



CE - RPR Carbon -

RPR CARBON
Aglutinación en porta

Conservar entre: +2+8° C.

Presentación:
Cod. SE013 125 Test.
Cod. SE014 250 Test.

Procedimiento

Reactivo de diagnóstico para determinación cualitativa de reaginas plasmáticas (RPR).

Solo para uso "in vitro" en laboratorio de análisis (IVD)

PRINCIPIO DEL TEST

RPR-carbón es una técnica no treponémica de aglutinación en porta para la detección cualitativa y semicuantitativa de reaginas plasmáticas en suero humano. Las partículas de carbón sensibilizadas con una mezcla de lípidos, son aglutinadas en presencia de reaginas presentes en la muestra del paciente afectado por sífilis.

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS

Carbón	Partículas de carbón sensibilizadas con una mezcla de lípidos, cardioliipina, lecitina y colesterol-, en tampón fosfato 20 mmol/L. Conservante.
Control (+)	Suero artificial con un título de reaginas $\geq 1/4$.
Control (-)	Suero animal. Conservante.

PRECAUCIONES

Control +: H319-Provoca irritación ocular grave.
Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

REACTIVOS PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

RPR-carbón: Homogeneizar el reactivo con suavidad antes de su uso. Abrir el vial de RPR-carbón y acoplar la micropipeta al vial dispensador de plástico y aspirar por succión la cantidad de reactivo necesaria. Una vez terminado el ensayo, devolver la cantidad sobrante a su envase original y lavar la micropipeta y vial con agua destilada.

No congelar: la congelación de los reactivos altera irreversiblemente la funcionalidad de éstos.

Conservar los viales siempre en posición vertical. En caso de cambio de posición agitar hasta la disolución de posibles agregados.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso.

CALIBRACIÓN

La sensibilidad del reactivo está estandarizada frente el Estándar Internacional de Sífilis de OMS (WHO 1st standard Human Syphilitic Serum, ref. 05/132).

MUESTRAS

Suero fresco o plasma. Estable 7 días a 2-8° C. o 3 meses a -20° C. Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de la prueba. No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

Descartar muestras contaminadas.

MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

- Agitador mecánico rotatorio de velocidad regulable a 80-100 r.p.m.
- Cámara húmeda.
- Agitador vortex.
- Pipetas de 50 μ L.

Material de laboratorio en general.

PROCEDIMIENTO

Preparación:

RPR-carbón: Homogeneizar el reactivo con suavidad antes de su uso. Abrir el vial de RPR-carbón y acoplar la micropipeta al vial dispensador de plástico y aspirar por succión la cantidad de reactivo necesaria. Una vez terminado el ensayo, devolver la cantidad sobrante a su envase original y lavar la micropipeta y vial con agua destilada.

Método cualitativo

1. Atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente. La sensibilidad del ensayo disminuye a temperaturas bajas.
2. Depositar 50 μ L de la muestra a ensayar y una gota de cada uno de los controles Positivo y Negativo, sobre círculos distintos de un porta.
3. Mezclar el reactivo de RPR-carbón vigorosamente o con el agitador vortex antes de usar. Invertir el vial dispensador y presionar ligeramente para eliminar las burbujas de aire.
4. Situar la micropipeta en posición vertical y perpendicular al porta, y dispensar una gota (20 μ L) de este reactivo junto a cada una de las gotas anteriores.

5. Mezclar las gotas con un palillo, procurando extender la mezcla por toda la superficie interior del círculo. Emplear palillos distintos para cada muestra.
6. Situar el porta sobre un agitador rotatorio a 80 – 100 r.p.m. durante 8 minutos ^(Nota 1). El exceso de tiempo puede originar la aparición de falsos positivos.

Método semi-cuantitativo

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

LECTURA E INTERPRETACIÓN

Examinar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación inmediatamente después de retirar el porta del agitador. Agitar el porta manualmente un par de veces antes de realizar la lectura.

INTERPRETACIÓN

Tipo de aglutinación	LECTURA	Resultado
Agregados grandes o medianos	R	Reactivo
Agregados pequeños	W	Reactivo débil
Ningún agregado o ligera rugosidad	N	No Reactivo

En el método semicuantitativo, se define el título como la dilución mayor que da resultado positivo.

CONTROL DE CALIDAD

Los controles Positivo Negativo son recomendados para monitorizar la funcionalidad de la técnica, así como un modelo comparativo para una mejor interpretación del resultado.

Todo resultado distinto al resultado que da el control negativo, se considerará positivo.

Sueros control de reaginas plasmáticas son recomendables para un control de calidad interno. Cada laboratorio debe establecer su propio esquema de control de calidad, así como acciones correctivas.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Las reaginas son un grupo de anticuerpos dirigidos contra componentes del propio organismo, originadas en pacientes que sufren infección por *Treponema pallidum*, agente causal de la sífilis. Este microorganismo produce lesiones en el hígado y corazón, liberando al torrente circulatorio pequeños fragmentos de estos órganos no reconocidos por el propio individuo. El sistema inmunológico del paciente reacciona dando lugar a la formación de reaginas, -anticuerpos frente a estos fragmentos-.

El ensayo es útil para seguir la respuesta a la terapia antibiótica.
El diagnóstico clínico no debe basarse en un único resultado del test; Debe integrarse en otros datos clínicos y de laboratorio.

COMPORTAMIENTO DEL REACTIVO

- Sensibilidad analítica: determinación correcta del título del Material de Referencia en las condiciones descritas en el ensayo (ver calibración).
- Efecto prozona: No se observa efecto prozona hasta títulos $\geq 1/128$.
- Sensibilidad diagnóstica: 100 %.
- Especificidad diagnóstica: 100%.

SUBSTANCIAS QUE INTERFIEREN

- Bilirrubina (20 mg/L), hemoglobina (10 g/L) y lípidos (10 g/L), no interfieren.
- Los factores reumatoides (300 UI/mL), interfieren.
- Otras sustancias pueden interferir⁵.

LIMITACIONES DEL MÉTODO

- La prueba RPR-carbón no es específica para el diagnóstico de sífilis. Se recomienda el ensayo de todas las muestras Reactivas con métodos treponémicos como el TPHA y FTA-Abs para la confirmación de resultados.
- Un resultado negativo no excluye el diagnóstico de la sífilis. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.
- La mononucleosis infecciosa, neumonía viral, toxoplasmosis, embarazo y enfermedades autoinmunes pueden causar falsos resultados positivos.

NOTAS

1. Temperaturas elevadas del medio ambiente pueden provocar la desecación de la mezcla de reacción sobre el porta, dando lugar a un aspecto de "aglutinación" que puede confundirse con un falso positivo. Se recomienda realizar la prueba dentro de una cámara húmeda.

BIBLIOGRAFÍA

1. George P. Schmid. Current Opinion in Infectious Diseases 1994; 7: 34-40.
2. Sandra A Larsen et al. Clinical Microbiology Reviews 1995; 8 (1): 1-21.
3. Sandra Larsen et al. A manual of Test for Syphilis American Public Health.
4. Joseph Earle Moore et al. Gastrointestinal Hemorrhage 1952; 150(5): 467-473.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACCPress, 1995.



CHEMELEX, S.A.
Pol. Ind. Can Castells. C / Industria 113, Nave J
08420 Canovelles -BARCELONA-
Tel- 34 93 849 17 35 Fax- 34 93 846 78 75

DGPLSGDTT04-E
Rev.10 – 03/05/19