



ABEL GUTIERREZ RAMOS INVESTIGACION DIAGNOSTICA

LABORATORIO DE REACTIVOS PARA DIAGNOSTICO

ANTÍGENO USR I.D.

Agente de diagnóstico.

Prueba no treponémica para diagnóstico de sífilis en plasma o suero.

El antígeno USR I.D. es un antígeno preparado a base de cardioplipina para el diagnóstico serológico de sífilis en plasma o suero sin inactivar mediante una reacción de aglutinación microscópica.

Fundamento: el reactivo es una suspensión antigénica a base de cardioplipina, que detecta reaginas (proteínas parecidas a los anticuerpos que se encuentran en personas sífilíticas). Cuando la reacción es positiva, el antígeno se aglutina en contacto con el suero formando agregados de las partículas en suspensión (partículas no solubles en agua), que son distinguibles bajo el microscopio. Las reacciones negativas no provocan el agregado de partículas dando una apariencia homogénea a la suspensión.

PROCEDIMIENTO

Toma de muestra

No se requiere de ninguna preparación especial antes de tomar la muestra.

- Obtención del suero. Tomar sangre venosa por venopunción y depositarla en un tubo de ensaye con los siguientes anticoagulantes a elegir: edta, heparina, oxalato de potasio, secuestro de potasio o fluoruro de sodio. Con edta y heparina, la cantidad de sangre colectada no es crítica, pudiendo ser tan mínima como 1 ml., con los demás anticoagulantes tomar por lo menos 3.5 ml. de sangre. Centrifugar a 3000 R.P.M. durante 5 minutos, conservar el plasma en el tubo original.

Materiales

El equipo antígeno USR I.D. contiene la cantidad de antígenos suficiente para llevar a cabo el número de pruebas indicadas.

- Antígeno. El antígeno no debe ser usado después de la fecha de caducidad. Debe conservarse a una temperatura entre 2° y 8°C. Permitir que el antígeno tome la temperatura ambiente antes de usarse. Consérvese en refrigeración entre 2° y 8° C. No se congele.
- Aguja. Después de usar la aguja, debe ser limpiada para asegurar su permeabilidad. Solo enjuáguela con agua destilada o déjala secar al aire. Evite frotarla con cualquier material que suelte pelusa.

Materiales adicionales

- Suero control. Patrones de reactividad estándar, que se deben incluir cada vez que se corran las pruebas, para verificar la reactividad del antígeno.
- Agitador rotatorio de 90 a 110 R.P.M.
- Solución salina isotónica para pruebas cuantitativas.

Antes de procesar la muestra debe tomarse en consideración:

- Leer las precauciones indicadas.
- Comprobar la reactividad del antígeno con suero control.
- Dejar que el antígeno adquiera la temperatura ambiente.
- Resuspender perfectamente el antígeno antes de cada serie de pruebas.

MODO CUALITATIVO

1. Depositar una gota de suero en la placa de reacción (círculos en placa de vidrio). Aproximadamente 0.05 ml.
2. Extender la gota por todo el círculo de reacción.
3. Agitar el frasco gotero para suspender el antígeno USR I.D., en posición vertical, dejar caer una sola gota extendida en cada círculo de reacción (aprox. 1/60 de ml.).

4. Poner la placa de reacción a rotar por 4-5 minutos, a 120 R.P.M.. aproximadamente. Al terminar la agitación, efectuar la lectura bajo el microscopio con el objetivo seco débil y observar el grado de aglutinación de las partículas.

INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

- Reacción franca positiva: se observan agregados de las partículas grandes y/o medianas.
- Reacción positiva débil: se observan agregados pequeños.
- Reacción negativa: ausencia de agregados. Observación de suspensión homogénea.

MÉTODO CUANTITATIVO

1. El suero problema se diluye aritméticamente, es decir 0.5 ml. suero más 0.5 ml. de solución salina isotónica, de esta dilución se toman 0.5 ml. y se adicionan a 0.5 ml. de solución salina isotónica, así sucesivamente hasta efectuar las diluciones apropiadas (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, etc.)
2. Colocar una gota de cada dilución sobre un círculo de reacción (un círculo por cada dilución).
3. Extender las gotas por todo el círculo de reacción.
4. Agitar el frasco gotero para suspender el antígeno. En posición vertical, dejar caer una sola gota sobre cada dilución. La mezcla se realizará una vez puesta la placa sobre al agitador rotatorio.
5. Poner la placa de reacción a rotar durante 4-5 minutos a 120 R.P.M. aproximadamente. Al terminar la agitación efectuar la lectura.
6. El título del suero problema será la máxima dilución con la cual se observe todavía reacción positiva débil.

LIMITACIONES AL PROCEDIMIENTO

Las pruebas no treponémicas son inespecíficas y pueden dar un cierto porcentaje de reacciones falsas-positivas.

Cada reactivo posee características propias, conocer su comportamiento requiere de controles positivos y negativos.

El diagnóstico de sífilis no debe basarse únicamente en una reacción positiva sin la evidencia de la enfermedad.

Todo individuo que de reacción positiva con el reactivo debe ser sujeto a un estudio posterior más profundo, como la inmunofluorescencia o FTA.

Como en cualquier antígeno a base de cardioplipina las reacciones falsas positivas pueden deberse a padecimientos que liberen opsoninas de los tejidos lesionados, como: paludismo, mononucleosis infecciosa, artritis reumatoide, fiebre reumática, lupus eritematoso, vacunación, lepra, neumonía neumococcica, etc.

En embarazo y adicción a drogas, pueden darse reacciones falsas positivas. En todos estos casos se recomienda la confirmación posterior con inmunofluorescencia y FTA.

Otro tipo de infecciones por espiroquetas dan resultados positivos que no deben considerarse falsos. Una lipemia y una hemólisis excesiva pueden interferir en los resultados, así como también la presencia aun en bajas cantidades de compuestos químicos con carga positiva.

BIBLIOGRAFÍA

- *Manual of test for syphilis*. PHS. Publication no.411, 1969.
- Portnoy J., Garson W. Pub. Health Rep. 75,985, 1960.
- Portnoy J., Bossak H.N. Pub. Health Rep. 76,935, 1961.
- *Specifications & evaluation. Methods for immunological & microbiological reagents*. Department of health, education, and welfare. CDC. Atlanta Georgia, 1975.