RPR-carbón. Aglutinación en porta Ref.: KRPR-125/250
Determinación cualitativa de reaginas plasmáticas
Solo para uso in vitro en el laboratorio clínico
Conservar a 2-8ºC
REF: KRPR-125(100 tests): 3mL RPR carbon + 1mL Control (+) + 1mL control (–)
REF: KRPR-250(250 tests): 5mL RPR carbon + 1mL Control (+) + 1mL control (–)

RPR-carbón

CE

PRINCIPIO DEL METODO
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.

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.

REACTIVOS

RPR-carbón	Partículas de carbón sensibilizadas con una mezcla de lípidos, - cardiolipina, lecitina y colesterol-, en tampón fosfato 20 mmol/L, conservante, pH, 7,0.
Control + Tapón rojo	Suero artificial con un título de reaginas ≥ 1/4.
Control - Tapón azul	Suero animal. Conservante.

PRECAUCIONES

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

CALIBRACIÓN

La sensibilidad del reactivo está estandarizado frente el Estándar Internacional de Sífilis de OMS (WHO 1st Standard Human Syphilitic Serum, ref. HS).

PREPARACIÓN
RPR-carbón: Homogeneizar el reactivo antes de su uso. Acoplar la aguja al vial dispensador de plástico, abrir el vial de RPR-carbón 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 aguja y vial dispensador con agua destilada.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD
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 2-8ºC, y se evita la contaminación durante su uso. Mezclar los reactivos suavemente antes de usar.
No congelar: la congelación de los reactivos altera irreversiblemente la funcionalidad de éstos.

Indicadores de deterioro de los reactivos: Presencia de partículas y turbidez.

MATERIAL ADICIONAL
- Agitador mecánico rotatorio de velocidad regulable a 80-100 r.p.m.
- Cámara húmeda.
- Agitador vortex.
- Pipetas de 50 µL.

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

PROCEDIMIENTO
Método cualitativo
1. Atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente. La sensibilidad del ensayo disminuye a temperaturas bajas.
2. Depositar 50 µL de la muestra a ensayar y una gota de cada uno de los controles Positivo y Negativo, sobre círculos distintos de un porta.
3. Homogeneizar el reactivo RPR-carbón antes de usar. Invertir el vial dispensador y presionar ligeramente para eliminar las burbujas de aire.
4. Situar el vial dispensador junto con la aguja en posición vertical y perpendicular al porta, y dispensar una gota (20 µL) de reactivo junto a cada una de las muestras y los controles.
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 semicuantitativo
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
Se recomienda utilizar el control positivo y negativo para controlar la funcionalidad del reactivo de carbón, así como modelo de comparación para la interpretación de los resultados.
Todo resultado distinto al resultado que da el control negativo, se considerará positivo.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO
1. **Sensibilidad analítica:** determinación correcta del título del Material de Referencia en las condiciones descritas en el ensayo (ver calibración).
2. **Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta títulos ≥ a 1/128.
3. **Sensibilidad diagnóstica:** 100 %
4. **Especificidad diagnóstica:** 100 %.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (20 mg/dL), hemoglobina (10 g/L) y lípidos (10 g/L), no interfieren. Los factores reumatoides (300 UI/mL), interfieren. Otras sustancias pueden interferir[5].

NOTAS
1. Durante los 8 minutos de reacción no exponer el porta a una fuente de calor o de luz intensa para minimizar la evaporación. Dicha evaporación podría causar una falsa aglutinación y por tanto resultados falsos positivos.

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.

BIBLIOGRAFÍA

1. *George P. Schimid. 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. AACC Press, 1995.*

24/01/21

Bio-Science Medical S.L. C/ Velázquez,64-66, 7ºplta. 28001 MADRID (SPAIN)

RPR-carbon. Slide agglutination
Qualitative Determination of plasma reagins
Only for *in vitro* use in clinical laboratory
Store at 2-8ºC
REF: KRPR-125(100 tests): 3mL RPR carbon + 1mL Control (+) + 1mL control (–)
REF: KRPR-250(250 tests): 5mL RPR carbon + 1mL Control (+) + 1mL control (–)

RPR-carbon

CE

PRINCIPLE OF THE METHOD

The RPR-carbon is a non-treponemal slide agglutination test for the qualitative and semi-quantitative detection of plasma reagins in human serum.
Carbon particles coated with a lipid complex are agglutinated when mixed with samples containing reagins. Or patient affected by syphilis.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Reagins are a group of antibodies against some components of the damage tissues from patients infected by *Treponema pallidum,* the agent which causes the syphilis. This microorganism produces some damage to the liver and heart, releasing some tissue fragments. Immunological patient system reacts producing reagins, antibodies against these fragments.
The assay is useful to follow the antibiotic therapy answer.

REAGENTS

RPR-carbon	Carbon particles coated with a lipid complex, -cardiolipin, lecithin and cholesterol- in phosphate buffer 20 mmol/L. Preservative. pH, 7.0.
Control + Red cap	Artificial serum with reagin titer ≥ 1/4.
Control - Blue cap	Animal serum. Preservative.

PRECAUTIONS

Control +: H319- Causes serious eye irritation. Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

CALIBRATION

The reagent sensitivity is calibrated against the International Reference WHO (1st Standard Human Syphilitic Serum, ref. HS).

PRPARATION

RPR-carbon: Homogenize the reagent before use. Place the needle to the plastic dispenser vial, open the RPR-carbon vial and aspirate the required amount of reagent. Once the test is finished, return the reagent to the original vial and rinse the needle and dispenser with distilled water.

STORAGE AND STABILITY

All the kit components will remain stable until the expiration date printed on the label, when stored tightly closed at 2-8ºC and contaminations are prevented during their use. Mix reagents gently before use. Do not freeze: frozen reagents could change the functionality of the test.

Reagents deterioration: Presence of particles and turbidity.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Mechanical rotator with adjustable speed at 80-100 r.p.m.
- Humid sotre.
- Vortex mixer.
- Pìppetes 50 µL.

SAMPLES

Fresh serum or plasma. Stable 7 days at 2-8ºC or 3 months at –20ºC.
The samples with presence of fibrin should be centrifuged before testing.
Do not use highly hemolized or lipemic samples.

PROCEDURE

Qualitative method

1. Allow the reagents and samples to reach room temperature. The sensitivity of the test may be reduced at low temperatures.
2. Place 50 µL of the sample and one drop of each Positive and Negative controls into separate circles on the slide test.
3. Homogenize the reagent before using. Invert the dispenser vial and press lightly to remove air bubbles.
4. Place the dispenser vial together with the needle in a vertical position and perpendicular to the slide, and add one drop (20 µL) of reagent together with each of the samples and controls.
5. Mix the drops with a stirrer, spreading them over the entire surface of the circle. Use different stirrers for each sample.
6. Place the slide on a mechanical rotator at 80-100 r.p.m. for 8 min

(Note 1). False positive results could appear if the test is read later than 8 minutes.

Semi-quantitative method

a. Make serial two fold dilutions of the sample in 9 g/L saline solution.
b. Proceed for each dilution as in the qualitative method.

READING AND INTERPRETATION

Examine macroscopically the presence or absence of visible agglutination immediately after removing the slide test from the rotator. Rotate the slide twice by hand before reading.

Interpretation

Agglutination	Reading	Report
Medium or large clumps	R	Reactive
Small clumps	W	Weakly reactive
No clumping or very slight "roughness"	N	Non Reactive

The titer, in the semi-quantitative method, is defined as the highest dilution showing a positive result.

QUALITY CONTROL

Positive and Negative controls are recommended to monitor the performance of procedure, as well as a comparative pattern for a better result interpretation.
All result different from the negative control result, will be considered as a positive.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1.Analytical sensitivity: Accurate titer determination of the Reference Material, under the described assay conditions (see, Calibration).
2.Prozone effect: No prozone effect was detected up to titers ≥1/128.
3.Diagnostic sensitivity: 100%
4.Diagnostic specificity: 100 %.

INTERFERENCES

Bilirubin (20 mg/dL), hemoglobin (10 g/L) and lipids (10 g/L), do not interfere. Rheumatoid factors (300 IU/mL), interfere. Other substances may interfere[5].

NOTES

1. During the 8 minutes of reaction time do not expose the slide to a source of heat or intense light in order to reduce evaporation. Such evaporation could cause a false agglutination and therefore false positive results.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- RPR carbon test is non-specific for syphilis. All Reactive samples should be retested with treponemic methods such as TPHA and FTA-Abs to confirm the results.
- A Non Reactive result by itself does not exclude a diagnosis of syphilis. Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.
- False positive results have been reported in diseases such as infectious mononucleosis, viral pneumonia, toxoplasmosis, pregnancy and autoimmune diseases.

BIBLIOGRAPHY

1.George P. Schimid. 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 Association 1990: 1-192.
4. Joseph Earle Moore et al. Gastrointestinal Haemorrhage 1952; 150(5): 467-473.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

24/01/21

Bio-Science Medical S.L. C/ Velázquez,64-66, 7ªplta. 28001 MADRID (SPAIN)