivas más tarde que las PT, por ello en la sífilis primaria reciente tienen menor sensibilidad (tabla 1), pudiendo dar negativas a pesar de la infección. Estas pruebas pueden presentar aproximadamente entre 1 - 3% de falsos positivos (tabla 2).

En consecuencia el diagnóstico serológico de sífilis se realiza combinando pruebas treponémicas y no treponémicas en un algoritmo.

### 3.2 Algoritmos diagnósticos

El desarrollo de pruebas treponémicas automatizadas (EIA, CMIA) resultó en nuevas propuestas de algoritmos diagnósticos, los llamados algoritmos reversos. A diferencia del algoritmo convencional, que comienza con PNT (VDRL, USR), los algoritmos reversos comienzan con la realización de PT. Las PRS utilizadas en el control prenatal se incorporan en este tipo de algoritmos.

**Tabla 1: Sensibilidad y especificidad de las pruebas no treponémicas y treponémicas según estadio clínico de sífilis**

PRUEBA	SENSIBILIDAD (%) DE ACUERDO CON EL ESTADIO DE SÍFILIS				ESPECIFICIDAD (%)
	Primaria	Secundaria	Latente	Terciaria	
VDRL	78 (78-87)*	100	95 (88-100)	71 (37-97)	98 (96-99)
RPR	86 (77-100)	100	98 (95-100)	73	98 (93-99)
USR	80 (72-88)	100	95 (88-100)	Sin datos	99
FTA-Abs	84 (70-100)	100	100	96	97 (94-100)
TP-HA	76 (69-90)	100	97 (97-100)	94	99 (98-100)
TP-PA	88 ** 100***	100	100	Sin datos	95-100

Fuente: modificado de LARSEN; STEINER; RUDOLPH, 1995; A Manual of Test for Syphilis. 1998 LARSEN; POPE, JOHNSON; KENNEDY JR  
\*Rango de sensibilidad y especificidad de estudios del Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) \*\* Estudios clínicos \*\*\*CDC

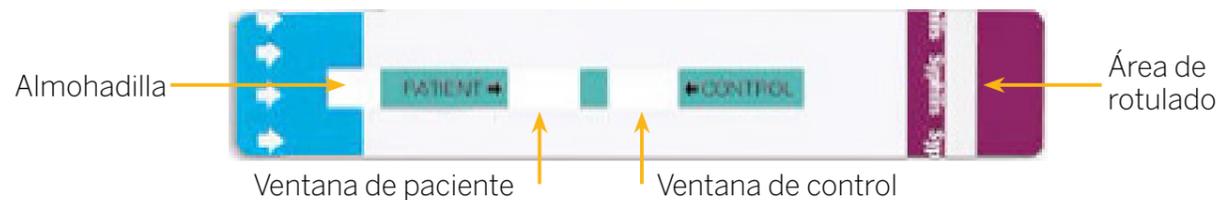
**Tabla 2: Situaciones que pueden generar resultados falsos positivos en las pruebas no treponémicas**

Situaciones que pueden generar resultados falsos positivos transitorios	Situaciones que pueden generar resultados falsos positivos permanentes
Algunas infecciones	Lupus eritematoso sistémico
Después de una vacunación	Síndrome anti-fosfolípido y otras enfermedades colágenas
Uso concomitante de medicamentos	Hepatitis virales crónicas
Después de transfusiones de hemoderivados	Usuarios de drogas inyectables
Embarazo	Lepra
Adultos mayores	Malaria
	Adultos mayores

## 4. Pruebas rápidas (PRS)

Son pruebas treponémicas, en las cuales la ejecución, la lectura y la interpretación del resultado ocurren entre 15 y 30 minutos aproximadamente, sin la necesidad de contar con un laboratorio. Pueden ser realizadas con muestras de sangre total obtenidas por punción digital o punción venosa, suero y plasma. Existen distintos diseños, las llamadas de flujo lateral utilizan antígenos de *T. pallidum* y un conjugado compuesto por antígenos recombinantes que son ligados a un agente revelador (color). En este tipo de dispositivos existe una ventana denominada Patient (P, paciente), que corresponde al área donde están fijados los antígenos y otra ventana denominada Control (C). Cuando se encuentran presentes los anticuerpos anti-*T. pallidum* en la muestra, se ligan al conjugado y migran hasta la ventana P donde se unirán a los antígenos fijados, formando una banda coloreada. Todas las pruebas poseen una ventana de control interno (C), en la cual también se formará una banda coloreada. La presencia de la banda control valida la ejecución de la prueba, no debiéndose informar un resultado ante su ausencia aunque hubiese una banda coloreada en la ventana P.

## Áreas que componen una prueba rápida



### 4.1. Procedimiento PRS

A continuación se describe el procedimiento para la realización de la prueba rápida. Existe un procedimiento específico para cada prueba, por lo que habría que seguir estrictamente las indicaciones del fabricante. **La Dirección de Sida, ETS, Hepatitis y TBC no recomienda una marca en particular, siempre que se cumplan con las recomendaciones descritas en el apartado.**

### 4.2 Evaluación de la implementación y el uso de las PRS.

**Nota:** Revise el reactivo antes de usarlo. No utilice material vencido o dañado. Lleve los reactivos a temperatura ambiente antes de utilizarlos si fueron almacenados en heladera. Utilice medidas de precaución universales cuando manipule muestras biológicas. Mantenga las áreas de trabajo limpias y organizadas.

**Almacenamiento:** Conservar las tiras, el tampón de arrastre y los capilares entre 2°C y 30°C. De poseer, se recomienda almacenarlos en heladera para llevar un mejor control de la temperatura.

#### 1. Reunir los siguientes elementos en su mesa de trabajo antes de iniciar el procedimiento:

- guantes descartables
- alcohol
- algodón
- gasa estéril
- dispositivos para descartar el material cortopunzante
- bolsa roja para guantes y algodón
- tampón de arrastre (Chase buffer, Alere)
- material para punción digital (lancetas)
- tiras de ensayo
- capilares con EDTA
- cronómetro
- marcador indeleble
- planilla de resultados

#### 2. Colóquese los guantes.

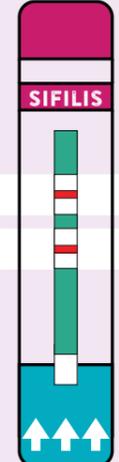
3. Abra el sobre conteniendo las tiras, separe la tira rápida a ser utilizada. Guarde el resto. Cierre el sobre para evitar ingreso de humedad.

4. Complete la planilla de trabajo identificada como “Planilla de resultados de prueba rápida” con los datos de la persona, fecha de realización y la identificación asignada.

5. Rotule la tira con marcador indeleble con la identificación correspondiente.
6. Retire el plástico protector de la tira levantando la pestaña. La tira sin el protector es válida por 2 horas.
7. Coloque el tubo capilar con EDTA en una superficie limpia y seca.
8. Seleccione el dedo para punzar. Se recomienda punzar el anular, medio o índice (elija el dedo menos encallecido). Si es necesario, puede dar un ligero masaje al área para irrigar la zona.
9. Coloque la mano de la persona a testear con la palma hacia arriba.
10. Limpie el sitio con alcohol etílico al 70% y deje secar (no soplar).
11. Prepare la lanceta (si la lanceta a utilizar es automática con aguja retráctil, actívela y elimine la tapa dejando la lanceta lista para ser utilizada). Utilice una lanceta nueva por cada persona.
12. Con una mano sostenga el dedo o área a puncionar y con la otra sostenga la lanceta. Realice la punción en la zona media de la yema del dedo (pulpejo) y presione la piel con firmeza.
13. Descarte la lanceta en el descartador de cortopunzantes.
14. Mantenga el dedo hacia arriba y presione suavemente a intervalos desde la base del dedo.
15. Descartar la primera gota de sangre, que contiene líquido tisular, limpiando la yema del dedo con gasa.
16. Toque la gota de sangre con la punta del capilar, colocándolo de manera horizontal (no vertical) para que por capilaridad se llene hasta la primera marca (50 µl). Evite la formación de burbujas de aire, que puedan modificar el volumen de sangre recolectado.  
*Nota: una vez recolectada la sangre, puede obturar con el dedo índice el extremo opuesto del capilar a fin de evitar derrames por inclinación del mismo.*
17. Coloque el algodón sobre el sitio de punción, haciendo presión para detener el sangrado.
18. Inmediatamente, apoye el capilar cargado en la almohadilla para la siembra de la muestra y espere que absorba toda la sangre. Recuerde levantar el dedo índice de extremo obturado. Descarte el capilar en el descartador de cortopunzantes.
19. Agregue una gota de tampón de arrastre en la almohadilla donde se depositó la sangre, cuidando de no tocar la almohadilla de la tira con la punta del gotero. Cronometrar a partir de este momento.

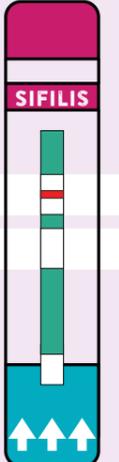
20. Realice la lectura del resultado a partir de los 15 minutos (hasta un máximo de 24 hs, no realizar la lectura antes de los 15 minutos) de acuerdo a la siguiente interpretación:

**POSITIVO**



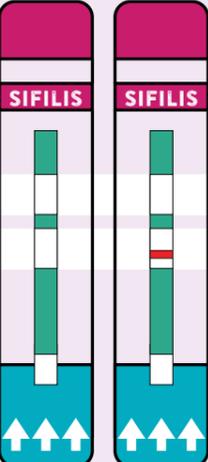
**RESULTADO POSITIVO**  
Dos bandas rojas de cualquier intensidad en las ventanas de control y paciente.

**NEGATIVO**



**RESULTADO NEGATIVO**  
Una banda roja en la ventana de control y ausencia de banda en la ventana de paciente.

**INVÁLIDO**

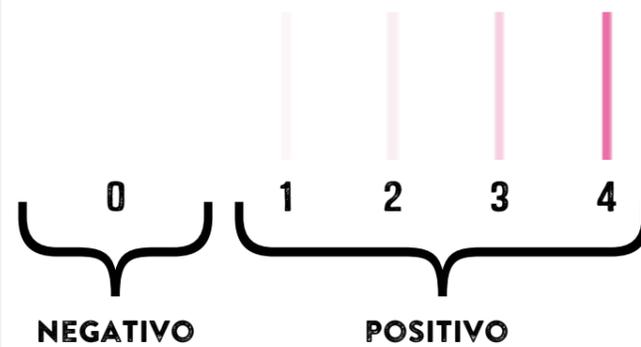


**RESULTADO INVALIDO**  
Ausencia de banda en la ventana de control. Repetir el ensayo con una nueva tira, incluso si aparece una banda en la ventana del paciente.

**GUÍA DE LA INTENSIDAD DE LAS BARRAS PARA DETERMINAR EL RESULTADO:**

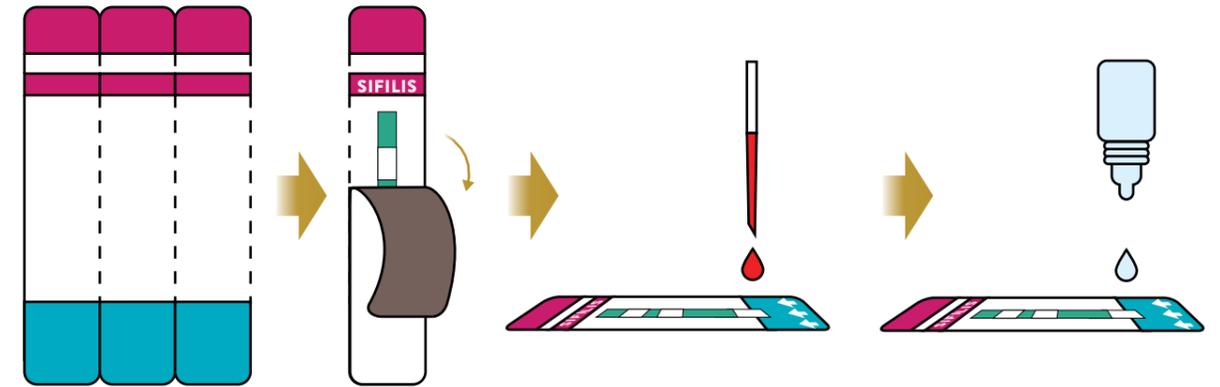
Cualquier tipo de tonalidad roja que pueda aparecer en la ventana de resultados indica que el resultado es positivo. El resultado es positivo aunque la barra de la ventana de resultados sea más clara o más oscura que la barra de la ventana de control.

**ESCALA DE INTENSIDAD DE LÍNEA DE PRS**



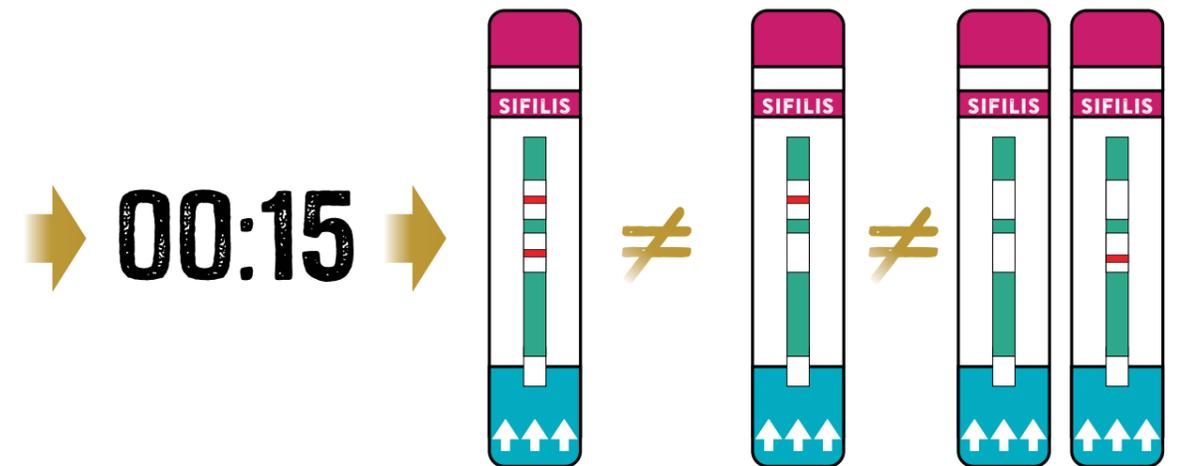
- 21. Registre los resultados en la “Planilla de resultados de prueba rápida”
- 22. Descarte la tira, algodón y gasa como residuos patogénicos, en una bolsa roja.

**Esquema de trabajo**



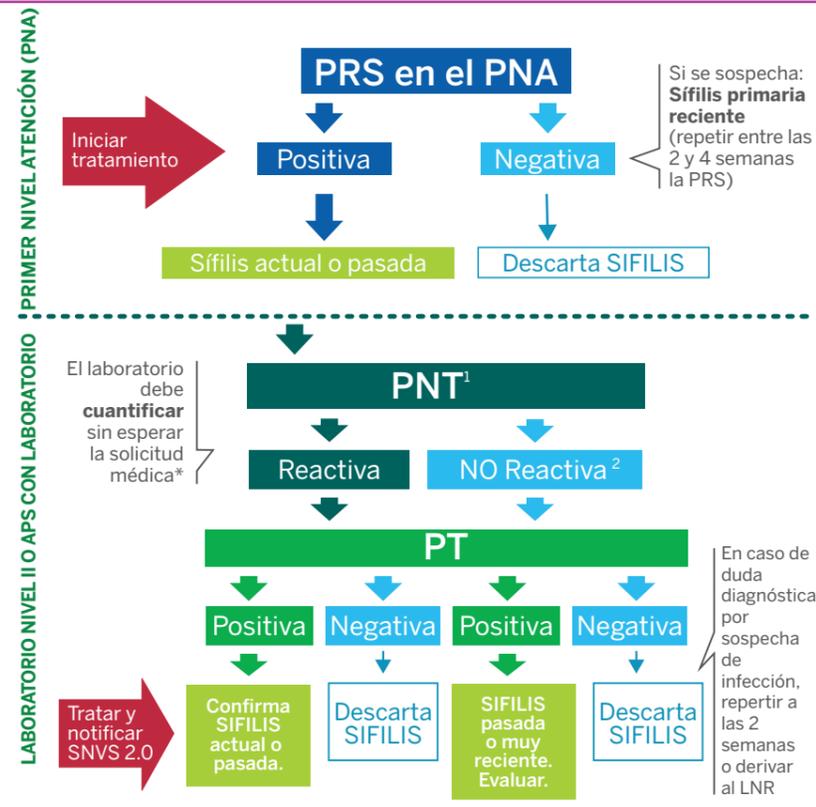
- 1 Cortar una tira por la línea punteada. Retirar el plástico cobertor. Colocar la tira en un lugar plano.
- 2 Añadir la sangre del capilar apoyando sobre la superficie y esperar hasta que se impregne.
- 3 Inmediatamente agregar 1 gota de buffer.

**POSITIVO NEGATIVO INVÁLIDO**



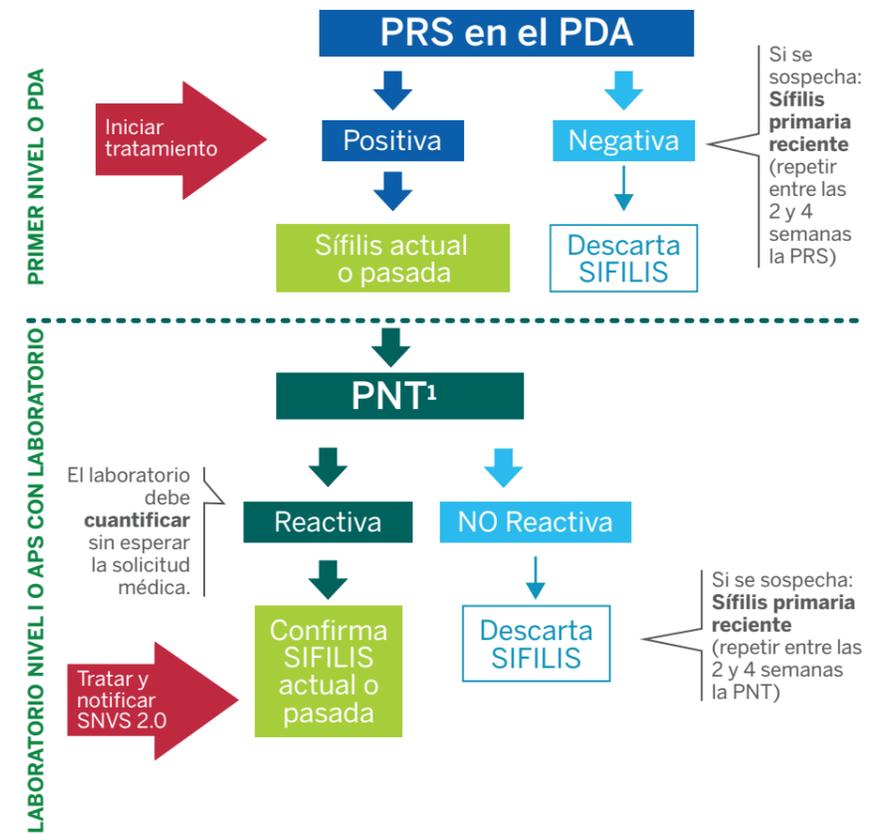
- 4 Esperar al menos 15 minutos para leer el resultado.
- 5 Interpretación de los resultados.

#### 4.2.1 Pruebas Rápidas en el punto de atención asociado a algoritmo tradicional.



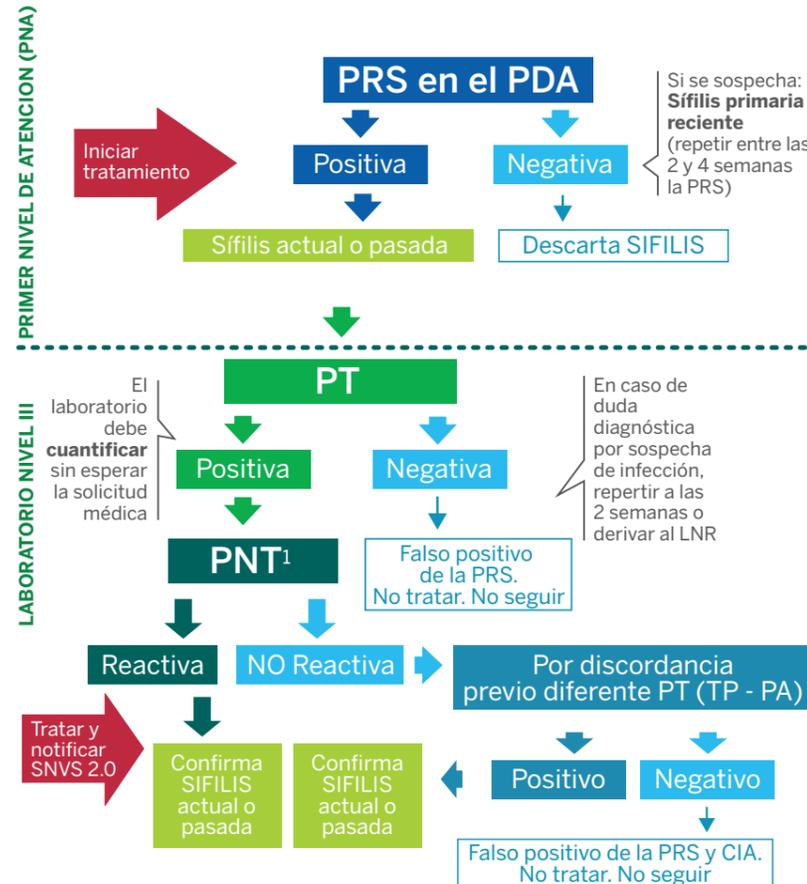
- 1 Para definir infección activa y seguimiento del tratamiento.
- 2 Es necesario que el laboratorio conozca el resultado de la PRS a los efectos de la prosecución de la PT, pues de otro modo el algoritmo tradicional terminará en ese punto. Se sugiere la inscripción ("PRS + 6 PRS -) en la solicitud médica.

#### 4.2.3 Pruebas Rápidas en el punto de atención, para nivel de Atención Primaria de la Salud con posibilidad de realizar Prueba No Treponémica únicamente.



- 1 Para definir infección activa y seguimiento del tratamiento.

#### 4.2.2 Pruebas Rápidas en el punto de atención asociado a algoritmo reverso.



- 1 Para definir infección activa y seguimiento del tratamiento.

#### 4.2.4 Prueba Rápida en el punto de atención, para nivel de APS sin posibilidad de realizar Prueba No Treponémica



#### Consideraciones

La muestra no reactiva en la prueba rápida inicial se define como: "muestra no reactiva para sífilis". Si persiste la sospecha clínica de sífilis se deberá repetir el algoritmo entre las 2 y las 4 semanas después, para la exclusión del diagnóstico (esto dependerá del periodo de incubación de la enfermedad, ya que la respuesta humoral puede ser entre 17 y 118 días desde el inicio de la infección).

La muestra con resultados reactivos en las dos pruebas (PRS y prueba no treponémica), se define como: "**muestra reactiva para sífilis**". En ese caso se deberán cuantificar los anticuerpos no treponémicos (Algoritmo 4.2.3).

En las muestras con resultados discordantes se deberá realizar una prueba treponémica diferente a la PRS (FTA-abs, TP-PA, TP-HA), para descartar un falso positivo en la PRS (Algoritmo 4.2.1).

Muestras con resultados reactivos en dos pruebas treponémicas de distinta metodología y no reactivas en pruebas no treponémicas se definen como: "**muestra reactiva para sífilis**" (Algoritmos 4.2.1 y 4.2.2).

**Es importante evaluar la ocurrencia de las siguientes situaciones:**

1. La PRS no fue capaz de detectar los anticuerpos de la muestra por tratarse de una infección muy reciente.
2. El resultado reactivo de una prueba treponémica se trata de una cicatriz serológica posterior al tratamiento.
3. Puede haber ocurrido un resultado falso negativo en la prueba no treponémica. Se debe verificar, por lo tanto:
  - Si la persona se infectó recientemente.
  - Si la persona se encuentra en estadio de latencia tardía.
4. Si la persona tiene historia de sífilis y tratamiento, en ese caso la muestra de esa persona puede presentar resultados discordantes entre pruebas treponémicas y no treponémicas, sin que haya indicación de tratamiento necesariamente, porque podría tratarse de una cicatriz serológica.
  - El laboratorio debe descartar el fenómeno de prozona que puede darse en el secundarismo.

**Cuadro de interpretación del algoritmo reverso.**

Epidemiología Historia de Sífilis	PRS	USR/VDRL	TP-PA	Interpretación
Desconocida	NR	N/A	N/A	No hay evidencia serológica de sífilis.
Desconocida/Conocida	R	N/A	N/A	Se asume sífilis.
Desconocida	R	R	N/A	sífilis actual o pasada.
Desconocida	R	NR	NR	Probable falso positivo de la PRS. Si continua la sospecha realizar otra PT o derivar al LRP o LRN.
Desconocida	R	NR	R	Probable sífilis (temprana o latente) o sífilis tratada.
Conocida	R	NR	R o N/A	Sífilis pasada o tratada exitosamente.

**Consideraciones finales**

Las **personas con diagnóstico de sífilis** deben ser tratadas inmediatamente. Realizar tratamiento según guías vigentes, consultar: [bit.ly/GuiaSifilis](http://bit.ly/GuiaSifilis).

Para **tratamiento de sífilis en personas gestantes en consideración de riesgos de alergias severas a penicilina**, consultar: [bit.ly/PenicilinaB](http://bit.ly/PenicilinaB).

**4.3 Evaluación de la implementación y el uso de las PRS**

A la hora de comenzar a utilizar PRS vamos a necesitar de un programa de evaluación sistemática, que nos asegure trabajar con los estándares de calidad esperados. La calidad con que se realiza el testeo va a depender de la calidad de las pruebas, la habilidad de los operarios para ejecutarlas y el uso de registros de eventos estandarizados que permitan detectar errores y realizar las acciones correctivas pertinentes. La evaluación consta de distintas instancias y la realizara el laboratorio de referencia correspondiente.

**Elección de las PRS**

Deberán utilizarse pruebas aprobadas por ANMAT. Además, las pruebas deberán contar con una verificación previa realizada por un laboratorio de referencia, para la población destinataria y contemplando el tipo de muestra a utilizar.

**Capacitación de operadores**

El laboratorio de referencia capacitará y evaluará a las personas que ejecutan las pruebas, y los supervisará sistemáticamente en el procesamiento y la interpretación.

Los centros de testeo deberán contar con procedimientos operativos estandarizados de trabajo (POEs) claros y concisos, con las instrucciones para el procesamiento y la interpretación, e incluir normas de bioseguridad.

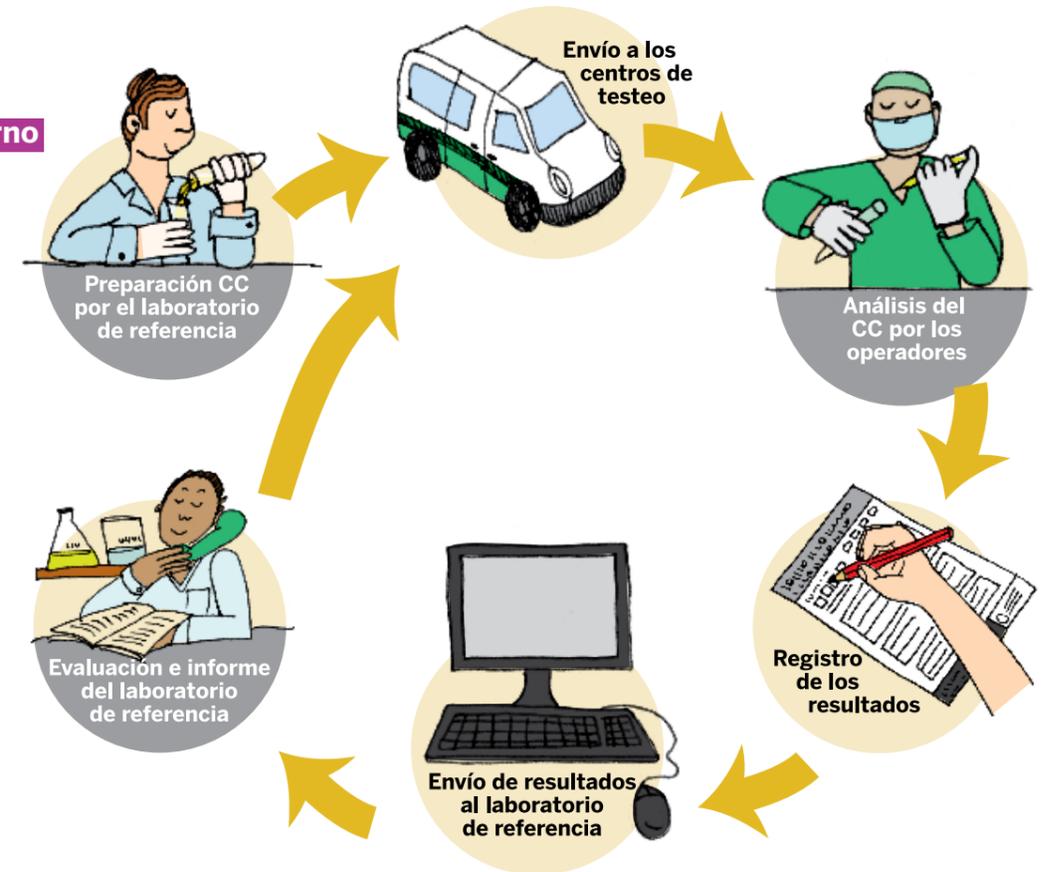
La capacitación y supervisión adecuadas de los usuarios de las pruebas rápidas deben integrarse, en la medida de lo posible, a la capacitación de los trabajadores de salud y a los esquemas de garantía de la calidad existentes.

**Control de calidad externo (CC)**

Se enviará periódicamente a los centros un panel de muestras secas en tubo (MST) con resultados incógnitos, que serán ensayados por el personal que ejecuta las pruebas. Los resultados del control de calidad serán enviados al laboratorio de referencia local para la evaluación del desempeño de los operarios y del centro. En el caso de observarse discrepancias entre los resultados enviados y los resultados de los controles de calidad, el laboratorio de referencia local deberá implementar las acciones correctivas necesarias.

La frecuencia con que se realizaran los controles de calidad va a depender de la cantidad de operadores, de las pruebas realizadas y de los días de atención. Se recomienda que al menos un operador por mes realice controles de calidad y que entre ellos se incluyan resultados reactivos.

**Circuito del control de calidad externo**



## Registros estandarizados

El centro deberá contar con un registro de los resultados de las pruebas, de los insumos, de los operadores capacitados y de los resultados de los controles de calidad realizados.

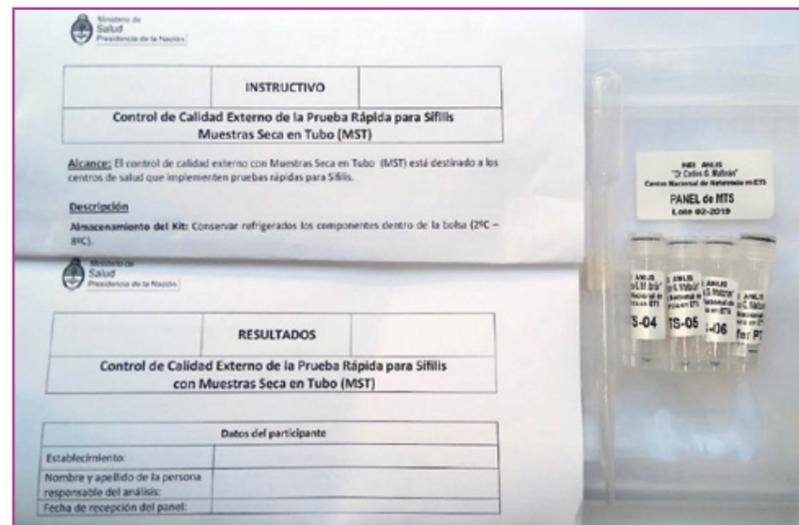
Los registros son importantes para poder realizar controles de stock de insumos y asegurar la sostenibilidad del testeo, para identificar errores, permitir su trazabilidad y definir las acciones correctivas pertinentes.

### 4.4. Control de calidad externo

Los controles externos serán enviados por el laboratorio de referencia local a cada centro, como muestras secas en tubo (MST). Estos controles serán reconstituidos y ensayados, y los resultados serán enviados al laboratorio de referencia local.

#### A. Materiales que componen el kit del control de calidad externo en MST:

1. **Panel de MST:** 3 tubos conteniendo suero deshidratado coloreado para reconstituir;
2. **buffer PBS con Tween (PT):** 1 tubo (1ml);
3. **pipeta descartable;**
4. **instructivo y**
5. **planilla para recolección de resultados.**



Cada panel de control debería tener una denominación única (Ej: Panel MST N°1; Panel 1/año, etc.) y cada muestra control debidamente identificada y consecutivas a través del tiempo.

Si el centro atiende una vez por semana, se recomienda realizar controles una vez por mes.

Todos los operadores del centro deberán tener asignado un número con el que se identificarán en la planilla de envío de resultados.

Cada mes un operador diferente procesará un panel de tres muestras (reconstitución y procedimiento).

#### B. Procedimiento para la realización del control de calidad externo en MST:

1. **Colocar los tubos en una gradilla o en una superficie plana evitando que se caigan.** Verificar la existencia de un precipitado verde en el fondo de cada tubo.
2. **Destapar y agregar el número exacto de gotas de buffer PT indicado en el instructivo (aproximadamente 200 µl), con la pipeta descartable provista** (Ej. para una pipeta de 3ml: 5 gotas y para una de 1 ml: 7 gotas). Tapar el tubo.
3. **Tomar el tubo y golpearlo con el dedo varias veces hasta que se torne una solución verde.** Dejarlo en reposo en posición vertical a temperatura ambiente desde un mínimo de 3 horas o hasta el día siguiente pero sin superar las 24 hs.
4. **Rotular las tiras de la PRS** con un marcador indeleble con la identificación de los controles a ensayar.
5. Antes de realizar la PRS y una vez pasado el tiempo de hidratación, **mezclar los tubos nuevamente hasta que se forme una solución verde.**

6. **Tomar el volumen de muestra indicada por el instructivo del kit, utilizando el capilar de la PRS en uso.**

Los capilares indican una línea marcadora de volumen.

7. **Pasar el contenido del capilar a la almohadilla de la PRS rotulada, pero NO agregar buffer de arrastre.**

8. **Esperar 15 minutos y proceder a la lectura.** Al igual que las muestras que habitualmente se procesan, los resultados se expresarán como POSITIVO, NEGATIVO o INVÁLIDO.

9. **Registrar los resultados en la planilla de resultados habitual y en la planilla del control de calidad suministrada.** El operador encargado de realizar el CC ese mes completará los resultados en la planilla de informe provista en el kit.

10. **Enviar los resultados al laboratorio de referencia indicado en el instructivo de control de calidad.**

### 4.5 Procedimiento operativo estándar (POE) para la elaboración de controles de calidad

#### Propósito:

Describir los pasos a seguir para realizar la elaboración de muestra seca en tubo (MST) para control de calidad.

#### Objetivo:

El objetivo de este procedimiento es la elaboración de un panel de control de calidad externo compuesto de 3 sueros secos en tubo (MST) destinados a los centros de salud que implementen las pruebas rápidas de sífilis. El laboratorio de referencia local elaborará periódicamente un panel que será enviado y ensayado por el personal que realice las pruebas rápidas. Los resultados del control de calidad serán remitidos al laboratorio de referencia local para la evaluación del desempeño de los operarios y del centro de salud.

#### Condiciones de seguridad:

- Guantes de látex descartables, anteojos de seguridad y ropa protectora;
- contenedores para descartar material infeccioso y desinfectantes (solución de hipoclorito de sodio al 10%; alcohol 70%)

#### Materiales:

- Tips con capacidad para 10 µL;
- pipetas de 1ml;
- microtubos con tapa a rosca, fondo en v de 2ml;
- gradillas para microtubos;
- marcador indeleble;
- etiquetas para los tubos (opcional) y
- matraz 1000ml.

#### Equipos:

- Balanza analítica;
- heladera;
- micropipetas;
- pHmetro;
- vortex (opcional);
- cabina de seguridad biológica (opcional).

#### Drogas y reactivos:

- Colorante verde líquido para alimentos (Ej. tartracina).

#### Composición del Buffer PT:

- Buffer Fosfato salino (PBS 0,01M) con el agregado de 0,05% de Tween 20. PH: 7,4 a 25°C.

### Composición:

NaCl	8,00 g
KCl	0,20 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,44 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,24 g
Tween 20	500 µl
Agua destilada	1000 ml
HCl 0,1N ó NaOH 0,1 N	Para ajustar el pH

**NOTA:** Se puede adquirir en el comercio buffer PBS Tween 0,05% para reconstituir en un litro de agua destilada (Ej. Sigma 0,05% tween 20 pH7,4. Catálogo P3563).

### Muestras:

El laboratorio de referencia local encargado de la realización del control de calidad externo, deberá elegir mensualmente sueros de pacientes serológicamente negativos para pruebas treponémicas y pacientes infectados con pruebas treponémicas positivas con títulos superiores a 64 dil. Las muestras que se eligen para la preparación del control de calidad deberán tener resultados precisos y registrados y no debe utilizarse un pool de sueros. Los sueros elegidos deberán conservarse a 4-8°C si se procesan en el lapso de una semana, o se almacenarán a -20°C hasta el momento de realizar el procedimiento.

No es aconsejable el empleo de muestras conflictivas o discordantes por varias técnicas. Considerar siempre la inclusión de muestras positivas en los paneles. Cada panel de tres muestras debe tener una denominación única y consecutiva que identifica cada panel de MST (Ej Panel 01/2019; Panel 02/2019; etc) y el nombre del laboratorio elaborador del panel. Se sugiere rotular las muestras con números consecutivos a través del tiempo, para evitar errores (Ej: MST 001, MST 002, etc)

### Procedimiento:

1. Alicuotar 1 ml de cada uno de los tres sueros elegidos en un microtubo rotulado: MST-001, MST-002 y MST-003.
2. Agregar a cada tubo 10 µl de colorante verde para alimento. Mezclar varias veces con micropipeta aspirando y expulsando para homogeneizar. Se puede también mezclar con un vórtex.
3. Dispensar con micropipeta 20 µl de la muestra coloreada en el fondo de un microtubo correctamente rotulados con el número de muestra MST-001. Luego realizar lo mismo con los tubos rotulados con MST-002 y MST-003.
4. En un lugar donde no haya corrientes de aire, dejar secar la gota de suero manteniendo los tubos destapados durante toda la noche a temperatura ambiente. También pueden dejarse todo un fin de semana secándose. Si existe la posibilidad, dejarlos secar en una cabina de seguridad biológica durante toda una noche.
5. Tapar los tubos y almacenarlos entre 2°C-8°C. La estabilidad de los MST es de 60 días.  
Antes de remitirlos a los centros de testeo es necesario ensayar el panel con la prueba rápida para sífilis, para asegurarnos que el resultado se corresponda con el resultado previo (pruebas treponémicas), para lo cual, reconstituir un tubo de cada MST con 200 µl de Buffer PT (Ej. para una pipeta pasteur de 3ml, agregar 5 gotas y para una pipeta de 1 ml, agregar 7 gotas). Luego de 3 horas de hidratación o máximo de 24 hs., realizar el ensayo para verificar los resultados.
6. Registrar la cantidad de tubos elaborados y los resultados obtenidos.

### Preparación de buffer PBS-TWEEN (buffer PT):

1. Disolver el NaCl junto con el KCl, el Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> y el KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> en 800 ml de agua destilada. Agregar los 500ml de Tween 20. Mezclar y ajustar el pH a 7,4 con NaOH ó HCL. Llevar a volumen final en matraz de 1000 ml con agua destilada. Esterilizar por autoclave 20 minutos a 121°C.
2. Fraccionar en condiciones de esterilidad en alícuotas de 1ml en tubos estériles, conservarlos en la heladera entre 2°C-8°C. El buffer PT que no se fracciona puede guardarse, conservarlos en la heladera entre 2°C-8°C por el plazo de un año.  
Etiquetar los tubos con la identificación Buffer PT y la fecha de expiración con plazo de un año desde la elaboración.

### Armado del panel de MST destinado a los centros de testeo:

1. Cada kit contendrá: 3 MST, 1 tubo de buffer, pipeta Pasteur descartable, instructivo y hoja de registro.
2. Colocar estos elementos en una pequeña bolsa, la cual se debe identificar con una etiqueta que indique el N° de panel, y el nombre del laboratorio que elaboró las MST. Cada vez que se envíe un nuevo panel se identifica de manera correlativa.

### Etiqueta:



### 4.6 Bioseguridad

El centro de testeo deberá contar con descartadores para elementos cortopunzantes y recipientes con bolsas rojas para eliminar los residuos patogénicos siguiendo las recomendaciones locales.

- Durante todo el procedimiento seguir las precauciones universales de manejo de material biológico.
- Utilice guantes descartables desde el comienzo del procedimiento de toma de muestra y descártelos en bolsa roja una vez terminada la prueba.
- No coma, beba, fume, utilice cosméticos o manipule lentes de contacto en los lugares donde se realiza el procedimiento de extracción de sangre y ensayo.

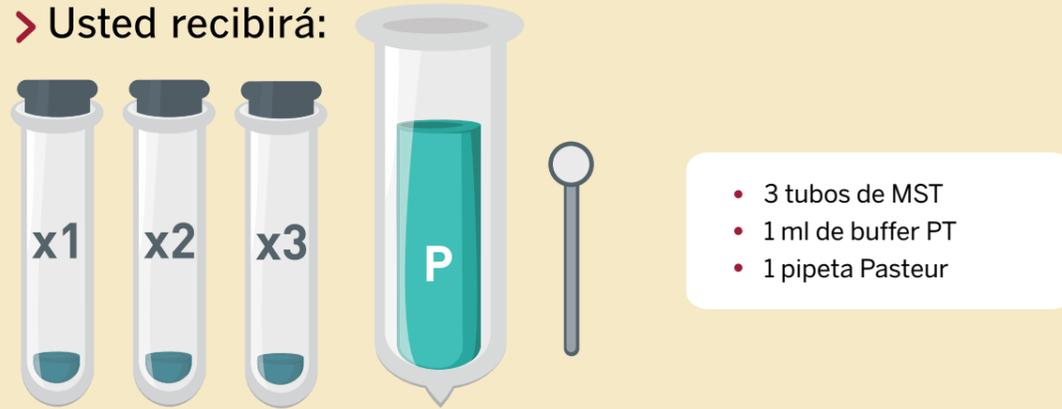




## ANEXO II

### Guía rápida de procesamiento del control de calidad

#### 1. > Usted recibirá:



> Asegurarse de que la muestra seca esté en el fondo del tubo. Guardar en la heladera hasta el día en el que se procesan.

#### 2. > Reconstitución con buffer PT:



> Abrir un tubo y agregar el número exacto de gotas del buffer PT indicados en el instructivo con la pipeta descartable provista.

#### 3. > Hidratación por 3 horas:



- Tapar los tubos
- Golpearlos con el dedo varias veces hasta que se torne una solución celeste.
- Dejarlos en reposo en posición vertical a temperatura ambiente, desde un mínimo de 3 horas o hasta el día siguiente pero sin superar las 24 hs.

#### 4. > Realización del ensayo:



##### Pasado el tiempo de hidratación:

- Dar pequeños golpes para mezclar
- Rotular las tiras
- Realizar la PR agregando las muestras como está indicado en el instructivo
- Leer a los 15 minutos





### D. Planilla de informe: Control de calidad extremo de la prueba rápida para sífilis con MST

Completar todos los campos de:

#### Datos del participante:

- Establecimiento
- Nombre y apellido de la persona responsable del análisis
- Número del operador
- Fecha de recepción del panel

#### Datos del panel:

- Lote del panel de MST (Indicado en la etiqueta en la bolsa del panel de MST)
- Fecha y hora de adicción del buffer PT

#### Resultados:

- Para cada muestra del panel consignar el N° de MST (etiqueta del tubo) en la tabla presente en la planilla, y el resultado de la muestra en la columna correspondiente: Positivo, Negativo o Inválido.
- Una vez completada la planilla, remitirla al lugar que está indicado en el instructivo y archivar los resultados en la carpeta de resultados del CC.

RESULTADOS				
Control de Calidad Externo de la Prueba Rápida para Sífilis con Muestras Seca en Tubo (MST)				
DATOS DEL PARTICIPANTE				
Establecimiento				
Nombre y apellido de la responsable del análisis				
N° de operador				
Fecha de recepción del panel				
DATOS DEL PANEL				
Lote del panel de MST (etiqueta en la bolsa del panel de MST)				
Fecha y hora de adicción del Buffer PT				
DATOS DE LOS REACTIVOS				
	Tiras	Buffer de arrastre	Capilares	
N° de lote				
Fecha de vencimiento				
Código de MST	MST x1	MST x2	MST x3	Fecha y hora de lectura
Resultado obtenido				
Resultado esperado*				
Concordancia sífilis*				X:

\*Completado por el laboratorio elaborador del control de calidad.

Mail o celular de contacto para remitir los resultados:

.....

Muchas gracias por su colaboración

### E. Listado de control de tareas para la supervisión de centros de testeo

Este listado constituye una guía para el bioquímico que va a supervisar el centro de testeo en el cumplimiento del procedimiento por parte del personal involucrado. Deberá marcar en los casilleros SI/NO de acuerdo a la verificación de cada uno de los ítems controlados.

Utilice los casilleros para constatar la presencia y/o cumplimiento de los ítems que se detallan a continuación

#### SI NO

- ¿El test que se va a utilizar está aprobado por ANMAT? ¿Cuenta con una verificación local?
- ¿El test está conservado en una heladera con control de temperatura?
- ¿El test está conservado con el correspondiente desecante?
- ¿El test está vencido?
- ¿El test está conservado en una heladera de acceso restringido/específico para materiales como vacunas, reactivos, etc?
- ¿El test se utiliza en el marco de un algoritmo diagnóstico vigente?
- ¿Se encuentra claramente establecido el circuito de derivación de muestras al laboratorio de referencia?
- ¿El test se realiza en un área destinada a tal fin?
- ¿El área del test se encuentra ordenada y limpia?
- ¿En el área del test se dispone de algodón y alcohol?
- ¿Se utilizan lancetas con retracción de aguja?
- ¿Se utilizan capilares con indicador de volumen?
- ¿El operador del test rotula la tira antes de utilizarla?
- ¿El operador del test utiliza el volumen de sangre indicado en el procedimiento?
- ¿El operador del test utiliza correctamente el gotero de buffer de lisis/arrastre?
- ¿Una vez sembrada la tira del test, esta se dispone en un lugar resguardado hasta que se procede a la lectura?
- ¿El operador del test cumple con el tiempo para la lectura del resultado indicado en el procedimiento?
- ¿El operador del test interpreta correctamente el resultado?
- ¿El operador del test acondiciona correctamente sus elementos y lugar de trabajo luego de atender a cada persona?
- ¿El operador del test llena la planilla indicada antes de realizar la punción?
- ¿El operador del test consigna correctamente el resultado en la planilla correspondiente?
- ¿Los registros y planillas se encuentran en un sitio adecuado a fin de asegurar la confidencialidad del proceso?
- ¿Los registros y planillas se encuentran a disponibilidad del supervisor?
- ¿Los registros de stock se encuentran al día?
- ¿Los espacios sobrantes en los registros se encuentran correctamente anulados?
- ¿El personal de testeo y de consejería está registrado en la planilla de entrenamiento/capacitación?
- ¿Reciben los controles de calidad en tiempo y forma?
- ¿Se completan correctamente las planillas de control de calidad?
- ¿Se conservan adecuadamente los controles de calidad?
- ¿Todos los operadores realizan control de calidad?
- ¿Se envían los controles de calidad en tiempo y forma al laboratorio de referencia?
- ¿En el área del test se dispone de descartador para cortopunzantes?
- ¿El operador del test utiliza guantes?

## F. Prueba para ceguera de colores

### Material para capacitación

El capacitador dispondrá de los elementos de bioseguridad necesarios (guantes, descartadores, alcohol 70°, algodón, etc). Por otra parte, llevará a la capacitación una lámina con las figuras para la prueba de ceguera, una hoja de cartulina o similar con PRS ya hechas pegadas con cinta y que muestren distintas situaciones esperadas, y muestras de sangre positivas y negativas para que los participantes observen un resultado positivo. La parte 4 del trabajo práctico se realizará entre los participantes realizando digito-punción a los voluntarios. Estas tiras podrán ser descartadas antes de la lectura para preservar la confidencialidad.

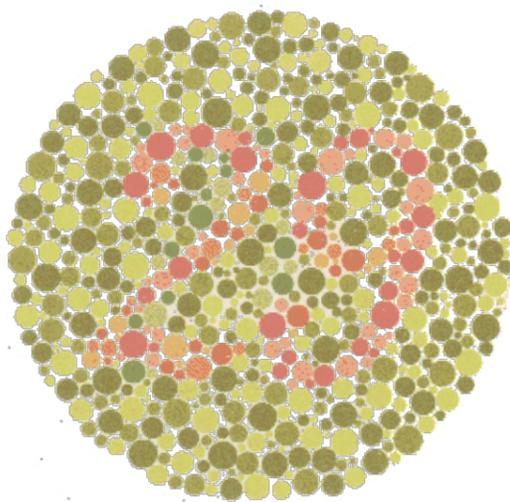


FIGURA 1

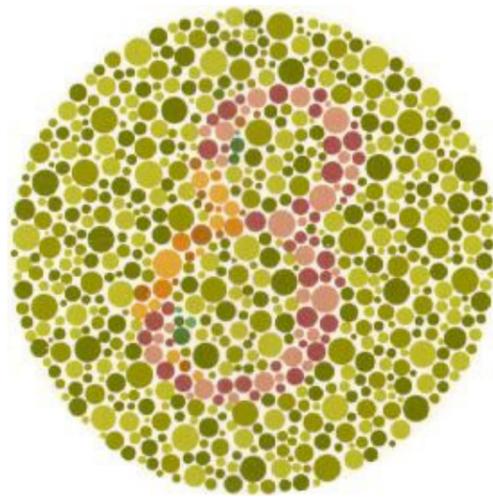


FIGURA 2

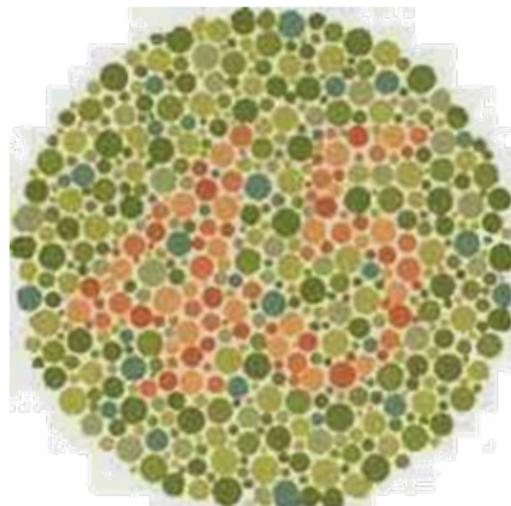


FIGURA 3

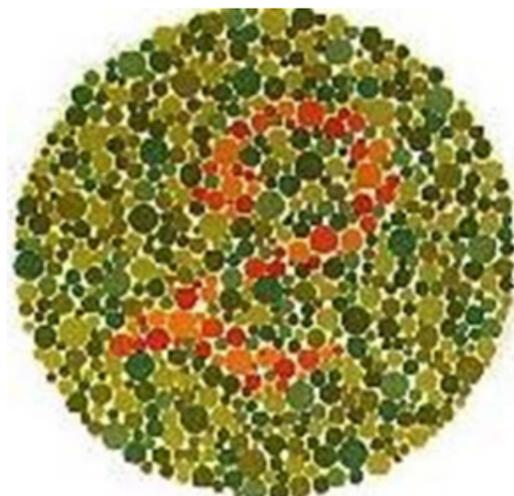


FIGURA 4

## G. Registro de capacitación en pruebas rápidas de sífilis

### Evaluación visual y lectura de las pruebas rápidas para sífilis

REGISTRO		FECHA DE VIGENCIA	
Nombre y apellido		Fecha	
Hospital / Centro de Salud			

1. Prueba para ceguera de colores: indicar lo que visualiza en la lámina

Figura 1	Figura 2	Figura 3	Figura 4

2. Lectura realizada por el participante de la capacitación

Indicar en el casillero de acuerdo a lo que visualiza, el resultado de cada PRS: **P** (positivo), **N** (Negativo) o **I** (Invalido)

Nº1	Nº2	Nº3	Nº4	Nº5	Nº6	Nº7	Nº8	Nº9	Nº10

Autoevaluación de la lectura

Indique en cada casillero como **C** (correcto) o **I** (incorrecto)

Nº1	Nº2	Nº3	Nº4	Nº5	Nº6	Nº7	Nº8	Nº9	Nº10

3. Lectura realizada por el participante de la capacitación sobre muestras incógnitas de sangre en tubo

Indicar en el casillero de acuerdo a lo que visualiza, el resultado de cada PRS: **P** (positivo), **N** (Negativo) o **I** (Invalido)

Nº1	Nº2	Nº3	Nº4	Nº5

Autoevaluación de la lectura

Indique en cada casillero como **C** (correcto) o **I** (incorrecto)

Nº1	Nº2	Nº3	Nº4	Nº5

4. Continuar con la práctica de digitopunción para PRS

## 6. Bibliografía

- Brasil, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis, Aids e Hepatites Virais, "Manual técnico para el diagnóstico da sífilis", 2016.
- Dirección de Sida y ETS, Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación, "Prevención de la transmisión perinatal de sífilis, hepatitis B y VIH", 2016.
- Dirección de Sida y ETS, Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación, 2017, "Modelo estándar de manual de procedimientos y calidad para la implementación de test rápidos de VIH", 2016.
- Magnus Unemo et al, Organización Mundial de la Salud, Organización Panamericana de la Salud, "Diagnóstico de laboratorio de las infecciones de transmisión sexual, incluida la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana", 2014.
- Organización Mundial de la Salud, "El uso de las pruebas rápidas para sífilis", 2007.
- Organización Panamericana de la Salud, "Orientación para el diagnóstico de la sífilis en América Latina y el Caribe: cómo mejorar la adopción, interpretación y calidad del diagnóstico en diferentes entornos clínicos", 2015.

