



PROTOCOLO DE LOS SERVICIOS DE
LABORATORIO PARA

Pruebas de ITS/VIH
en las clínicas
PROFAMILIA

DOCUMENTO FINAL, CONSULTORÍA.

DICIEMBRE 2015

AGRADECIMIENTO ESPECIAL A LOS EQUIPOS
DE LAS CLÍNICAS PARTICIPANTES EN EL PROCESO
DE ELABORACIÓN DE ESTE MANUAL

PRESENTACIÓN

Profamilia siempre a la vanguardia en la reforma del sector salud decide elaborar este Protocolo de los servicios de Laboratorio para pruebas de Infecciones de Transmisión Sexual (ITS), con el propósito de que estos servicios dispongan de un instrumento estandarizado, de manera que todas las clínicas oferten los servicios de laboratorio con los mismos criterios.

Profamilia, junto al Sistema Nacional de Salud, implementan estrategias de abordaje innovadoras desde la perspectiva de los derechos humanos, con una visión integral, diseñando estrategias de intervención desde un primer hasta un tercer nivel de atención, manejo clínico oportuno y prevención secundaria a las personas con ITS/VIH, para contribuir a mejorar la calidad de vida de las personas afectadas por alguna de estas infecciones.

CONTENIDO

Introducción	7
Objetivos	9
Bases legales.	9
Generalidades de los servicios de laboratorio en las clínicas de Profamilia	10
Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH)	10
Pruebas para el diagnóstico de VIH:	10
Sífilis, definición y sus diferentes estadios	13
Causas de reacciones cruzadas en las pruebas para el diagnóstico de Sífilis	15
Hepatitis B, definición	16
Técnica recomendada para el diagnóstico de Hepatitis B	17
Algoritmo diagnóstico para Hepatitis B	17
Hepatitis C, definición	17
Diagnóstico o técnica recomendada para el diagnóstico de la Hepatitis C	17
Algoritmo diagnóstico de la Hepatitis C	18
Clamidia Trachomatis, definición	18
Técnica recomendada para el diagnóstico por Clamidia	18
Neisseria gonorrhoeae (uretritis gonocócica), definición	18
Pruebas diagnósticas para Neisseria Gonorrhoeae	19
Tricomona (Trichomona vaginalis), definición	19
Prueba diagnóstica para Tricomona	19

Gardnerella (<i>Gardnerella vaginalis</i>), definición	21
Técnica recomendada para el diagnóstico de <i>Gardnerella vaginalis</i>	21
Cándida, definición	22
Prueba para el diagnóstico de Cándida	22
Herpes genital, definición	23
Pruebas diagnósticas para Herpes Genital	24
Chancro blando (<i>Haemophilus ducreyi</i> o bacilo de ducreyi), definición	25
Pruebas diagnósticas para Chancro blando	25
Linfogranuloma venéreo, definición y pruebas diagnósticas	26
Prueba diagnóstica para Linfogranuloma venéreo	26
Granuloma inguinal (<i>Donovania granulomatis</i> o <i>Klebsiella granulomatis</i>), definición	26
Pruebas diagnóstica para Granuloma inguinal	26
Virus del papiloma humano (VPH), definición y Pruebas diagnósticas Citomegalovirus, definición	27
Pruebas para el diagnóstico de Citomegalovirus	28
Prueba de seguimiento a personas positiva a una ITS/VIH	28
Pruebas para el diagnóstico de niños/as expuestos/as al VIH	29
Bibliografía	30
Anexos	31

INTRODUCCIÓN

Las pruebas de laboratorio son de vital importancia para el manejo, prevención y control de las Infecciones de Transmisión Sexual (ITS), estas son causadas por bacterias, virus y parásitos y además del contacto sexual pueden transmitirse por otras vías tales como sangre, de madre a hijo (transmisión vertical) y por objetos contaminados.

La decisión de ofertar estas pruebas en los laboratorios debe basarse en el impacto y complicaciones de la comunidad que interviene. Otros criterios que debe considerar son las características de los productos seleccionados el rendimiento, el costo y la calidad.

Profamilia con el interés de estandarizar la implementación de estos procesos en sus diferentes clínicas dispone de este protocolo de manera que las pruebas para el diagnóstico de ITS que sean ofertadas según los criterios establecidos y en cumplimiento con las pautas de la Institución.

En este documento se exponen las pruebas recomendadas para el diagnóstico de cada una de las ITS, no se detallan los procedimientos debido a que estos van a depender de las técnicas que seleccione cada clínica, aunque si se incluyen las técnicas de las pruebas que no cambian de un fabricante a otro como son examen directo y los de las coloraciones.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Optimizar los servicios de laboratorio a los/as usuarios/as que acuden al servicio de ITS/VIH/SIDA de las clínicas de Profamilia.

Objetivo específico

- Sistematizar los servicios de laboratorio para el diagnóstico y seguimiento de las ITS/VIH.

BASES LEGALES

Este documento está basado en los fundamentos legales que sustentan jurídicamente los protocolos de atención en los centros de salud públicos y privados, los cuales están expresados en la constitución de la República y la Ley General de Salud (42-01). Además, la Ley de Sida (135-1), Norma Nacional para la Prevención y Atención de las Infecciones de Transmisión Sexual y Sida, la Guía de Atención a pacientes VIH, Guía Nacional de Atención a las Infecciones de Transmisión Sexual, Guía de Diagnóstico en Infantes y Atención Clínica Pediátrica y Guía para la realización de pruebas para el diagnóstico de ITS/VIH, que expresan la obligatoriedad de los centros prestadores de servicios en salud de disponer de instrumentos protocolares, con el propósito de disminuir la mala práctica médica.

De esta manera, Profamilia se acoge al cumplimiento de dichos documentos en todos sus artículos y reglamentos concernientes al tipo de servicio que ofrece, tales como prevención, diagnóstico, atención derechos, deberes y sanciones.

Usuarios: Este protocolo debe ser conocido y aplicado por el personal de laboratorio que es prestador/a de servicio en las clínicas Profamilia.

Alcance: este protocolo será aplicado en todas las clínicas Profamilia que ofertan servicio a usuarios con ITS/VIH/Sida y en todos los proyectos vinculados a servicios

GENERALIDADES DE LOS SERVICIOS DE LABORATORIO EN LAS CLÍNICAS DE PROFAMILIA

Toda persona que acuda a las Clínicas Profamilia solicitando el servicio pruebas para el diagnóstico de alguna ITS, tales como Sífilis, Hepatitis B, Hepatitis C, Clamidia, Gonorrea, entre otras, debe recibir consejería u orientación sobre el significado de las pruebas que solicita.

El objetivo de las pruebas diagnósticas es confirmar o descartar la posibilidad de infección por ITS/VIH. En este documento se exponen las técnicas y algoritmos recomendados según los lineamientos del Ministerio de Salud Pública de la República Dominicana y cada clínica ponderará las que resulten mejor costo efectiva de acuerdo a su estructura y al volumen de pacientes que regularmente solicitan los servicios.

Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH)

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) es un miembro del género lentivirus de la familia Retroviridae. También se llama retrovirus debido a que su genoma se transcribe de ARN a ADN dentro de la célula a través de la enzima viral transcriptasa reversa (TR). Es el virus causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) que se caracteriza por una reducción en las células CD4. Existen dos tipos de VIH, llamados VIH-1 y VIH-2, el primero de ellos es más virulento e infeccioso y es el causante de la mayoría de infecciones por VIH en el mundo. El VIH-2 es menos infeccioso y por ello se encuentra confinado casi exclusivamente a los países de África occidental.

La frecuencia de transmisión está influida por la cantidad del virus en un fluido corporal, se transmite por tres medios principales, por contacto sexual, de madre a hijo y por sangre contaminada.

Pruebas para el diagnóstico de VIH:

Las pruebas de detección de VIH, estas son utilizadas como medida de seguridad en sangre donada, espermatozoides, órganos y otros, en vigilancia

epidemiológica de la prevalencia y diagnóstico de infección de VIH, en este último caso, la infección no debe excluirse sobre la base de una prueba negativa realizada entre 4 y 6 semanas después de una exposición documentada, ya que durante el período inicial de la replicación del virus los anticuerpos están ausentes y el diagnóstico de VIH carece de precisión utilizando solo pruebas de anticuerpos, sería necesario utilizar técnicas que pueden detectar directamente uno o más componentes, tales como antígeno p24 o el ARN del virus o repetir la prueba a los tres y 6 meses luego de la exposición.

La replicación del virus en el cuerpo provoca tanta respuesta humoral mediada por células B que reduce el virus a un punto de ajuste. La presencia de virus detectable en la mayoría de las personas no tratadas sigue estimulando la respuesta de las células B y los niveles de anticuerpos se mantienen altos durante todo el período posterior, a menos que el paciente esté altamente inmunocomprometido, como en las etapas finales de la enfermedad. Por lo tanto, la detección de anticuerpos específicos del VIH es un marcador fiable para el diagnóstico de la infección.

Los criterios de selección de las técnicas diagnósticas están basados en la calidad de la prueba, la sensibilidad y especificidad de las mismas. Una prueba tendrá una alta sensibilidad si tiene pocos falsos negativos y es muy necesaria para estudios de transfusión y para analizar donaciones de sangre.

Una prueba tendrá una alta especificidad cuando tiene pocos falsos positivos y es muy útil para el diagnóstico del VIH y para el manejo de individuos infectados o no con el Virus.

Para el diagnóstico de la infección por el VIH, en los laboratorios de Profamilia se utilizan pruebas de cribado o tamizaje (con una sensibilidad igual o mayor a 99%) que en caso de reaccionar se confirma con otra de una especificidad igual o mayor 98%.

Ambas se basan en métodos indirectos, que son aquellos que identifican la presencia de los anticuerpos que aparecen entre la 4ta y 8va semana posterior a la infección. Estos métodos no detectan la infección durante el periodo de ventana, que es el período comprendido entre el momento de la infección y la producción de anticuerpo por el organismo.

Pruebas utilizadas para diagnosticar la Infección por VIH

Las pruebas utilizadas para el diagnóstico de VIH son las técnicas ELISA y las pruebas rápidas. Las técnicas ELISA dependiendo del substrato y los métodos de detección puede ser: por colorimetría, fluorescencia, quimioluminiscencia, entre otros.

Las pruebas rápidas se clasifican en pruebas de aglutinación de partículas, inmunoconcentración e inmunocromatografía.

Acogiéndose a los lineamientos del MSP, las clínicas de Profamilia seleccionarán las pruebas para el diagnóstico de VIH con los criterios siguientes:

- Dos pruebas de diferentes preparaciones antigénicas, técnicas y/o fundamentos (Dos pruebas rápidas, dos ELISA o Una prueba rápida y un ELISA).
- La primera prueba (tamizaje) tendrá una sensibilidad igual o mayor a 99 %, esta prueba tiene la habilidad de detectar las muestras que contienen anticuerpos anti VIH, (verdaderos positivos).
- La segunda prueba (confirmatoria) tendrá una especificidad igual o mayor a 98%, tiene la habilidad de detectar las muestras que no tienen anticuerpos anti-VIH (negativos verdaderos)
- Las pruebas serán capaces de identificar los anticuerpos al VIH-1 y VIH-2 y las inmunoglobulinas G y M

Interpretación y reporte de los resultados en laboratorio.

- A toda muestra se le realizará una prueba de anticuerpo, los sueros que no reaccionan se consideran negativos.
- Los sueros que reaccionen se le realizara una segunda prueba, los sueros que reaccionan a ambas pruebas se consideran positivos.
- Las situaciones indeterminadas se producen cuando la primera prueba reaccione y la segunda **No**, se procede entonces a realizar una tercera prueba diferente de las dos primeras, esta se realiza con la misma muestra. De no contar con la tercera prueba, el laboratorio no emitirá resultado, sino que comunicará la situación al consejero para que con una orientación adecuada le comunique al/la usuario/a que debe volver a tomarse una muestra en un periodo no menor de catorce (14) días. Esta muestra será procesada en el laboratorio por las dos pruebas iniciales.

- Las situaciones indeterminadas se producen por algunas patologías o situaciones orgánicas en las que se forman proteínas parecidas a las del VIH o por no haber completado la seroconversión..

Procedimiento de la entrega de los resultados en el laboratorio.

Todos los resultados VIH los entrega el servicio de consejería, en los negativos se enfatiza el periodo de ventana, reforzando las medidas de disminución de riesgos y uso de condón como protección.

Sífilis, definición y sus diferentes estadios:

La sífilis es una enfermedad exclusiva del humano. Su agente causal pertenece al género *Treponema* y se denomina *Treponema pallidum*. Tiene un período de incubación de 12 a 90 días con una media de 21 días.

Se transmite por vía sexual, de madre a hijo (transmisión vertical), por transfusión y por objetos contaminados.

En el curso natural de la sífilis se diferencian varios estadios:

- a) Primaria.
- b) Secundaria.
- c) Latente precoz.
- d) Latente tardía.
- e) Terciaria.

Las pruebas serológicas para el diagnóstico de Sífilis pueden dividirse en dos tipos: Treponémicas y No Treponémicas.

- Pruebas treponémicas
- FTA-ABS 200. Inmunofluorescencia indirecta con absorción del suero
- FTA-ABS 200 DS, Inmunofluorescencia indirecta con absorción y doble tinción. Utiliza el mismo antígeno y absorbente que en la prueba anterior y puede llevarse a cabo sobre el mismo tipo de muestras.
- TPHA.; Micro hemaglutinación. Utiliza eritrocitos sensibilizados con antígenos de *Treponema*
- ELISA IgG. Para utilizar con suero. Existen muchos estudios que demuestran su alta sensibilidad y especificidad.

- Pruebas No Treponémicas.
- V.D.R.L. Venereal Research Disease Laboratory (Investigación de Enfermedades Venéreas): se realiza solo en suero, es un antígeno no particulado. La reacción que se obtiene con la muestra positiva es de floculación y la lectura es microscópica.
- R.P.R. Rapid Plasma Reagina (Reagina rápida en plasma): Puede utilizarse con suero y plasma, es un antígeno con partículas de carbón.
- TRUST, Tolidin Red Unheated Serum Test (Rojo de Tolidina sin calentamiento), puede realizarse con suero o plasma. Es el mismo antígeno del VDRL con partículas coloreadas con rojo de toluidina.
- U.S.R., Unheated Serum Reagin (Suero y Reagina sin calentamiento), se realiza con suero, el antígeno no es particulado y la reacción es de floculación la lectura es microscópica.
- E.L.I.S.A. Se utiliza con suero, Utiliza en la fase sólida antígenos del tipo VDRL.

Los reactivos y equipos para el diagnóstico de sífilis serán seleccionados de acuerdo a la oferta de servicio y a la complejidad del laboratorio. Para tales fines, también se deben considerar las técnicas ideales de acuerdo a las etapas de la infección, por lo que el algoritmo para el diagnóstico dependerá del estadio de la enfermedad.

Etapas primarias:

En los primeros días de esta etapa, el Treponema se encuentra localizado en el lugar de la inoculación o úlcera, por tanto la técnica recomendada es la de campo oscuro o de Inmunofluorescencia directa. Al final del estadio una prueba no treponémica puede comenzar a titular.

Etapas secundaria y Latente precoz:

En estas dos etapas se pueden realizar pruebas no treponémicas (RPR, USR, VDRL u otra). En caso de títulos bajos (1:4 o menor) se confirma con una treponémica; en títulos altos (>1:4) no es necesario confirmar, pues las reacciones por otros treponemas o situaciones orgánicas no suelen producir titulaciones elevadas.

Etapas latentes (tardía y terciaria):

Las pruebas recomendadas son el FTA-ABS y el TPHA. En la terciaria se sugiere, además, realizar VDRL en líquido cefalorraquídeo (esta prueba permanece reactiva de por vida).

En el caso de las embarazadas, en cumplimiento con lo establecido por el Ministerio de Salud Pública en la Estrategia de Eliminación de la Transmisión Materno Infantil del VIH y la Sífilis Congénita (ENETMI), se utilizará una prueba Treponémica Inmunocromatográfica y las que tengan resultados positivos serán tituladas con una no treponémica.

Causas de reacciones cruzadas en las pruebas para el diagnóstico de Sífilis

Las pruebas para el diagnóstico de sífilis suelen tener reacciones cruzadas (falsos positivo o negativo), lo cual puede ser a causa del tipo de reactivo utilizado, situaciones con la muestra o a condiciones propias del organismo, tal como lo muestra el cuadro No. 3.

Causas de reacciones cruzadas en la prueba de sífilis		
Causa de falsos positivos		Falsos negativos
<ul style="list-style-type: none"> • Embarazos. • Lupus. • Artritis. • Muestras hemolizadas lipémicas. • Infecciones por otros treponemas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Leptospira. • Malaria. • Lepra. • Drogadicción. • Tiempo prolongado en el rotador. • Otras. 	<ul style="list-style-type: none"> • Fases tempranas de la infección. • Muestras con títulos muy altos (fenómeno de prozona). • Reactivos deteriorados. • Fenómeno de prozona y postzona.

Interpretación de pruebas serológicas según sus reacciones	
No treponémica (-)	Se excluye la infección. Aunque es poco frecuente, podría ser una infección reciente. Por tanto, si existe sospecha de la infección, debe repetirse la prueba entre 15 y 21 días.
Treponémica (-)	
No treponémica (+)	Infección activa, especialmente con títulos altos (>1/4). A títulos bajos podría deberse a una sífilis antiguamente tratada o en monitoreo a tratamiento.
Treponémica (+)	
No treponémica (-)	Generalmente se debe a una sífilis antigua tratada no activa, debido a que la prueba treponémica mide IgG e IgM.
Treponémica (+)	
No treponémica (+)	Se recomienda repetir utilizando otro método de prueba treponémica. Si continua negativo se trata de un resultado falso positivo de la prueba no treponémica y, por tanto, ausencia de infección.
Treponémica (-)	

Hepatitis B

Definición

Es una enfermedad infecciosa del hígado causada por el virus de la hepatitis B (VHB). Durante el proceso agudo de la infección, del 10 al 15 % puede quedar como portador asintomático y el resto puede tener una curación completa, quedando a su vez inmune a la infección. Un 20% de los portadores asintomáticos son propensos a desarrollar cirrosis o carcinoma hepático.

La mayoría de las veces el diagnóstico de la hepatitis B, generalmente se limita a la realización del antígeno de superficie (HBsAg) sin considerar la importancia de la orientación o consejería que debe acompañar el resultado de esta prueba, sobre todo en los casos positivos.

Técnicas recomendadas para el diagnóstico de Hepatitis B

Las clínicas utilizarán las técnicas de pruebas rápidas o ELISA, dependiendo

de la complejidad y el volumen de muestras que manejen, asegurando el uso de productos de calidad y las pruebas de tercera generación, a fin de disminuir la probabilidad de resultados falso-negativos.

Algoritmo diagnóstico de Hepatitis B

Se realizará la prueba de anticuerpo al virus de la hepatitis B, y si el resultado es negativo se concluirá como ausencia de infección por VHB. Sin embargo, si el resultado es positivo se confirma con otra prueba y si esta reacciona se concluye como positivo y se entrega al usuario.

Si la segunda prueba no reacciona se procesa con otra diferente a las dos primeras y el resultados de esta es concluyente, si reacciona se concluye positivo, si no reacciona se concluye negativo.

Hepatitis C

Definición

El virus de la hepatitis C (VHC) produce un proceso inflamatorio del hígado. Se transmite principalmente por la vía parenteral y, de manera menos frecuente, por la vía sexual. La hepatitis C en 30% de los casos desarrolla hepatitis crónica activa, pudiendo tener remisión espontánea o desarrollar cirrosis hepática o hepatocarcinoma.

La presencia de los anticuerpos a la hepatitis C es indicadora de infección presente o pasada. La detección de anticuerpos anti-VHC en suero se realiza mediante técnicas de ELISA e Inmuncromatográfica que detectan diferentes antígenos específicos del VHC. La sensibilidad y especificidad en pacientes inmunocompetentes con hepatitis crónica es de 99%, sin embargo, en sujetos inmunosuprimidos su sensibilidad es inferior, por lo que un resultado negativo no descarta completamente la infección.

Técnicas recomendadas para el diagnóstico de Hepatitis C

Las técnicas serán utilizadas según la conveniencia de la clínica, dependiendo de su complejidad y del volumen de muestras que manejen, asegurando de esa manera el uso de productos de calidad. Además, se velará porque siempre contengan las glicoproteínas necesarias para la identificación de las distintas fases de la infección.

Algoritmo diagnóstico para Hepatitis C

Se realizará la prueba de anticuerpos al virus de la hepatitis C, si el resultado es negativo se concluirá como ausencia de infección por VHC. Si el resultado es positivo, se confirmará con una carga viral para VHC; mientras que, si el resultado de esta es positivo, se concluirá como una infección por VHC.

Clamidia trachomatis

Definición

También conocida como *Chlamydia trachomatis* es una de las bacterias de transmisión sexual más frecuentes en el mundo, estimándose alrededor de 89 millones de casos nuevos cada año. Es una bacteria intracelular Gram negativa que puede transmitirse por sexo oral, por vía vaginal o anal, y de una madre a su bebé durante un parto vaginal. La infección se caracteriza por la producción de secreción mucoide, principalmente en los genitales. Las infecciones causadas por *Chlamydia trachomatis* pueden diagnosticarse por serología y detección de anticuerpos IgG, IgM, PCR e Inmunofluorescencia directa.

Técnica recomendada para el diagnóstico de Clamidia

Existen diferentes métodos para el diagnóstico de Clamidia, entre los que se mencionan: cultivo, pruebas de ELISA, ensayo de hibridación de ADN, Ensayos de amplificación de material genético y prueba rápida por cromatografía, entre otros.

Las clínicas Profamilia utilizarán el método de ELISA para el diagnóstico de Clamidia, en la cual utiliza suero, teniendo la ventaja que es una muestra de más fácil obtención. En caso de no contar con equipo de ELISA se recomienda la Prueba rápida por cromatografía, esta se realiza en secreción endocervical y uretral. De ser posible, los resultados positivos serán confirmados por Inmunofluorescencia directa.

Las secreciones endocervical y uretral teñidas deben teñirse con Gram, si en estas se observan glóbulos blancos en cantidad de 9 o más por campo es un indicador de la infección por Clamidia.

Neisseria gonorrhoeae (uretritis gonocócica)

La *Neisseria gonorrhoeae* fue descubierta en 1879 por Albert Neisser. Es un diplococo Gram negativo oxidasa positiva, fermenta los carbohidratos,

específicamente la glucosa. Se caracteriza por ser de difícil cultivo, siendo muy exigente a nivel nutricional y a la vez muy sensible a sustancias que se encuentran en los medios de cultivo corrientes. Se utiliza para este fin medios selectivos enriquecidos con factores de crecimiento o selectivos, como el medio de Thayer-Martin, requiere una atmósfera con 5-10% de CO₂.

Las cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, también conocida comúnmente como "gonococo", se transmite por contacto sexual, pueden infectar las superficies mucosas urogenitales (cuello del útero, uretra, recto) y el oro y nasofaringe (garganta), causando infecciones sintomáticas o asintomáticas.

Pruebas diagnósticas para *Neisseria Gonorrhoeae*

Tinción de Gram: recomendada principalmente para el diagnóstico en hombres.

Cultivo en medio de Thayer Martin: Es el recomendado para mujeres y niñas, pues en ellas pueden aparecer otros diplococos no relacionados con la gonorrea; también se recomienda en pacientes asintomáticos por tener mayor sensibilidad que la tinción de Gram.

Si existe la disponibilidad de aplicar los dos métodos se deben realizar ambos, a fin de obtener un diagnóstico más seguro, sobre todo en infección ocular entre recién nacidos.

Tricomona (*Trichomona vaginalis*)

Definición:

La tricomoniasis es una infección producida la *Trichomona vaginalis*, es un protozoo en forma de pera de 12-25 µm de longitud, con cuatro flagelos anteriores libres y un flagelo posterior al que va unido una membrana ondulante a todo lo largo del cuerpo.

Puede reproducirse en el aparato genitourinario. Se transmite por contacto sexual o por objetos contaminados y tiene un periodo de incubación es 2 a 8 días.

Entre los síntomas más frecuentes de la tricomoniasis están: ardor, prurito, disuria, polaquiuera y dispareunia.

En la mujer produce un flujo abundante de color blanco amarillento o amarillo verdoso, con aspecto espumoso y olor desagradable. Microscópicamente se observan la presencia de polimorfonucleares neutrofilos. Además al examen

físico se puede constatar la existencia de vulvitis con un enrojecimiento que se puede extender al perineo y zona perianal.

Prueba diagnóstica para Tricomona

Se utiliza el método directo, donde una muestra fresca es colocada en solución salina fisiológica (0.9%) para ser analizada ante el microscopio. Es la forma más recomendada por ser efectiva, económica y rápida.

Toma de Muestra: debe ser realizada por el médico

Con un hisopo estéril se toma la muestra del fondo de saco posterior de la vagina y se coloca en un tubo de ensayo con 0.3 ml de solución salina mover el hisopo en el tubo y apretar contra las paredes de este, descartar el hisopo en envase para desechos biológicos

Preparación de la Muestra:

- Colocar con un gotero una gota de la muestra en el portaobjeto.
- Colocar cubre objetos
- Leer al microscopio

Interpretación:

Positivo: presencia de Tricomona

Negativo: ausencia de Tricomona.

Investigación Tricomona en hombres

Los tipos de muestra son:

- Secreción uretral
- Raspado de la uretra
- Secreciones del sub prepucio
- Erosión del glande.

Preparación del Paciente:

Si la muestra es de uretra debe tomarse antes de la primera micción de orina.

Método: Directo

Toma de Muestra: Debe ser realizada por el médico

Pueden ser tomada de la secreción de la uretra o secreción subprepuccial con un hisopo y colocarlo en 0.3 ml de solución salina o con un raspado suave de las erosiones del glande o surco balanoprepucial, en caso de que no haya secreción evidente.

Procedimiento:

Mezclar la muestra suave y con gotero desechable, colocar una gota de la muestra en solución salina en el portaobjeto, colocar el cubre objeto y leer al microscopio:

Interpretación:

Positivo: presencia de Tricomona

Negativo: ausencia de Tricomona

Gardnerella (*Gardnerella vaginalis*)

Definición

Es un bacilo causante de la vaginosis bacteriana, caracterizada por un desequilibrio en la flora saprófita normal de la vagina con una disminución de *Lactobacillus spp* por un sobre crecimiento poblacional de *Gardnerella vaginalis* y de otras bacterias aerobias y anaerobias.

Esta bacteria también es inmóvil y anaerobia facultativa; además, no es capsulada y no forma esporas. Anteriormente era conocida como *Haemophilus vaginalis*. Su hábitat natural es la vagina humana.

Aunque no es una infección de Transmisión Sexual se incluye dentro de la pruebas debido a que la presencia de esta bacteria en cantidades anormales junto con la sintomatología que presenta, puede ser indicador de la existencia de alguna ITS.

A través del método directo se coloca una muestra fresca en un portaobjeto y dentro de una solución salina para analizarla ante el microscopio. Es el más recomendado por ser efectivo, económico y rápido.

Prueba diagnóstica para *Gardnerella vaginalis*; método directo

Toma de muestra, la debe hacer el médico y se hace tomando con un hisopo estéril la muestra del fondo de saco posterior de la vagina y colocarla en un tubo de ensayo con 0.3 ml de solución salina fisiología (0.9%) mover

el hisopo en el tubo y apretar contra las paredes de este, descartar el hisopo en envase para desechos biológicos

- **Lectura al microscopio:** Buscar las células indicadoras o células guía: estas son células escamosas llenas de cocobacilos diminutos que le dan un aspecto punteado y se disponen en forma de banco de peces.

Interpretación:

Positivo: Presencia de células guía

Negativo: Ausencia de células guía

Prueba de KOH, se utiliza como prueba confirmatoria.

Procedimiento de KOH:

- Colocar una gota de la muestra en solución salina normal en un portaobjeto
- agregar una gota de KOH al 10%

Interpretación:

Positivo: Percepción olor a pescado

Negativo: Ausencia olor a pescado

Cándida

Definición

Es una infección fúngica (micosis) de cualquiera de las especies de cándida (*albicans*, *glabrata*, *parapsilosis*, *krusei*, *guilliermondii*, *tropicalis*), aunque la más común es la *Cándida albicans*. Frecuentemente es referida como una infección por deuteromicetes, pero también es técnicamente conocida como moniliasis.

La cándida se encuentra de forma saprofita en el organismo y bajo ciertas condiciones que provocan un desequilibrio de la flora normal, las cándidas proliferan y provocan una enfermedad llamada candidiasis que se caracteriza por un flujo blanco grumoso y un prurito intenso a nivel de genitales.

Prueba para el diagnóstico de cándida

Toma de muestra:

Preparación del Paciente: No deberá usar previamente anti fúngicos o cremas

Muestra: Secreción vaginal que debe ser tomada por el médico.

Se puede investigar:

En vagina de niñas y mujeres adultas

Áreas externas lesionadas de los genitales externos

En genitales masculinos

Toma de muestra en pacientes masculinos y femeninos

Si hay lesiones en los genitales, mojar el hisopo estéril con solución salina normal, frotar la lesión externa y colocar la muestra en 0.3 ml de solución salina fisiológica (0.9%).

Puede ser tomada a partir de la uretra con hisopo estéril especial para la uretra masculina.

Método: Directo

Materiales:

Tubo de ensayo 13x100mm

Portaobjeto

Cubreobjeto 22x22

Hisopo estériles

Gotero desechable

Reactivos:

Solución salina normal

KOH al 10%

Procedimiento

Se coloca una gota de la suspensión obtenida en un porta objeto con ayuda de un gotero desechable Colocar el cubreobjeto. Enfocar en el lente 10x, pasar al de 40x.

Si hay presencia de grumos agregar una gota de KOH al 10% a la suspensión de la muestra, lo cual diluye los grumos y permite observar pseudomicelios para verificar la presencia de infección activa.

Interpretación:

Positivo: Presencia de cándida (células levaduriformes y/o pseudomicelios)
Reportar los pseudomicelios si los hay.

Negativo: No se observan células levaduriformes ni Pseudomicelios

Investigación de Células de Tzanck:

Es una prueba rápida sencilla que se usa en casos de Herpes virus en la que a partir de contenidos de vesículas o úlceras colocadas en portaobjetos fijadas con metanol y teñidas con Giemsa para buscar células gigantes multilobuladas en respuesta a la infección viral (células de Tzanck), tiene una sensibilidad de un 85-90% a partir de las muestras tomadas de las vesículas que contienen gran cantidad de partículas virales.

Toma de muestra:

A partir de úlceras: se toma del exudado tocando la ulcera con el porta objeto y luego de dejar secar, teñir con Giemsa.

Interpretación:

Positivo: presencia de células de Tzanck (células gigantes multinucleadas)

Negativo: ausencia de células de Tzanck

Limitaciones

En los frotis de Tzanck no diferencian entre VHS-1 y VHS-2

Cultivo Celular

Es el método de diagnóstico de laboratorio más sensible para la detección de HVS, su especificidad es del 100%, pero no diferencia entre VHS-1 y VHS-2.

Chancro blando (*Haemophilus ducreyi* o bacilo de ducreyi)

Definición

Caracterizada por llagas dolorosas en los genitales (chancros), con una base eritematosa que se transforma en una ulceración dolorosa con linfadenopatía asociada.

Pruebas diagnósticas para chancro blando:

Frotis directo

Frotis directo en el que se observan estreptobacilos Gram negativo que dan el aspecto de cadena de bacilos o banco de peces, tiene una sensibilidad de 50% o menos.

Fundamento:

Partir de muestras tomadas de los bordes de la ulceras y teñirlo con coloración de Gram.

Limitación del método: debe ser leída por una persona experta que diferencie los bacilos paralelos de otros bacilos presentes en la úlcera.

Toma de muestra-Frotis directo

1. Limpiar la úlcera (con gasa mojada en solución salina fisiológica)
2. Hacer un raspado de los bordes de la úlcera con ayuda de una asa estéril.
3. Colocar la muestra obtenida en línea recta en el porta objeto (para mantener la disposición de los bacilos)
4. Dejar secar al aire
5. Fijar al calor (suave)
6. Teñir con coloración de Gram.
7. Dejar secar al aire
8. Leer al microscopio

Cultivo: Solo usado para investigación

Linfogranuloma venéreo

Es una infección de transmisión sexual que afecta los ganglios linfáticos del área genital, es causada por la bacteria *Clamydia Trachomatis* L1, L2, L3, se trasmite por contacto sexual, por penetración vaginal, anal u oral. Se presenta como una lesión indolora que se convierte en una úlcera, generalmente en la región inguinal, con aumento doloroso de los ganglios inguinales que deben dejarse drenar espontáneamente. En caso de no ser tratada adecuadamente pueden aparecer complicaciones y, en ocasiones, quedar secuelas permanentes.

Prueba diagnóstica para Linfogranuloma venéreo

- a) Frotis de la secreción (contenido del bubón).
- b) Cultivo para clamidia.
- c) Pruebas serológicas, principalmente fijación del complemento (con título = 1:64) y anticuerpos monoclonales para clamidia.

Granuloma inguinal (*Donovania granulomatis* o *Klebsiella granulomatis*)

Es una infección relativamente común en las áreas tropicales y subtropicales del mundo, como el sudeste de India, Guyana, Nueva Guinea u otros.

La infección se disemina sobre todo a través de la relación sexual vaginal o anal y rara vez se propaga durante el sexo oral. Se caracteriza por la presencia de una úlcera genital, lentamente progresiva, indolora, con tejido de granulación friable y rojo intenso.

Prueba diagnóstica para Granuloma inguinal

Biopsia de la lesión: frotis por aposición para coloración Giemsa, los cuerpos de Donovan que son inclusiones intracelulares en forma de bastón, ovaladas, que se tiñen más hacia los extremos que se observan en el citoplasma de los macrófagos e histiocitos encontrados en las lesiones. Estas inclusiones intracelulares son especímenes de *Klebsiella granulomatis* encapsulados.

Toma de muestra: debe ser realizada por el médico que trata la úlcera para hacer frotis por aposición y teñida con Giemsa.

Interpretación:

Negativo: Ausencia del cuerpo de Donovan.

Positivo: Presencia de cuerpo o corpúsculo de Donovan.

Virus del papiloma humano (VPH)

La infección de por VPH es una de las ITS de mayor ocurrencia en el mundo. El virus de VPH ha sido identificado como agente causal de carcinoma de cuello de útero. Se clasifican en géneros, los más importantes son los que infectan la piel y mucosas (Papillomas virus) y los que infectan la piel asociado asociada a la epidermodisplasia verruciforme (β -papilloma virus). Siendo así el agente causal de condilomas acuminados o verrugas ano-genitales y de mayorías de casos de cáncer cervico-uterino.

Existen más de 100 tipos, pero las cepas 16 y 18 asociados a neoplasia intraepitelial (cáncer cervicouterino, ano, pene y orofaringe). Las 6 y 11 se asocian con mayor frecuencia a verrugas genitales y tienen bajo riesgo de formación maligna. Otros tipos 16, 18, 31, 33,35 tiene fuerte asociación con cánceres anogenitales. Las lesiones por VPH de han clasificado en bajo riesgo, alto riesgo y virus carcinogénicos.

Generalmente se transmite mediante el contacto directo de la piel con piel y con más frecuencia durante el contacto genital con penetración (relaciones sexuales vaginales o anales) y otros tipos de contacto genital en ausencia de

penetración como: contacto oral-genital, manual-genital y genital-genital. Estos pueden causar una infección por el VPH, pero esas vías de transmisión son mucho menos comunes que la relación sexual con penetración.

La mayoría de las infecciones por el VPH son asintomáticas y desaparecen sin tratamiento. No obstante, algunas producen cambios en el epitelio o cáncer

Prueba diagnóstica para VPH

El diagnóstico de las infecciones manifiestas por el VPH generalmente son clínicas, la posible presencia de infecciones subclínicas, asintomáticas o latentes, así como la necesidad de determinación de la infección y del tipo de VPH que produce la lesión (de alto o bajo riesgo) por lo que se ha desarrollado, una variedad de técnicas diagnósticas.

Las técnicas disponibles son morfológicas para detección del virus (citología, colposcopia e histopatología, incluso de microscopía electrónica), inmunohistoquímicas para detección del antígeno (Ag) viral en la lesión, y basadas en la detección del ADN viral mediante hibridación o amplificación.

Técnicas:

Reacción en cadena de polimerasa (PCR):

La reacción en cadena de polimerasa es un método de amplificación molecular que permite identificar muy pequeñas cantidades del ADN objetivo en la muestra analizada. Tiene una elevada sensibilidad y es capaz de detectar hasta un mínimo de 10 copias de ADN viral entre 1 millón de células.

Captura de híbridos (CH2):

Es una técnica de amplificación de la señal, que da buenos resultados. La actual captura de híbridos de segunda generación "Hybrid Capture II®" (HC2) (única técnica molecular aceptada actualmente por la FDA para uso clínico).

Citomegalovirus

Es una infección viral producida por un virus de la familia herpes-virus. Se relaciona con los virus que causan la varicela y la mononucleosis infecciosa.

Algunas personas pueden sufrir síntomas como fiebre prolongada y una leve hepatitis, características de una mononucleosis infecciosa. Generalmente, estos síntomas pasan desapercibidos o se confunden con otras enfermedades. Se transmite a través de la sangre, la saliva, la orina, el semen y la leche materna.

Diagnóstico de laboratorio para Citomegalovirus

Las personas que han sido infectadas con Citomegalovirus desarrollan anticuerpos que persisten en el cuerpo.

Existen exámenes de laboratorio, tales como:

- a) Perfil de Torch para IgG e IgM, a fin de detectar los anticuerpos del CMV.
- b) Cultivo de orina y muestras de tejido, entre otras, utilizadas para detectar las infecciones activas.
- c) Carga viral.

Prueba de seguimiento a personas positiva a una ITS/VIH:

Las pruebas de seguimiento a personas positiva a algunas de las ITS depende de la particularidad de cada una. Al ser infecciones curables en su mayoría la respuesta al tratamiento es monitoreada por el cuadro clínico de los pacientes a excepción de la Sífilis que es monitoreada mediante pruebas no treponémica según los resultados de las titulaciones de estas.

En el caso de la Hepatitis B que generalmente lo primero en indicar el médico es el antígeno de superficie (HBsAg), que de tener resultado positivo se realizan los diferentes marcadores serológicos (o combinaciones de estos), los cuales permitirán identificar las fases de la infección y determinar si un paciente tiene una infección aguda o crónica, si es inmune al VHB (como resultado de una infección previa o vacunación) o si es susceptible a la infección.

En el caso del VIH, el cual produce el SIDA, que es una enfermedad crónica por no tener curación, la salud de la persona es evaluada desde que es diagnosticada con el objetivo de conocer su situación inmunológica, virológica y fisiológica.

Para evaluación Inmunológica y Viroológica, están los CD4 y la Carga Viral, debido a la complejidad de estas pruebas, su realización es limitada a laboratorios específicos, por lo que serán referidas a estos según su ubicación geográfica.

Las pruebas de evaluación fisiológica para el VIH son Hemograma, Glicemia, AST, ALT, Lipasa, amilasa, Examen de orina, entre otras a criterio del médico tratante. También se incluye el diagnóstico de otras ITS, como Sífilis, Hepatitis B y Hepatitis C. Estas pruebas serán realizadas en los laboratorios de las Clínicas Profamilia, salvo aquellos casos que no tengan la disponibilidad para los cual serán referidas según logística y acuerdos administrativos establecidos.

Prueba de ADN-Proviral

Es la prueba que se les realiza a los niños nacidos de madres VIH (+) para descartar la transmisión materno infantil del VIH. El único laboratorio que lo realiza en el país es el Laboratorio Nacional de Salud Pública Dr. Defilló. Las clínicas de Profamilia que oferten el servicio de toma de muestra coordinarán con las direcciones de servicios regionales correspondientes para el envío de las muestras al Laboratorio Nacional.

Bibliografía

Curso de Gestión de Calidad para los Laboratorios. Módulo 3 [Sección del libro] / aut. Ortiz R. L. / Eiros, J. B.. - Washington D. C. : [s.n.].

Educación continuada en el Laboratorio Clínico [En línea] / aut. Comité de educación, M.C (Presidenta), D.Balsels, M. Gassó, J. A. Merino, A. Moreno, M. Rodríguez . - Nov. de 2009.

El VIH y la patogénesis del SIDA [Libro] / aut. Levy Jay A.. - Mexico D. F. : Impresora y Encuadernadora Progreso , S. A. , 2008.

Guía clínica para la Eliminación de la Transmisión Maternoinfantil del VIH y de la Sífilis Congénita en América Latina y el Caribe [Sección del libro] / aut. Organización Panamericana de la Salud (OPS). - 2010.

Guía Diagnóstico Temprano en Infantes y Atención Clínica en VIH/SIDA Pediátrico [Libro] / aut. Dirección General de control de las Infecciones de Transmisión Sexual y SIDA, MSP. - Santo Domingo, R. D. : [s.n.], 2013.

Guía para la realización de pruebas para el diagnóstico de ITS/VIH [Sección del libro] / aut. Dirección General de Control de las Infecciones de Transmisión Sexual y SIDA, MSP.. - Santo Domingo : DPS Soluciones Gráficas, 2014.

<http://www.fei.es> [En línea] / aut. Fuerte Antonio. - 2014.

Módulo práctico para las pruebas diagnósticas de las ITS. [Libro] / aut. Dirección General de Control de las Infecciones de Transmisión Sexual y SIDA, DIGECITSS-MSP-. - Santo Domingo, Rep Dom.: [s.n.], 2013.

Norma Nacional Para la Prevención y Atención de las Infecciones de Transmisión Sexual y SIDA [Libro] / aut. (DIGECITSS) Dirección General de Control de las Infecciones de Transmisión Sexual y Sida. - Santo Domingo : Impresora De Wint, S.R.L., 2012.

Pautas para aplicar las técnicas de los exámenes de detección del VIH a la vigilancia de la infección: Selección, evaluación y uso [Libro] / aut. ONUSIDA/OMS. - 2001.

Pautas para aplicar técnicas de los exámenes de detección del VIH a la Vigilancia de la infección: selección [Libro] / aut. ONUSIDA/OMS.

Pautas para la vigilancia de infecciones de Transmisión Sexual [Libro] / aut. ONUSIDA/OMS.

www.cdc.gov/hepatitis [En línea] / aut. Centros para el Control y prevención de enfermedades (CDC). - 2005.

ANEXOS

Coloración de Gram

Fundamento:

La división de las bacterias en Gram positivas y Gram negativas se debe a las diferencias químicas y físicas en su estructuración celular. Se les dice bacteria Gram positiva a las bacterias que se visualizan de color moradas y bacteria Gram negativa a las que se visualizan de color rojo.

Procedimiento:

- Usar Portaobjetos nuevos y limpios (en alcohol y secados al aire o papel suave).
- En ITS usar extendido de secreciones de paciente.

- De ser una colonia de cultivo: Colocar una gota de solución salina estéril en el portaobjeto.
- Se toma una colonia con el asa en el portaobjeto y se homogeniza en la gota.
- Dejar secar.
- Fijar con calor 2 o 3 veces suave para no sobre calentar (con el material hacia arriba).
- Dejar enfriar.

Colorear:

- Cubrir el extendido con cristal violeta: 1 minuto
- Lavar con agua
- Cubrir con solución de Lugol: 1 minuto
- Lavar con agua.
- Decolorar con alcohol-cetona: 10 a 15 segundos
- Lavar con agua
- Cubrir con safranina: 1 minuto
- Lavar con agua.
- Dejar secar al aire.

Interpretación:

- Gram Positivas: se observarán color violeta
- Gram Negativas: se observarán color rosado o rojo
- Gram Variables: se observarán células parcialmente gram-positivas con algunas células gram-negativas. Esto puede deberse a:
 - Un extendido con espesor variable,
 - Decoloración incompleta,
 - Exceso coloración,
 - Presencia de células viejas,
 - Daño en las paredes celulares,
 - Naturaleza gram-variable de un microorganismo en particular.

Control de calidad:

- Junto a los frotis del paciente teñir un control positivo y negativo, diario o semanal y hacer registro.
- Gram negativo E.coli ATCC 25922
- Gram positivo E. aureus ATCC 25923
- De estos controles hacer extendidos en portaobjeto nuevo esmerilado, listo para usar.

Coloración Giemsa

Solución Giemsa Madre:

- Disolver 4.56 gr de Giemsa en 300 ml de glicerina (Calentada 56⁰ por 30 minutos)
- 300 ml de metanol
- Mezclar y guardar en frasco oscuro (usar después de 5 días)
- Poner en frasco tapado con etiqueta de identificación y fecha de preparación.

Solución de trabajo

- Mezclar 45 ml de agua destilada con 5 ml de Giemsa madre (filtrar la cantidad a utilizar) esta solución es la 1/50.
- Poner en frasco tapado con etiqueta de identificación y fecha de preparación

Preparación en fresco:

Es la observación directa sin tinción, se puede tener información rápida a través de observación microscópica de la muestra, para la búsqueda de hongos, bacterias y parásitos. La muestra se coloca en solución salina fisiológica (09%) o en solución de KOH al 10%, en suero salino podemos ver la presencia de Tricomona, Levadura y Gardnerella. En KOH se busca la presencia de hongos y se confirma el aumento de Gardnerella.

Preparación KOH al 10%:

- Pesar 10 gr de KOH y disolver en 100 ml de agua destilada
- Guardarlo en un frasco tapado
- Etiquetar con nombre del producto y fecha de preparación