

# **MANUAL DE PROCEDIMIENTOS**

## **ELABORACIÓN Y USO DEL PANEL DE MUESTRAS SECAS EN TUBO “DTS” PARA LA PRUEBA RÁPIDA DE SÍFILIS**

**2011**

## ÍNDICE

1.0	ÍNDICE.....	2
2.0	PROPÓSITO.....	3
3.0	PRINCIPIO.....	3
4.0	PRECAUCIONES DE SEGURIDAD ESPECIALES.....	3
5.0	EQUIPOS Y MATERIALES.....	3
5.1	Equipos.....	3
5.2	Materiales.....	4
6.0	PROCEDIMIENTO.....	4
	PRE-TEST.....	4
6.1	Preparación del buffer PBS del panel de DTS (Buffer PBS/Tween-20).....	4
6.2	Preparación del azul de tripán.....	5
6.3	Obtención y análisis de muestras.....	6
	TEST.....	7
6.4	Preparación de viales DTS.....	7
6.5	Control de calidad de los viales DTS preparados.....	8
	POST-TEST.....	8
6.6	Agrupamiento de los paneles de viales DTS.....	8
6.7	Empaquetado de los paneles de DTS.....	9
6.8	Empaquetado de la prueba de suficiencia (“Proficiency Testing” o PT).....	10
6.9	Eliminación de material y muestras biológicas utilizadas.....	10
7.0	USO EN CAMPO DE LOS PANELES DE DTS.....	11
7.1	Reconstitución del DTS.....	11
7.2	Análisis.....	11
8.0	MANEJO DE RESULTADOS.....	11
8.1	Análisis de resultados.....	11
9.0	DOCUMENTOS ASOCIADOS.....	11
10.0	REFERENCIAS.....	12
	ANEXO 1: Cuadro resumen para la preparación de los DTS.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
	ANEXO 2: Registro de preparación del buffer PT.....	14
	ANEXO 3: Registro de preparación de solución stock 0.1% de Azul de Tripán.....	15
	ANEXO 4: Formato de recepción y análisis de muestras de plasma y/o suero.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
	ANEXO 5: Formato de información y análisis de los “pools” de muestras.....	16
	ANEXO 6: Registro de preparación de DTS.....	18
	ANEXO 7: Registro de evaluación de DTS.....	19
	ANEXO 8: Formato para el registro de paneles de DTS.....	20
	ANEXO 9: Formato de registro de destino de DTS.....	21
	ANEXO 10: Registro de resultados del control de calidad interno de la prueba rápida de sífilis.....	22
	ANEXO 11: Registro de resultados del control de calidad externo de la prueba rápida de sífilis.....	23
	ANEXO 12: Formato de ocurrencias.....	24
	ANEXO 13: Ayuda visual para la preparación de DTS.....	25

## **1.0 PROPÓSITO**

Proporcionar un protocolo para la elaboración del panel de muestras secas en tubo (DTS o “Dried Tube Specimen” por sus siglas en inglés).

Este panel será usado como una prueba de suficiencia (PT o “proficiency testing” por sus siglas en inglés) para ayudar al monitoreo del control de calidad de las pruebas para el diagnóstico de sífilis.

## **2.0 PRINCIPIO**

Las muestras usadas regularmente para monitorizar el control de calidad requieren de una cadena de frío que asegure la estabilidad de sus componentes biológicos. En el trabajo de campo, es difícil y costoso mantener las condiciones necesarias para este fin. Por este motivo se requiere someter las muestras a un tratamiento que permita su transporte y almacenamiento por al menos un mes y en temperaturas encontradas en muchas regiones (1).

La muestra es coloreada para hacerla visible y luego es secada a temperatura ambiente para concentrar el título de anticuerpos en ella. Ya seca, esta muestra puede ser transportada sin la necesidad de una cadena de frío. Para poder utilizar este espécimen como un suero común, es necesario un proceso llamado “reconstitución” que le permite a la muestra seca recuperar su estado líquido para poder ser usada en diferentes análisis.

## **3.0 PRECAUCIONES DE SEGURIDAD ESPECIALES**

- 3.1** Seguir el protocolo de bioseguridad del laboratorio
- 3.2** Usar mandil de laboratorio y guantes de látex.
- 3.3** Limpiar el área de trabajo, antes y después de trabajar, con hipoclorito sódico al 0.1% recién preparado (para la dilución 1:50, mezclar 1 medida de hipoclorito sódico al 5% (lejía doméstica) con 49 medidas de agua fría).
- 3.4** Limpiar cualquier derrame de muestra biológica con hipoclorito sódico al 1% recién preparado (para la dilución 1:5, mezclar 1 medida de hipoclorito sódico al 5% (lejía doméstica) con 4 medidas de agua fría).
- 3.5** Manipular los materiales y el panel de DTS con precaución. Considerarlos como potencialmente infecciosos ya que contienen sustancias tanto de origen animal como humano
- 3.6** No intercambie las tapas de los viales ya que podría resultar en la contaminación cruzada del panel.

## **4.0 EQUIPOS Y MATERIALES**

### **4.1 Equipos**

- 4.1.1** Cabina de bioseguridad (opcional)
- 4.1.2** Cronómetro
- 4.1.3** Agitador
- 4.1.4** Balanza de precisión
- 4.1.5** Medidor de pH

## 4.2 Materiales

- 4.2.1 Colorante azul de tripán, solución stock al 0.1% (Aldrich, número de catálogo 302643)
- 4.2.2 Bolsas de Buffer fosfato salino (PBS) con Tween 20 (Sigma, número de catálogo P3563).
- 4.2.3 Agua desionizada
- 4.2.4 Viales de 2.0 mL. con fondo cónico y esterilizados (Ejemplo: Sarsted, número de catálogo 72.730.105)
- 4.2.5 Micropipeta de 0.5-10 $\mu$ L
- 4.2.6 Micropipeta de 20-200 $\mu$ L.
- 4.2.7 Pipeta de 10mL.
- 4.2.8 Propipeta
- 4.2.9 Puntas descartables de 10 $\mu$ L.
- 4.2.10 Puntas descartables de 200 $\mu$ L (de preferencia con filtro).
- 4.2.11 Pipeta de transferencia desechables (Sarstedt, número de catálogo 86.1171)
- 4.2.12 Cajas porta-viales
- 4.2.13 Gradillas para viales
- 4.2.14 Etiquetas
- 4.2.15 Botellas autoclavables de almacenamiento
- 4.2.16 Bolsas resellables
- 4.2.17 Jeringas descartables de 10ml.
- 4.2.18 Tijeras
- 4.2.19 Mascarilla descartable
- 4.2.20 Filtros de membrana de PVDF de 0.2 micras, para jeringa, descartables (PVDF: fluoruro de polivinilideno). OPCIONAL
- 4.2.21 Filtros de membrana de PVDF de 0.45 micras, para jeringa, descartables (PVDF: fluoruro de polivinilideno). OPCIONAL
- 4.2.22 Kit de RPR (“Rapid Plasma Reagin” o “Reagina Rápida en Plasma”)
- 4.2.23 Kit de TPPA (Treponema pallidum Particle Agglutination). También se puede usar otra prueba confirmatoria
- 4.2.24 Sueros/plasmas con RPR de sífilis positivo y negativo
- 4.2.25 Cuaderno o ficha para registro de resultados
- 4.2.26 Guantes de látex

## 5.0 PROCEDIMIENTO

(Cuadro resumen en el Anexo 1)

### PRE-TEST

#### 5.1 Preparación del buffer PBS del panel de DTS (Buffer PBS/Tween-20)

- 5.1.1 Disolver un sobre de PBS / Tween 20 en 1 litro de agua desionizada. Se obtendrá PBS (0.01 M; cloruro de sodio (NaCl) 0.138 M; cloruro de potasio (KCl) 0.0027 M); Tween 20 – 0.05%; con un pH de 7.4 a una temperatura de 25°C.  
En caso de que el buffer no alcance este pH, con el medidor de pH se deberá titular usando ácido clorhídrico (HCl 0.1N) o hidróxido de sodio (NaOH 0.1N).

- 5.1.2** Esterilizar el buffer preparado usando una jeringa de 10mL y el filtro para jeringa con membrana con poros de 0.2µm.
- 5.1.3** Etiquetar los viales estériles de 2 mL con la siguiente información:
- 5.1.3.1** Identificar el vial como “Buffer PT”.
- 5.1.3.2** Identificar el lote de producción.
- 5.1.3.3** Establecer una fecha de expiración de 1 año después de la preparación.

<p style="text-align: center;"><b>BUFFER PT</b></p> <p>Lote: PT-0001 FV: 2010 / Oct / 20</p>
--

- 5.1.4** Preparar alícuotas del buffer de 0.7 mL. en los viales de 2mL. previamente etiquetados.
- 5.1.5** Almacenar el buffer alicuotado a 4°C.
- 5.1.6** Registrar la información en el Formato de registro de preparación del buffer PT (Anexo 2).

## **5.2 Preparación del azul de tripán**

- 5.2.1** Trabajar en una cabina de bioseguridad o usar mascarillas descartables. Evitar la formación de polvo o aerosoles al preparar el azul de tripán.
- 5.2.2** Preparar una solución stock al 0.1%
- Pesar 0.01g de azul de tripán en una balanza de precisión.
  - Agregar el azul de tripán pesado a un tubo de centrifuga de 15mL.
  - Agregar 10mL de buffer PT usando la pipeta de 10mL. Mezclar por inversión y por golpes de vórtex.
  - Mantener a 4°C en un frasco oscuro o protegido de la luz.
- 5.2.3** Etiquetar el tubo de centrifuga con la solución stock con la siguiente información:
- Identificar el tubo como “Azul de Tripán - stock 0.1%”
  - Identificar el lote de producción: dd-MM-aaaa-II (II: Iniciales de la persona que hace el preparado).
  - Si el almacenamiento del stock es entre 2 a 4°C, considerar como la fecha de caducidad la fecha más próxima de cualquiera de los componentes de la solución (azul de tripán en polvo o del Buffer PT). Si el almacenamiento es a temperatura ambiente, establecer como fecha de expiración, 1 año después de la preparación.
- 5.2.4** Preparar alícuotas en viales previamente etiquetados. Se recomienda guardar las alícuotas a 4°C hasta ser usadas.  
Registrar la información en el Registro de preparación de solución stock 0.1% de Azul de Tripán (Anexo 3).

### 5.3 Obtención y análisis de muestras

#### 5.3.1 Obtener el suero de un banco de sangre.

Se deben obtener muestras de título serológico alto hasta muestras RPR negativas.

#### 5.3.2 Las muestras se almacenarán a 4 °C si es que las pruebas van a hacerse dentro de los 5 días seguidos a la toma de muestra. Caso contrario y de contar con las facilidades, las muestras serán almacenadas a -20 °C.

#### 5.3.3 Para verificar la reactividad de la muestra se usaran las siguientes pruebas:

**5.3.3.1 Prueba de la Reagina Plasmática Rápida (RPR):** Análisis cuantitativo.

**5.3.3.2 Aglutinación de Partículas de *Treponema pallidum* (TP-PA):** Análisis cuantitativo.

#### 5.3.4 El laboratorio que es responsable de proveer el panel de la prueba de suficiencia, debe **verificar la reactividad de la muestra** usando las pruebas treponémicas (TP-PA) y no treponémicas (RPR) como mínimo en dos momentos:

- Al llegar la muestra al laboratorio (RPR)
- Después de hacer un “pool” con sueros del mismo título (RPR y TP-PA)

#### 5.3.5 Registrar la información y resultados de RPR de las muestras recibidas en el Formato de recepción y análisis de muestras de plasma y/o suero (Anexo 4).

#### 5.3.6 Registrar la información de los “pools” obtenidos en el Formato de información y análisis de los “pools” de muestras (Anexo 5).

#### 5.3.7 Consideraciones generales

- Si el “pool” evaluado tiene resultado positivo para RPR mayor o igual a 1:2 se procederá a preparar los DTS.
- Todos los pools usados para hacer DTS positivos para sífilis deben tener como resultado POSITIVO para RPR y TP-PA.
- Todas los pools usados para hacer DTS negativos para sífilis deben tener como resultado NEGATIVO para RPR y TP-PA.
- Se recomienda tener pools de diferentes titulaciones de RPR (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, ...)

#### 5.3.8 Consideraciones para hacer DTS para PRS (pruebas rápidas de sífilis)

- Se recomienda el uso de sueros con PPR mínimo de 1:2.

## TEST

### 5.4 Preparación de viales DTS

**5.4.1** Los viales para el DTS deben ser etiquetados teniendo en consideración que:

- Cada DTS debe tener un código único que lo identifique.
- El laboratorio que los hace debe poder identificar el lote al que pertenece.

Identificación del vial. Ejemplo:

DTS-A.04.064.001
------------------

DTS A.04	Elaborado por el laboratorio A-04
Lote.064	Dilución de origen 1:64
Vial 001	Numeración correlativa

**5.4.2** Para asegurar la trazabilidad de los DTSs, cada vial tendrá un único código:

Ejemplo:

Vial 1: DTS-A.04.064.001

Vial 2: DTS-A.04.064.002,...

Vial 1: DTS-B.01.002.001

Vial 2: DTS-B.01.002.002,...

**5.4.3** Preparar una dilución de 1:100 de azul de tripán en suero por cada 100µL de suero agregar 1µL de azul de tripán. Agitar la dilución para mezclar el colorante.

**5.4.4** Preparar un DTS por cada “pool” o muestra evaluada transfiriendo 20µL de la dilución suero coloreado a cada vial etiquetado.

Se recomienda trabajar con alícuotas de sólo un suero/plasma a la vez para evitar cualquier posible confusión o mezcla.

**5.4.5** Dejar los DTS destapados (de preferencia en un lugar donde no hay corriente de aire) para que sequen toda la noche a temperatura ambiente. Si se va a preparar DTS de mas de un “pool”, asegurarse de que los DTS estén separados en gradillas según el ID del suero/plasma. Se puede dejar secando todo el fin de semana.

**5.4.6** Asegurarse de que los especímenes hayan secado completamente antes de tapar cada tubo (puede tomar más de un día). En el fondo del tubo se debe haber formado un “pellet” visiblemente coloreado.

**5.4.7** Los DTS tapados deben ser mantenidos a 4°C hasta que estén listos para el envío a los laboratorios participantes.

**5.4.8** Cada DTS tendrá una fecha de vencimiento hasta 1 año después de su preparación.

**5.4.9** Registrar la información en el Formato de registro de preparación de DTS (Anexo 6)

## 5.5 Control de calidad de los viales DTS preparados

### 5.5.1 Reconstitución del DTS

5.5.1.1 Golpear suavemente los DTS para asegurarse que el “pellet” coloreado caiga al fondo del vial.

5.5.1.2 Reconstituir el “pellet” adicionando 3 gotas de buffer PT a cada DTS con la pipeta de transferencia (gotero).

5.5.1.3 Tapar el tubo y agitarlo hacia abajo una sola vez para llevar todo el líquido al fondo del vial.

5.5.1.4 Dejar reconstituir los viales DTS en una gradilla toda la noche. Se recomienda dejar reconstituir como máximo 24 horas o como mínimo 6 horas antes de hacer cualquier prueba diagnóstica.

### 5.5.2 Análisis

5.5.2.1 Analizar el contenido de los viales DTS como si fuera una muestra cualquiera usando pruebas rápidas de sífilis y/o TPPA.

5.5.2.2 Registrar la información en el formato de registro de evaluación de DTS (Anexo 7)

Para evaluar DTS en pruebas rápidas, usar como referencia la escala de intensidad de la línea de PRS.



5.5.2.3 En caso de que algún DTS obtenga resultados diferentes a los esperados en cualquiera de las pruebas a ser evaluado, se deberá llenar el formato de ocurrencias (Anexo 12)

## POST-TEST

### 5.6 Agrupamiento de los paneles de viales DTS

#### 5.6.1 Panel de 2 viales

Este tipo de panel será usado para el control de calidad interno de la prueba rápida de sífilis.

En una bolsa resellable (puede ser de 5 x 7 cm.) colocar 2 viales DTS de sífilis (1 negativo y 1 positivo 1:2) y un vial de buffer PT.

Cada vial DTS tendrá dos etiquetas:



Etiqueta de  
identificación de vial

DTS-B.04.064.001

Etiquetas de trabajo

Positivo

Negativo

Se pueden armar bolsas de paneles y guardarlas a 4°C. Al armar las bolsas, registrar la información en el formato para el registro de paneles de DTS (Anexo 8).

### 5.6.2 Panel de 4 viales

Este tipo de panel será usado como control de calidad externo para las pruebas rápidas de sífilis.

En una bolsa resellable (puede ser de 5 x 7 cm.) colocar 4 viales DTS de sífilis con diferentes grados de reactividad para la prueba de RPR.

Se sugiere:

- 1 negativo
- 1 positivo con titulación alta (1:32)
- 1 positivo con titulación media (1:8)
- 1 positivo con titulación baja (1:2)
- 1 vial “Buffer PT”.

Cada vial DTS tendrá una sola etiqueta:

Etiqueta de  
identificación de vial

DTS-A.04.064.001

## 5.7 Empaquetado de los paneles de DTS

5.7.1 Etiquetar una bolsa resellable con la siguiente información:

- Identificación: “Panel de DTS”
- Lote de producción: P-0001 (consecutivo y único)

PANEL DE DTS  
Lote: P-001

5.7.2 Las bolsas de paneles deberán ser empacadas para envío conteniendo:

- Panel de Viales DTS (pueden ser 2 ó 4 viales DTS)
- Un vial de “Buffer PT”

5.7.3 Guardar el panel de PT embolsado a 4 °C hasta que se envíen a los sitios de pruebas

5.7.4 Registrar y/o completar la información en el formato para el registro de paneles de DTS (Anexo 8).

## **5.8 Empaquetado de la prueba de suficiencia (“Proficiency Testing” o PT)**

**5.8.1** Etiquetar una bolsa resellable con la siguiente información:

- Identificación: “Control de Calidad \_\_\_\_\_” ( interno y externo).



**5.8.2** Para el control de calidad interno de la Prueba rápida de sífilis, las bolsas de los paneles PT deberán contener:

- Panel de DTS (2 viales DTS y un vial de Buffer PT)
- Una pipeta plástica de transferencia (gotero).
- La hoja de instrucciones y el formato registro de resultados del control de calidad interno de la prueba rápida de sífilis (Anexo 10)
- Registrar y/o completar la información en el Formato para el registro de paneles de DTS (Anexo 8).

**5.8.3** Para el control de calidad externo de la prueba rápida de sífilis, las bolsas de los paneles PT deberán contener:

- Panel de DTS (4 viales DTS y un vial de Buffer PT)
- Una pipeta plástica de transferencia (gotero).
- La hoja de instrucciones y el formato de registro de resultados del control de calidad externo de la prueba rápida de sífilis (Anexo 11).
- Un par de guantes de látex y una hoja de papel toalla para ser usada como campo al evaluar el panel.
- Pruebas rápidas de sífilis (una por cada vial enviado)
- Registrar y/o completar la información en el Formato para el registro de paneles de DTS (Anexo 8).

**5.8.4** La distribución de los paneles de DTS es registrado en el formato de registro de destino de DTS (Anexo 9)

## **5.9 Eliminación de material y muestras biológicas utilizadas**

**5.9.1** Descartar los materiales usados. Se recomienda descartarlos en una bolsa de bioseguridad autoclavable (puntas para micropipeta y viales usados, guantes, etc.)

**5.9.2** Guardar el PBS/Tween no esterilizado y la solución stock de azul de tripán a 4°C.

**5.9.3** Limpiar el área de trabajo con hipoclorito sódico al 0.1%.

## **6.0 USO EN CAMPO DE LOS PANELES DE DTS**

### **6.1 Reconstitución del DTS**

- 6.1.1** Golpear suavemente los DTS para asegurarse que el “pellet” coloreado caiga al fondo del vial.
- 6.1.2** Reconstituir el “pellet” adicionando 3 gotas de buffer PT a cada DTS con la pipeta de transferencia (gotero).
- 6.1.3** Tapar el tubo y agitarlo hacia abajo una sola vez para llevar todo el líquido al fondo del tubo.
- 6.1.4** Dejar reconstituir los viales DTS en una gradilla toda la noche. Se recomienda dejar reconstituir como máximo 24 horas o como mínimo 6 horas antes de hacer cualquier prueba diagnóstica.

### **6.2 Análisis**

- 6.2.1** Analizar el contenido de los viales DTS como si fuera una muestra cualquiera con el método de diagnóstico de sífilis a evaluar.
- 6.2.2** Registrar la información en el Formato de instrucciones y resultados de la prueba de suficiencia (PT)

## **7.0 MANEJO DE RESULTADOS**

### **7.1 Análisis de resultados**

- 7.1.1** Juntar los reportes de cada panel usado.
- 7.1.2** Ingresar los datos en una hoja de cálculo para analizarlos estadísticamente.
- 7.1.3** Hacer el seguimiento para aquellos participantes que no recibieron un 100% de grado de aprobación.

## **8.0 DOCUMENTOS ASOCIADOS**

- 8.1.1** ANEXO 1: Cuadro resumen para la preparación de los DTS
- 8.1.2** ANEXO 2: Registro de preparación del buffer PT
- 8.1.3** ANEXO 3: Registro de preparación de solución stock 0.1% de Azul de Tripán
- 8.1.4** ANEXO 4: Formato de recepción y análisis de muestras de plasma y/o suero
- 8.1.5** ANEXO 5: Formato de información y análisis de los “pools” de muestras
- 8.1.6** ANEXO 6: Registro de preparación de DTS
- 8.1.7** ANEXO 7: Registro de evaluación de DTS
- 8.1.8** ANEXO 8: Formato para el registro de paneles de DTS
- 8.1.9** ANEXO 9: Formato para el registro de destino de DTS
- 8.1.10** ANEXO 10: Registro de resultados del control de calidad interno de la prueba rápida de sífilis Formato de instrucciones y resultados
- 8.1.11** ANEXO 11: Registro de resultados del control de calidad externo de la prueba rápida de sífilis
- 8.1.12** ANEXO 12: Formato de ocurrencias
- 8.1.13** ANEXO 13: Ayuda visual para la preparación de DTS

## **9.0 REFERENCIAS**

1. Parekh BS. Et al. Dried tube specimens: A simple and cost-effective method for preparation of HIV proficiency testing panels and quality control materials for use in resource-limited settings. *J Virol Methods*. 2010 Feb;163(2):295-300

## ANEXO 1: Cuadro resumen para la preparación de los DTS

<b>PRE TEST</b>		<b>LISTO</b>
	Usar el equipo de protección personal básico.	
	Limpiar el área de trabajo con hipoclorito sódico al 0.1%.	
<b>Preparación del Buffer PBS/Tween-20</b>		
<b>01</b>	Disolver una bolsa de PBS/Tween-20 en 1 litro de agua desionizada. Llevar a pH de 7.4 (usar HCl 0.1N o NaOH 0.1N).	
<b>02</b>	Esterilizar el buffer usando un filtro de membrana (filtro PVDF poro de 0.2µm). Almacenar el buffer esterilizado a 4°C en viales etiquetados (Completar Anexo 2).	
<b>Preparación del azul de tripán</b>		
<b>01</b>	Preparar la solución stock al 0.1%. Disolver 0.01g de azul de tripán en 10 mL de buffer PBS/Tween estéril y dar golpes de vórtex (Completar Anexo 3).	
<b>Obtención y análisis de muestras</b>		
<b>01</b>	Caracterizar cada plasma o suero obtenido de banco de sangre usando RPR (Completar Anexo 4).	
<b>02</b>	Caracterizar cada pool plasma o suero preparado, usando RPR y TPPA (Completar Anexo 5).	
<b>TEST</b>		
<b>Preparación de viales DTS</b>		
<b>01</b>	Rotular los viales DTS con etiquetas de identificación (ID1).	
<b>02</b>	Diluir 1µL de azul de tripán por cada 100µL del suero y agitar suavemente para mezclarlos.	
<b>03</b>	Transferir 20µL. de suero coloreado por cada vial etiquetado. Repetir hasta acabar el preparado.	
<b>04</b>	Dejar los viales con el suero destapados en la cabina de bioseguridad para que sequen toda la noche a temperatura ambiente hasta que hayan formado un “pellet” visiblemente coloreado. Este es un vial DTS.	
<b>05</b>	Luego de haber secado, cada DTS tapado debe ser mantenido a 4°C hasta que estén listos para envío a los laboratorios participantes.	
<b>06</b>	Guardar un vial DTS de cada lote producido para control de calidad y archivo.	
<b>07</b>	Registrar la información (Completar Anexo 6).	
<b>Evaluación de los viales DTS preparados</b>		
<b>01</b>	Reconstituir el contenido de cada vial adicionando 3 gotas de buffer PT.	
<b>02</b>	Tapar el tubo y agitarlo hacia abajo una vez para llevar todo el contenido al fondo del vial.	
<b>03</b>	Dejar incubar en una gradilla durante toda la noche.	
<b>04</b>	Analizar el contenido de los viales DTS usando PRS y/o TP-PA (Completar Anexo 10)	
<b>POST TEST</b>		
<b>Agrupamiento de paneles de DTS</b>		
	<b>Panel de 4 viales:</b> En una bolsa resellable colocar 4 viales DTS de sífilis con resultados para la prueba de RPR (1 negativo, 1 positivo con titulación alta, 1 positivo con titulación media y 1 positivo con titulación baja) y un vial de buffer PT. Colocar las etiquetas ID2 respectivas. (Completar Anexo 8).	
	<b>Panel de 2 viales:</b> En una bolsa resellable colocar 2 viales DTS de sífilis (1 negativo y 1 positivo con titulación media) y un vial de buffer PT. Colocar las etiquetas ID2 respectivas. (Completar Anexo 8).	
<b>Empaquetado de los paneles de PT</b>		
	<b>Empaquetado de paneles:</b> Etiquetar la bolsa. Colocarle el panel de DTS, el gotero, la hoja de instrucciones (Anexo 10), guantes y papel toalla y PRS de ser necesario. (Completar Anexo 9).	
<b>Eliminación de material y muestras biológicas utilizadas</b>		
<b>01</b>	Descartar los materiales usados. Se recomienda descartarlos en una bolsa de bioseguridad autoclavable.	
<b>02</b>	Guardar el buffer PT (PBS/Tween) y la solución stock de azul de tripán a 4°C hasta próximo uso.	
<b>03</b>	Limpiar el área de trabajo con hipoclorito sódico al 0.1%.	





**ANEXO 4: Formato de recepción y análisis de muestras de plasma y/o suero**

Número de Muestra (consecutivo)	Fecha de llegada	Tipo de muestra	Volumen de muestra	Lugar de Procedencia			Resultado RPR Laboratorio ITS (fecha)	Otros
				Nombre	Tipo de prueba	Resultado		



**ANEXO 5: Formato de información y análisis de los “pools” de muestras**

Número de Pool (consecutivo)	Muestras utilizadas	Fecha de mezclado	Volumen final	Resultados				Observaciones
				RPR	Fecha	TP-PA	Otros	

**ANEXO 6: Registro de preparación de DTS**

<b>Lote de DTS (Ej.: DTS-A.04..064)</b>	<b>Fecha de preparación de DTSS</b>	<b>Responsable (Iniciales)</b>	<b>Código de pool usado</b>	<b>Titulación de RPR del pool usado</b>	<b>Número de alícuotas preparadas</b>	<b>Solución Stock Azul de Tripán (Lote usado)</b>	<b>Otros</b>

**ANEXO 7: Registro de evaluación de DTS**

<b>Lote de DTS evaluado</b>	<b>Lote Buffer PT (usado para reconstitución)</b>	<b>RPR Titulación final del pool usado</b>	<b>Resultados</b>			<b>Fecha</b>
			<b>Prueba rápida</b>	<b>TPPA</b>	<b>Otros (Prueba y Resultado)</b>	

**ANEXO 8: Formato para el registro de paneles de DTS**

Lote (panel)	Producción del panel (fecha)	Iniciales de quien lo prepara	Viales DTS del panel				Lote buffer	Otros
			Vial 1	Vial 2	Vial 3	Vial 4		

**ANEXO 9: Formato de registro de destino de DTS**

<b>Lote (panel)</b>	<b>Salida del Lab. (fecha)</b>	<b>Lugar de destino</b>	<b>Fecha de entrega</b>	<b>Fecha de retorno del reporte de resultados y de DTS</b>	<b>Otros</b>

**ANEXO 10: Registro de resultados del control de calidad interno de la prueba rápida de sífilis**

**REGISTRO DE RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD INTERNO  
DE LA PRUEBA RÁPIDA DE SÍFILIS**

<b>ESTABLECIMIENTO DE SALUD (Nombre y servicio)</b>								
<b>Información de la Prueba Rápida</b>	<b>Marca de la prueba rápida</b>		<b>Lote de la prueba rápida:</b>			<b>Fecha de vencimiento de la prueba rápida</b>		
<b>Información del Panel de DTS</b>	<b>Lote del panel</b>		<b>Fecha de recepción</b>			<b>Fecha y hora de reconstitución</b>		
FECHA	CONTROL NEGATIVO			CONTROL POSITIVO			CCI realizado por: (Nombre y firma)	Resultados CCI (Concordancia %)  Revisado por: (Nombre, firma y fecha)
	Etiqueta del tubo	Resultado PRS	ACEPTA RESULTADO NEGATIVO (SI/NO)*	Etiqueta del tubo	Resultado PRS	ACEPTA RESULTADO POSITIVO (SI/NO)*		

## ANEXO 11: Registro de resultados del control de calidad externo de la prueba rápida de sífilis

Instrucciones de llenado:

- Lea cada uno de los recuadros.
- Por favor registre toda la información solicitada

INSTRUCCIONES					
1	Revisar si el material recibido esta completo (4 viales DTS, “Buffer PT”, pipeta de transferencia, pruebas rápidas, formato de indicaciones y resultados, 4 pruebas rápidas)				
2.	<b>Completar</b> la información requerida en los siguientes recuadros.				
3	Luego de completar este formato, entregue una copia de éste a su coordinador.				
USO DEL PANEL					
<b>Lugar de lectura</b> (nombre del establecimiento)					
<b>Firma, nombre y/o sello de la persona responsable del análisis</b>					
<b>Fecha de recepción del panel</b>					
DATOS DEL PANEL					
	Datos	Observaciones			
<b>Lote del panel de DTS</b> (Etiqueta en la bolsa de los DTS)					
<b>Fecha y hora de adición del “Buffer PT (dd-MM-aaaa)</b>					
RESULTADOS					
	Viales DTS				Fecha y hora de lectura
	A1	A2	A3	A4	
Código del DTS					
<b>RESULTADO OBTENIDO</b>					
*RESULTADO ESPERADO					
*CONCORDANCIA					
<b>Acción correctiva</b>		<b>Acción preventiva</b>		<b>Reportado a:</b>	

\* A ser llenado en el laboratorio que provee el panel

*GRACIAS POR SU COOPERACION*

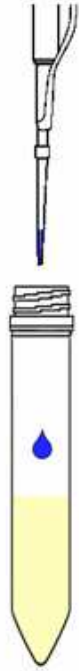

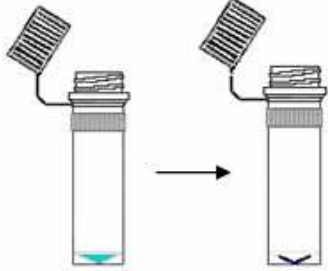


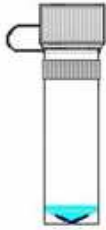
**ANEXO 12: Formato de ocurrencias**

<b>REPORTE DE OCURRENCIAS</b>					
<b>Nombre y firma de la persona que inicia el reporte</b>			<b>Fecha y hora de apertura del reporte</b>		
<b>Motivo de reporte (marque el recuadro que corresponda)</b>					
	<b>Acción preventiva</b>	<input type="checkbox"/>		<b>Evaluación interna</b>	<input type="checkbox"/>
	<b>Ocurrencia de evento</b>	<input type="checkbox"/>		<b>Evaluación externa</b>	<input type="checkbox"/>
<b>Descripción del problema (Que, Cómo, Cuando, Donde)</b>					
<b>Acción inmediata (A llenar en el momento y por la persona que inicia el reporte)</b>					
<b>Acción definitiva (A llenar por el supervisor después de presentado el reporte)</b>					
<b>Evaluación de la eficacia de la acción definitiva (A llenar a partir de la semana después de realizada la acción definitiva)</b>					
<b>Cierre del evento</b>					
<b>Fecha y hora de cierre del reporte</b>			<b>Nombre y firma de la persona que cierra el reporte</b>		

GRACIAS POR SU COOPERACION



ANEXO 13: Ayuda visual para la preparación de DTS

Preparación y Evaluación de las muestras secas en tubo (DTS)					
PREPARACIÓN				EVALUACIÓN	
					
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
Tañir el suero con el azul de tripán (concentración final de 0.1%)	Colocar 20 µL de suero en la base de un tubo con tapa	Dejar secar el contenido del tubo a temperatura ambiente	Tapar el tubo y almacenar a 4°C	Reconstituir el DTS	Incubar toda la noche y analizar por PRS y/o TP-PA

## ANEXO 14: Tabla para la preparación de DTS

### CONTROL DE CALIDAD INTERNO

	N° EESS	VOLUMEN TOTAL
		$(N^{\circ} \text{ EESS} + 5) \times 20 \mu\text{l}$
NEGATIVO		
1:2		

### CONTROL DE CALIDAD EXTERNO

	N° de personas que realizan la prueba rápida	VOLUMEN TOTAL SUERO
		$(N^{\circ} \text{ de personas} + 5) \times 20 \mu\text{l}$
NEGATIVO		
1:2		
1:8		
1:32		

### VOLUMEN TOTAL DTS

	Volumen Total CCI	Volumen Total CCE	VOLUMEN TOTAL (VT) $\mu\text{l}$	N° VIALES $VT \div 20 \mu\text{L}$
NEGATIVO				
1:2				
1:8				
1:32				

	Total de suero preparado	Total de viales preparados
NEGATIVO		
1:2		
1:8		
1:32		