

RPR PRUEBA PARA LA DETECCIÓN DE LA SIFILIS

Para diagnóstico <i>in vitro</i>	
Numero de Catálogo	Tamaño
900100	100 pruebas
900500	500 pruebas

OBJETIVO DE LA PRUEBA

La prueba RPR de ASI (rapid plasma reagin) para el diagnóstico de la sífilis es una prueba de floculación no treponemal cualitativa y semicuantitativa para la detección de los anticuerpos réagines en el suero y el plasma humana para la detección serológica de la sífilis. Estos materiales están destinados solamente a profesionales de la salud.

INTRODUCCIÓN

Treponema pallidum, el agente etiológico de la sífilis, induce la producción de al menos dos tipos de anticuerpos en las infecciones humanas: anticuerpos antitreponémicos que pueden ser detectados por el antígeno FTA-ABS (1) y anticuerpos anti no treponémicos (réagines) que pueden ser detectados por el antígeno RPR (2).

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

RPR de ASI es una prueba macroscópica de floculación no treponemal que en 8 minutos detecta los anticuerpos réagines. El antígeno con micropartículas de carbón RPR mejora la distinción visual entre los resultados positivos y negativos. El anticuerpo de tipo-réagine se une al antígeno que está formado por un complejo de partículas de cardiolipina, lecitina y colesterol con carbón activado; el resultado de esta reacción antígeno-anticuerpo es una floculación macroscópica.

REACTIVOS

- Antígeno con partículas de carbón - 0,003% Cardiolipina, 0,020 - 0,022% lecitina, 0,09% Colesterol, Carbón (activado) mejora la visualización, tampón fosfato, 0,1% azide de sodio, como preservante y estabilizadores.
- Controles (Positivo, débilmente positivo, negativo) - suero humano o plasma defibrinado (líquido) en 0,1% de azida de sodio como preservante.

PRECAUCIONES DE USO

Para diagnóstico *in vitro*

1. Los REACTIVOS RPR de ASI contienen azida de sodio. Las azidas al contacto con canerías de plomo y de cobre pueden reaccionar y formar azidas metálicas altamente explosivas. En la eliminación de los reactivos que contienen azida, enjuagar abundantemente para evitar la formación de azidas metálicas.
2. Los CONTROLES RPR de ASI contienen l suero o plasma humana de donantes probados negativos para la presencia de anticuerpo antiHBsAg, anti-HIV-1, anti-HIV-2 y anti HCV. Ninguna prueba ofrece completa seguridad de que los agentes infecciosos están ausentes, los CONTROLES deben tratarse como potencialmente infeccioso y con precaución. El manual de salud CDC/NIH "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" describe cómo tratar este material de acuerdo con la Guía de Buena Ejecución de Análisis de biología médica (GBEA).
3. No pipetear con la boca.
4. No fumar, comer, beber o aplicar productos cosméticos en las zonas donde se tratan muestras de plasma/suero.
5. Todo corte, desolladura u otras lesiones de la piel deben protegerse correctamente.

Precauciones de empleo

1. Para obtener resultados reproducibles y fiables, el prospecto de utilización del kit debe seguirse rigurosamente. No modificar la utilización o las condiciones de almacenamiento de los reactivos y muestras.
2. Las tarjetas plastificadas para RPR de ASI están cubiertas de un plástico especialmente diseñado para ser usado con el antígeno RPR. Al manipularlas evite tocarlas con los dedos, esto puede crear un depósito de grasa y afectar los resultados. Evite rayar las tarjetas con las pipetas agitadoras. Si la muestra no se extiende en la zona de prueba o se extiende fuera de la zona de prueba, utilice otro círculo para hacer la prueba.
3. La aguja debe limpiarse convenientemente en agua destilada o desionizada y secarse al aire después de cada serie; no tocar la aguja. Mantener la aguja en la cubierta protectora. Al lavar la aguja no la separe del frasco distribuidor. Dejar secar al aire. Antes de su próxima utilización, asegúrese que ninguna gota de agua permanece en el frasco distribuidor, sacudir presionando el frasco.
4. La aguja debe entregar 60±2 gotas de suspensión de antígeno por mililitro cuando se sostiene en forma vertical. Para realizar una comprobación eficaz de la aguja, fijar la aguja en una jeringa de 1 ó 3 ml. Llenar la jeringa con la suspensión de antígeno y sostener la jeringa en forma vertical, contar el número de gotas entregadas en 0,5mL. La aguja se da por satisfactoria si 30±1 gotas se obtienen en 0,5mL.
5. No utilizar más allá de la fecha de caducidad indicada sobre la caja.
6. No intercambiar los componentes de una caja con los de otra caja. Desechar la aguja y el frasco distribuidor cuando se termina la caja.

ALMACENAMIENTO DE LOS REACTIVOS

Mantener todos los reactivos entre 2-8°C en posición vertical cuando no se utilizan. No congelar los reactivos. Las pipetas y las tarjetas no requieren refrigeración. El antígeno de carbón puede almacenarse durante más de un mes en el frasco distribuidor entre 2-8°C; en ese caso, la aguja debe limpiarse al final de cada serie, utilizando una jeringa o una pipeta. Una vez abiertos, todos los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada sobre la caja.

Indicadores de Alteración

1. La presencia de turbidez o precipitación en los controles es una señal de alteración y el reactivo no debe utilizarse.
2. La contaminación bacteriana de los reactivos o muestras puede causar resultados falsamente positivos.

RECOPIACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

1. Utilizar muestras de suero calentado o no, y muestras de plasma con EDTA (3,4), CPD, CPDA-1, heparina o citrato de sodio (5) como anticoagulantes. Las muestras de plasma deben ser obtenidas de tubos o unidades que provean una adecuada proporción volumen muestra/volumen anticoagulante.
2. Las muestras deben ser libres de contaminación bacteriana, hémolisis o lipemia. Una muestra esta muy hemolisada cuando un texto impreso no puede leerse a través de ella.
3. Las muestras de suero deben analizarse dentro de 5 días desde la fecha de colección. En los casos de conservación más larga, las muestras deben separarse de los glóbulos rojos luego conservarse entre 2-8°C durante 5 días o a una temperatura igual o inferior a -20°C hasta el análisis (2) Estudios muestran que las muestras mantenidas como coágulo pueden ser usadas hasta 5 días.
4. Las muestras de plasma de más 48h no deben utilizarse ya que pueden dar resultados falsamente positivos.
5. En caso necesario antes de la prueba, centrifugar las muestras a una velocidad suficiente para sedimentar los componentes celulares.
6. Para el transporte, las muestras deben colocarse en packs de hielo y condicionarse como cualquier material biológicamente peligroso potencialmente infeccioso.
7. Esta prueba no debe utilizarse para líquidos céphalorachidiens.

COMPOSICIÓN DE LA CAJA

Material proporcionado	100 Pruebas	500 Pruebas
Antígeno con partículas de carbón RPR	2 ml	9 ml
Control positivo	1 ml	2.5 ml
Control débilmente positivo	1 ml	2.5 ml
Control negativo	1 ml	2.5 ml
Frasco distribuidor (3mL)	1	1
20-GA aguja (60 gouttes/mL)	1	1
Tarjetas para pruebas (10 círculos)	10	50
Agitadores cuentagotas disponibles de 50µL	100	500

Material necesario pero no proporcionado

1. Pipeta volumétrica que entregue 50µL
2. Solución salina (0,9% de solución NaCl)
3. Suero negativo para la sífilis, en un 0,9% de solución salina, para diluir las muestras positivas al dilución 1: 16 en el procedimiento semicuantitativo
4. Agitador mecánico regulado a 100±5 rpm y rotación limitada alrededor a 2cm de diámetro, tapa para evitar la evaporación
5. Reloj que indica los minutos y los segundos
6. Jeringas desechables, 1 o 3mL, precisión de ±5%

MÉTODO de EMPLEO

Preparación para la prueba

1. Dejar que todos los reactivos y las muestras alcancen temperatura ambiente (+20-30°C) antes de su utilización. Retirar los reactivos de la protección de espuma. No calentar los reactivos en un baño-María.
2. Todos los reactivos están listos para su empleo. Agitar suavemente los reactivos antes de su utilización; evitar la formación de espuma.
3. Agitar vigorosamente el antígeno con partículas de carbón durante 20-30 segundos antes de cada utilización para garantizar la homogeneidad.

PROTOCOLO de PRUEBA - CUALITATIVO

1. Con un agitador cuenta-gota, dejar caer una gota de 50µL de muestra de suero o plasma sobre un círculo de la tarjeta de prueba. Cambiar de agitador cuenta-gota para cada muestra. Utilizar el agitador cuenta-gota en posición vertical para garantizar un máximo de precisión. Repetir añadiendo una gota de 50µL de los controles positivo, débilmente positivo y negativo a partir de los frascos de controles proporciona dos. Localizar cada muestra utilizando las cifras situadas debajo o a la izquierda de cada círculo.
2. Utilizar la parte plana del agitador cuenta-gota para esparcir la muestra sobre la superficie entera del círculo de prueba. No rayar la superficie interior de los círculos.
3. Fijar la aguja en el frasco distribuidor. Mezclar bien la suspensión antígeno de carbón. Presionar el frasco distribuidor y aspirar un volumen suficiente de suspensión de antígeno en el frasco distribuidor. Distribuir algunas gotas en la tapa del frasco distribuidor para garantizar que la aguja no este tapada.
4. Antes de depositar el antígeno de carbón, agitar el frasco distribuidor durante algunos segundos para garantizar la homogeneidad del reactivo. Distribuir una gota de la suspensión de antígeno sobre cada muestra sosteniendo el frasco en forma vertical. NO mezclar la muestra y el antígeno. Reaspirar todo el antígeno que se encuentra en la tapa del frasco distribuidor.
5. Colocar la tarjeta sobre un agitador rotatorio y cubrir para mantener la humedad. Agitar a 100±5 tpm durante 8 minutos (7 minutos 50 segundos a 8 minutos 30 segundos). A continuación, efectuar una breve rotación manual inclinando la tarjeta (3-4 veces) para diferenciar mejor los resultados negativos de los resultados débilmente positivos.
6. Leer los resultados a simple vista e inmediatamente (antes de que se sequen) bajo una fuente luminosa de fuerte intensidad
7. Retirar y enjuagar la aguja al final de cada serie.

PROTOCOLO de PRUEBA SEMI CUANTITATIVO

1. Utilizar un agitador cuenta-gota (o cualquier otra pipeta capaz de entregar 50µL para depositar una gota de solución salina sobre los círculos numerados de 2 a 5. NO Esparcir.
2. Utilizar una pipeta capaz de entregar 50µL y de depositar 50µL de muestra de suero o plasma sobre el círculo 1 de la tarjeta prueba. NO Esparcir.
3. Utilizando una pipeta volumétrica fiable, distribuir 50µL de muestra sobre el círculo 2. Insertar la punta de la pipeta en la mezcla resultante y mezclar por aspiración/rechazo con la pipeta 5 ó 6 veces. Evitar la formación de burbujas.
4. Transferir 50µL de la mezcla del círculo 2 en el círculo 3 y mezclar. Repetir estas diluciones en serie al círculo 4 luego al círculo 5; descartar los 50µL aspirados en el último círculo. Los círculos 1 al 5 representan las siguientes diluciones:

Círculo	1	2	3	4	5
Dilución	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16

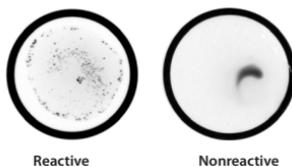
5. Utilizar la parte plana del agitador cuenta-gota y esparcir las muestras diluidas sobre la superficie entera de los círculos de prueba, comenzando por el círculo 5 (dilución mas alta). Repetir la operación en círculos 4 a 1.
6. Fijar la aguja en el frasco distribuidor. Mezclar bien la suspensión de antígeno de carbón. Presionar el frasco distribuidor para aspirar un volumen suficiente de la suspensión de antígeno sobre cada muestra sosteniendo el frasco en forma la vertical. NO Mezclar la muestra y antígeno. Aspirar todo el antígeno presente en el tapón del frasco.
7. Antes de distribuir el antígeno de carbón, agitar el frasco distribuidor durante algunos segundos para garantizar la homogeneidad del reactivo. Distribuir una gota de la suspensión de antígeno sobre cada muestra sosteniendo el frasco en forma la vertical. NO Mezclar la muestra y antígeno. Aspirar todo el antígeno presente en el tapón del frasco.
8. Colocar la tarjeta sobre un agitador rotatorio y cubrir para mantener la humedad. Agitar a 100±5 rpm durante 8 minutos (7 minutos 50 segundos a 8 minutos 30 segundos). A continuación efectuar una breve rotación manual inclinando la tarjeta (3-4 veces) para ayudar a diferenciar los resultados negativos de los resultados débilmente positivos.
9. Leer los resultados a la simple vista e inmediatamente (antes de se seque) bajo una fuente luminosa de fuerte intensidad.
10. Retirar y enjuagar la aguja al final de cada serie.

Control de calidad

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normitiva local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Si las muestras control no dan el resultado esperado, la prueba debe considerarse inválida y debe ser repetida Si la segunda prueba no permite obtener los resultados esperados para las muestras control, detenga su uso y contacte al servicio técnico.

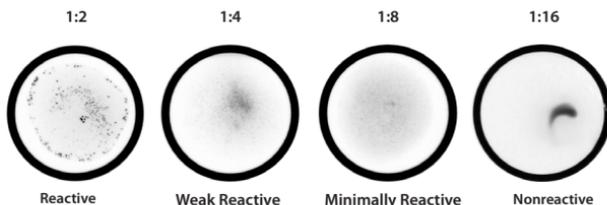
INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS - CUALITATIVO

Un resultado positivo es indicado por la presencia de aglutinación al centro o a la periferia del círculo de prueba, de ligero a intenso. Un resultado negativo dará una aparición gris lisa en el círculo de prueba o un botón de partículas de carbón no incorporadas en el centro del círculo, no mostrando ninguna de las características de aglutinación de un resultado positivo. Los resultados de la prueba RPR de ASI deben interpretarse como positivos o negativos, sin tener en cuenta el grado de reactividad. Una reactividad baja a moderada debe siempre darse por positiva. Los sueros que dan reacciones ligeramente granulosas o "ásperas" deberán probarse utilizando una técnica diferente. Para la detección de los donantes de sangre, éstos se prorrogarán como "dudoso" a la espera de los otros resultados. Referirse al capítulo "Límites". En caso necesario, confirmar los resultados positivos de la muestra utilizando el procedimiento semicuantitativo.



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS - SEMI CUANTITATIVO

La dilución mas alta en que se ve aglutinación es considerada el título de la muestra.



Muestras con títulos superiores a 1: 16

1. Preparar un dilución a 1: 50 de suero negativo en una solución salina, esta solución servirá para preparar las diluciones de 1: 32 y más altas de sueros que deben titularse. Distribuir 50µL de esta solución sobre los círculos numerados de 2 al 5. NO Esparcir.
2. Preparar una dilución 1: 16 de la muestra de la prueba añadiendo 0,1mL de suero a 1,5mL de solución salina. Mezclar bien. Distribuir 50µL de esta muestra diluida en los círculos 1 y 2. NO Esparcir.
3. Mezclar la solución sobre el círculo 2 aspirando y rechazando la solución 5 ó 6 veces, con la punta de la pipeta volumé-

trica. Evitar toda formación de burbujas.

4. Transferir 50µL de esta mezcla en el círculo 3 y mezclar como arriba. Seguir la dilución en serie hasta el círculo 5 y descartar los 50µL del último círculo después de haberse mezclado. Los círculos 1 a 5 representan las siguientes diluciones

CÍRCULO	1	2	3	4	5
DILUIÇÃO	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256

5. Proceder tal como se indica en las etapas 5-9 en el protocolo de prueba semicuantitativo
6. En caso necesario, hacer diluciones adicionales hasta que el título pueda determinarse.

LÍMITES

1. Los fenómenos de prozona pueden producirse también en los pacientes en fase de sífilis secundaria (6) en fase de incubación y sífilis tardía (2). En ese caso, la prueba negativa es ligeramente granulosa o "áspera". Cuando la reacción presenta este aspecto, un dilución de la muestra debe prepararse. Titular la muestra diluida hasta alcanzar el título o que ninguna positividad se observe. Todas las pruebas que tienen una aparición áspera deben ser evaluadas nuevamente.
2. Reacciones biológicas falsamente positivas se producen de vez en cuando con el antígeno carbón. Tales reacciones se producen a veces con muestras resultantes de pacientes que utilizan droga o portadores de enfermedades como lupus eritematoso, malaria, viruela, mononucleosis, lepra, pulmonía viral o a raíz de vacunaciones contra la viruela.
3. Los tréponematoses endémicos (el pian, el bétel y el pinta) así como las otras enfermedades treponemal producen reacciones positivas con esta prueba (2).
4. Sueros contaminados, lipémicos, o sueros con mucha hemólisis no deben utilizarse ya que pueden producir reacciones no específicas. Una muestra esta demasiado hemolisada cuando un texto impreso no puede leerse a través de ella (2).
5. Prolongar el tiempo de lectura más allá de lo que se especifica puede conducir a una interpretación falsamente positiva vinculada a la desecación de la mezcla.
6. Las muestras RPR positivas deben confirmarse según la legislación vigente.
7. Los resultados de la prueba dependen estrechamente de la temperatura de los reactivos y muestras: ésta debe permanecer entre 20 y 30°C.
8. El diagnóstico no puede hacerse solo con los resultados de una pruebas, el diagnóstico debe hacerse comparando los resultados con el cuadro clínico.

VALORES ESPERADOS Y RESULTADOS

La prueba RPR de ASI se ha comparado a una suspensión de referencia de RPR antigénico para evaluar su reactividad. Se probó un total de 1209 muestras con RPR de ASI en comparación con el producto Hynson, Westcott y Dunning (HWD) (8). Se obtuvieron los siguientes resultados. Hay un 99,2% de concordancia entre los dos productos. Entre las 9 muestras encontradas negativas con la prueba de ASI, 7 fueron confirmado también negativos por la prueba FTA-ABS.

PRUEBA ASI RPR			
		Positivo	Negativo
HWD RPR Test	Positivo	462	9
	Negativo	1	737

BIBLIOGRAFÍA

1. Hunter EF, Deacon WE, Myer PE. 1964 Informes Públicos de Salud, 79:410 - 412.
2. Larsen SA, Hunter EF, Kraus SJ (ed.) 1990 Manual de Pruebas para la Sífilis. Servicio de Salud Pública, Washington, el D.C.
3. Larsen SA, Pettit DE, Perryman MW, Hambie EA, Mullally R, Whittington, W. 1983. Microbiología J Clin, 17:341 - 345.
4. Dyckman JD y Wende RD. 1980. Microbiología J Clin, 11:16 - 18.
5. Archivos disponibles a petición
6. Jurado RL, Campbell J, Martin PD. 1993. El arco Interno Med, 153:1496 - 1498.
7. Jurado RL, Campbell J, Martin PD. 1993. Arch Intern Med, 153:1496-1498.
8. Cable RG. 1996. La transfusión Med Rev, X: 296-302.
9. Fischer GS, Colavita MT, Sweimler WI, Kleger B. 1989. Microbiología J Clin 27:188 - 189.



ARLINGTON
SCIENTIFIC

800-654-0146 801-489-8911, Springville, UT USA
Fax 801-489-5552 info@arlingtonscientific.com
www.arlingtonscientific.com

©2022 Arlington Scientific, Inc.



MedEnvoy Global B.V.
Prinses Margrietplantsoen 33 - Suite 123
2595 AM The Hague
The Netherlands

