

RPR-carbon

PRESENTACION			
REF	2510010	RPR-carbon	100Tests
	2510025	RPR-carbon	500Tests
Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>			

RPR-carbon

Determinación de reagentes plasmáticas

PRUEBA EN PORTA Y MICROPLACA

FUNDAMENTO

El antígeno RPR-carbon es un preparado no treponémico especialmente diseñado para la detección y semi-cuantificación por coaglutinación macroscópica en porta o microplaca de reagentes plasmáticas, un grupo de anticuerpos dirigidos contra componentes tisulares producidos por los pacientes infectados por *T. pallidum*. La determinación rápida de las reagentes plasmáticas se efectúa ensayando el antígeno –una asociación de lípidos complejos y carbón- frente a las muestras problema. La presencia o ausencia de una aglutinación visible es indicativa de la presencia o ausencia de reagentes luéticas en las muestras ensayadas¹⁻⁴.

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS

R **Antígeno RPR-carbon.** Suspensión estabilizada conteniendo cardiolipina 0,003%, lecitina 0,020-0,022%, colesterol 0,09%, cloruro de colina 10%, EDTA 0,0125 mol/L, micropartículas de carbón 0,01%, en tampón fosfato. Contiene 0,95 g/L de azida sódica.

CONTROL+ RPR-VDRL. Suero humano. Contiene 0,95 g/L de azida sódica.

CONTROL- RPR-VDRL-TPHA. Suero animal. Contiene 0,95 g/L de azida sódica.


Precauciones: En la preparación de reactivos de origen humano, intervienen solamente materiales que, frente a técnicas probadas, han mostrado su negatividad frente a anticuerpos anti-HIV 1+2, anticuerpos anti-HCV y HBsAg. Tratarlos, no obstante, como si fueran potencialmente infecciosos.

CONTENIDO DEL ENVASE

REF 2510010, kit 100 tests. 1x2 mL Antígeno RPR-carbon, 1x1 mL Control positivo, 1x1 mL Control negativo, 1 aguja dosificadora, 1 vial dispensador, 3 Tarjetas visualizadoras (Nota 5) y 2x50 palillos desechables.

REF 2510025, kit 500 tests. 2x5 mL Antígeno RPR-carbon, 1x1 mL Control positivo, 1x1 mL Control negativo, 2 agujas dosificadoras, 2 viales dispensadores, 50 Tarjetas visualizadoras (Nota 5) y 10x50 palillos desechables.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

 Conservar a 2-8°C. No congelar los componentes del kit ya que podría verse afectada la funcionalidad del test.

Los reactivos y controles estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Descartar si se observan signos de deterioro:

- **RPR-Carbon:** Presencia de aglutinación.
- **Controles:** Presencia de partículas y turbidez.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

- **RPR-Carbon:** Resuspender el Antígeno con suavidad para asegurar su homogeneidad, acoplar la aguja dosificadora al vial dispensador y aspirar la cantidad de antígeno que se considere necesaria desde el vial de vidrio al vial dispensador de plástico.

- **Controles:** Listos para su uso.

MUESTRAS

Muestras frescas de suero o plasma claras sin inactivar, recogidas por procedimiento habitual. Estable 2 días a 2-10°C. Para periodos más largos, congelar a -20°C

EQUIPO ADICIONAL

- Pipetas de volumen variable.
- Solución salina 9 g/L, para técnica semi-cuantitativa.
- Agitador mecánico rotatorio de velocidad regulable a 100 r.p.m. que circunscriba un círculo de unos 2 cm de diámetro en el plano horizontal.
- Cronómetro.
- Material general de laboratorio.

TÉCNICA

I. Prueba cualitativa

1. Atemperar reactivos y muestras a temperatura ambiente (Nota 1).
2. Mediante una pipeta automática, depositar 50 µL de cada muestra en un círculo distinto de la tarjeta visualizadora. Emplear una punta nueva para cada muestra. En dos círculos adicionales, depositar 1 gota de los sueros control.
3. Agitar el vial dispensador del antígeno y manteniéndolo en posición vertical, y presionar ligeramente hasta asegurarse que la aguja está libre de aire y que la gota obtenida es correcta.
4. Con el vial dispensador invertido, situar la aguja en posición vertical perpendicular a la tarjeta visualizadora (Nota 2). Oprimir suavemente el vial dispensador, dosificando 1 gota de antígeno en cada círculo, próximo a la muestra a ensayarse (Nota 3).
5. Efectuar la mezcla con ayuda de un palillo desechable, extendiéndola de forma que cubra por completo la superficie interior de cada anillo. Emplear palillos distintos para cada mezcla.
6. Agitar la tarjeta en el agitador rotatorio horizontal, previamente ajustado a 100 r.p.m., durante **8 minutos**.
7. Observar, la presencia o ausencia de cualquier signo de aglutinación dentro del minuto siguiente a la retirada de la tarjeta del agitador.

Lectura

Reacción negativa: Las partículas de carbón permanecen en suspensión homogénea, sin presencia visible de agregados, tal como se presenta en el control negativo.

Reacción positiva: Un resultado positivo se manifiesta por una agregación de las partículas de carbón, que puede variar entre una ligera pero claramente definida agregación (W) y una marcada e intensa (R) (Nota 4).

II. Prueba cuantitativa

1. Para cada muestra a analizar se utilizan 5 círculos de una tarjeta pipeteando 50 µL de solución salina (9 g/L) en cada uno de ellos.

2. Pipetear 50 µL de muestra sobre el diluyente del primer círculo, y empleando la misma punta, mezclar mediante aspiraciones y expulsiones repetidas, transfiriendo 50 µL de la mezcla resultante sobre el diluyente del segundo círculo.
3. Continuar con la serie de dobles diluciones hasta el quinto círculo, desechando los 50 µL procedentes del mismo. Las diluciones finales obtenidas serán: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32.
4. Ensayar cada una de las diluciones tal como se describe en los pasos 3-7 de la Prueba cualitativa.

Lectura

Como en la Prueba cualitativa. El título de la muestra corresponde a la máxima dilución que presenta reactividad. La dilución siguiente debe ser negativa. En caso de resultar reactiva la dilución más alta ensayada, repetir el ensayo comenzando con una dilución preliminar al 1:16. Como diluyente de esta nueva serie de dobles diluciones se empleará Control negativo diluido al 1:50 con solución salina 9 g/L.

II. Prueba cualitativa en microplaca (fondo plano)

1. Mediante una pipeta automática depositar 50 µL de cada muestra en un pocillo distinto de la microplaca. Emplear una punta nueva para cada muestra. En dos pocillos adicionales, depositar 1 gota de cada uno de los sueros control.
2. Dosificar 1 gota de antígeno en cada pocillo de la microplaca que contienen las muestras a ensayar.
3. Situar la microplaca en el agitador rotatorio, previamente ajustado a 200 ± 50 r.p.m., y agitar durante **20 minutos**.
4. Observar con la ayuda de una lámpara de alta intensidad, sobre una superficie blanca, la aparición de cualquier signo de aglutinación dentro del minuto siguiente a la retirada de la microplaca del agitador.

Lectura

Como en la Prueba cualitativa sobre porta.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso diario de controles positivo y negativo para confirmar el correcto funcionamiento del reactivo. Ensayar los controles siguiendo los pasos descritos para la Prueba Cualitativa. El Control positivo debe producir una clara aglutinación. El Control negativo no provoca aglutinación. Si no se obtiene el resultado esperado, no utilice el kit. Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como los procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables

SIGNIFICADO CLINICO⁵

La sífilis es una enfermedad causada por la infección con la bacteria *Treponema pallidum* y que puede ser transmitida congénitamente o por contacto sexual. Ensayos no treponémicos, como la prueba del RPR, permiten un rápido muestreo de poblaciones y el inmediato tratamiento de pacientes con signos de positividad. En el diagnóstico clínico, los resultados de la determinación realizada con el reactivo de RPR-carbon deben ser considerados siempre en relación a los hallazgos clínicos y otras pruebas de laboratorio. La prueba de RPR-carbon proporciona sólo un resultado analítico preliminar. Todos los resultados positivos deberían confirmarse con pruebas treponémicas como el TPHA y FTA-ABS .

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

- La sensibilidad analítica es equivalente a la obtenida utilizando un Suero Reactivo Humano del Center of Disease Control (CDC), Atlanta, GA, USA.
- La especificidad diagnóstica es del 98%.
- La sensibilidad diagnóstica es del 86% (sífilis primaria) y del 100% (sífilis secundaria).
- Los resultados obtenidos con este reactivo no muestran diferencias significativas al ser comparados con un reactivo de referencia. Los datos analíticos del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.

- Hemoglobina (<10 g/L), bilirrubina (<20 mg/dL) y lipemia (<10 g/L) no interfieren con el ensayo. Los factores reumatoideos (>300 UI/mL) interfieren. Otras sustancias pueden interferir⁶.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Pueden aparecer falsos negativos en sífilis primaria temprana y en sífilis tardía, o también debido a fenómenos de prozona. Un resultado negativo en un paciente con sospecha de padecer sífilis, debería re-ensayarse con una técnica cuantitativa con el fin de descartar el efecto prozona.
- Se han descrito con antígenos cardiolipínicos falsas positividads en enfermedades tales como la mononucleosis infecciosa, hepatitis, brucelosis, malaria, lepra, sarampión, lupus eritematoso, neumonía viral y otras infecciones virales. El embarazo, la adicción a narcóticos y las enfermedades autoinmunes pueden asimismo dar reacciones positivas falsas.
- No utilizar con líquido cefalorraquídeo.

NOTAS

1. La sensibilidad del ensayo puede reducirse a temperaturas bajas. Los resultados óptimos se obtienen trabajando entre 20-25°C.
2. Es de extrema importancia mantener la aguja dosificadora perfectamente vertical a 90° de la tarjeta visualizadora, de lo contrario puede dispensarse un volumen inferior de antígeno como resultado de las salpicaduras resultantes del aire contenido en la aguja.
3. Al final de los ensayos del día, retirar la aguja del vial dispensador, enjuagarla con agua destilada y secar al aire. Guardar la aguja en el interior del capuchón de plástico.
4. Algunas muestras pueden mostrar cierta rugosidad puntiforme sobre el borde exterior del círculo, manteniéndose homogéneo el centro del mismo. Una ligera agitación manual, ladeando ligeramente la tarjeta, puede ayudar a distinguir dichas reacciones no específicas de las débilmente positivas.
5. Las tarjetas visualizadoras son reutilizables. Lavar y aclarar con agua destilada libre de detergentes.

CAUSAS DE ERROR

- La concentración excesiva de anticoagulantes en el plasma da origen a resultados poco fiables.
- Los círculos de las tarjetas visualizadoras no deben tocarse con los dedos. Las huellas digitales impiden un reparto homogéneo entre la muestra y el antígeno.
- Evitar por todos los medios efectuar las pruebas en áreas próximas a sistemas de calefacción o acondicionadores de aire, 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.
- Son causas generales de resultados negativos falsos el mal funcionamiento del agitador mecánico, volúmenes excesivos de muestra, reactivos fríos (antígeno, muestra o solución salina), temperatura ambiental baja y empleo de antígenos caducados.
- Retrasos en las lecturas pueden ocasionar falsos positivos debidos al efecto del secado de la suspensión.

REFERENCIAS

1. Portnoy, J., Brewer, J.H. y Harris, A. Pub. Hlth. Rep. 77: 645 (1962).
2. Portnoy, J. Pub. Hlth. Lab. 23: 43 (1965).
3. McGrew, B.E., Du Cros, M.J.F., Stout, G.W. y Falcone, V.H. Amer. J. Clin. Path. 50: 52 (1968).
4. McGrew, B.E., Stout, G.W. y Falcone, V.H. Amer. J. Clin. Tech. 34: 634 (1968).
5. Guide to Clinical Preventive Services. 2nd Ed. U.S. Dept. of Health and Human Services, Washington, DC (1996).
6. Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Edition. AACC Press (1995).

