

RPR

 100

REF 72515

 500

REF 72516

KITS PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA Y SEMI-CUANTITATIVA DE ANTICUERPOS REAGÍNICOS NO TREPONÉMICOS ASOCIADOS A LA SÍFILIS EN PLASMA O SUERO HUMANO MEDIANTE LA AGLUTINACIÓN MACROSCÓPICA EN PLACAS DE PRUEBA DESECHABLES

IVD **CE**



883684 - 2014/12

BIO-RAD

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. USO PREVISTO.....	15
2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA	15
3. PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO	15
4. REACTIVOS.....	16
5. ADVERTENCIA Y PRECAUCIONES	17
6. MUESTRAS.....	18
7. PROCEDIMIENTO.....	19
8. LIMITACIONES DE LA PRUEBA.....	21
9. CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO.....	21
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23

1. USO PREVISTO

Los kits de RPR están previstos para la detección cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos (reagina) no treponémicos asociados con la sífilis en suero o plasma humano como ayuda en el diagnóstico de la infección de sífilis.

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La sífilis es una infección crónica que progresa a través de distintas fases de infección: primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria. Dichas fases producen diversos síntomas clínicos; suelen producir chancros iniciales, y posteriormente, una erupción sifilítica seguida por largos períodos de inactividad. Las infecciones no tratadas con el tiempo pueden ocasionar problemas cardiovasculares y neurosífilis.

La infección es causada por la espiroqueta *Treponema pallidum*, y generalmente se adquiere por contacto sexual, aunque la enfermedad puede ser transmitida por la transfusión de sangre infectada. También se producen infecciones intrauterinas. Se ha demostrado que el organismo es prácticamente imposible de cultivar en medios artificiales, y el diagnóstico de la infección depende generalmente de la demostración de anticuerpos en la sangre, que aparecen poco después de la infección inicial y pueden persistir durante muchos años.

Las pruebas para la sífilis se dividen en cuatro categorías: examen microscópico directo, pruebas de anticuerpos treponémicos, pruebas de anticuerpos no treponémicos y pruebas directas del antígeno.

La RPR (reagina plasmática rápida) es una prueba “no treponémica” en la que los anticuerpos detectados no son específicos para *T. pallidum*, a pesar de que su presencia en el plasma o suero del paciente está fuertemente asociada con la infección en el organismo. Este tipo de prueba mide los anticuerpos (IgG, IgM) producidos en respuesta al material lipoidal expulsado por las células huésped dañadas, así como al material similar a las lipoproteínas expulsado por las espiroquetas. Estos anticuerpos tienden a desaparecer tras una cura exitosa de la infección.

3. PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Los kits RPR usan partículas de carbón cubiertas con una mezcla de antígenos lipídicos, que se combinarán con el anticuerpo reagínico presente en el suero o plasma del paciente. Las partículas están suspendidas en un medio que contiene componentes para eliminar las reacciones no específicas.

Las reacciones positivas se muestran mediante la aglutinación macroscópica (grumos) de las partículas.

Aunque el kit está previsto para su uso principalmente como una prueba cualitativa, los niveles de anticuerpos pueden valorarse duplicando la dilución.

Los patrones de aglutinación se interpretan a vista.

4. REACTIVOS

4.1. Descripción

Identificación en la etiqueta	Descripción	Presentación	
		72515 100 pruebas	72516 500 pruebas
R1 RPR Antigen	Antígeno RPR Partículas de carbón cubiertas con antígeno de colesterol, lecitina y cardiolipina en tampón de fosfato	1 vial 2 ml	1 vial 10 ml
R2 Positive control	Control positivo Suero humano con anticuerpos asociados a <i>T.pallidum</i> , negativo para antígeno de HB, anticuerpos anti-VIH1/2 y anti-VHC diluido en tampón de fosfato	1 vial 1 ml	1 vial 2 ml
R3 Negative control	Control negativo Suero de conejo en tampón de fosfato	1 vial 1 ml	1 vial 2 ml
	Botella dispensadora (reutilizable)	1	1
	Aguja dispensadora (reutilizable)	1	1
	Placas de prueba (10 círculos)	10	50

4.2. Requisitos para el almacenamiento y la manipulación

Este kit debe almacenarse a +2-8 °C. Las botellas tienen que almacenarse de pie. No lo congele.

Si se conserva a la temperatura de +2-8 °C, cada elemento incluido en el kit puede utilizarse hasta la fecha de caducidad indicada en el envase. Una vez abierta la bolsa, y en ausencia de contaminación, los reactivos R1, R2 y R3 conservados a +2-8 °C pueden ser utilizados hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

5. ADVERTENCIA Y PRECAUCIONES

Para uso diagnóstico *in vitro*. Solo para uso de profesionales de la sanidad.

5.1. Precauciones de higiene y seguridad:

- Este kit de prueba deberá ser manejado únicamente por personal cualificado que haya recibido formación en procedimientos de laboratorio y esté familiarizado con sus posibles riesgos. Lleve prendas de protección adecuadas, guantes que aíslen del frío/gafas/máscara y manipule el kit conforme a las buenas prácticas de laboratorio exigidas.
- Los materiales de control suministrados proceden de suero humano. Han sido probados a un nivel de donante, con resultado negativo en antígeno HB, anticuerpos anti-VIH 1/2 y anti-VHC. No existe ningún método conocido que pueda ofrecer una garantía absoluta de ausencia de agentes infecciosos. Por lo tanto, todos los hemoderivados de sangre humana, reactivos y muestras humanas deben manipularse como potenciales transmisores de enfermedades infecciosas, siguiendo para ello las precauciones universales recomendadas sobre agentes patógenos por contacto sanguíneo que se definen en las normativas nacionales, regionales y locales.
- Salpicaduras biológicas: Las salpicaduras de materiales de origen humano deben tratarse como potencialmente infecciosas. Las salpicaduras que no contengan ácido deben descontaminarse inmediatamente, incluyendo el área de salpicadura, los materiales y cualquier otra superficie o equipo contaminados, usando para ello un producto químico desinfectante adecuado y efectivo para los potenciales peligros biológicos relacionados con las muestras en cuestión (por norma general, una dilución de 1:10 de lejía de uso doméstico, etanol o isopropanol al 70-80%, un yodóforo como 0,5% Wescodyne™ Plus, etc.), tras lo cual deberán secarse con un paño.

Los derrames que contengan ácidos deben ser adecuadamente absorbidos (limpiados) o neutralizados; el área en cuestión deberá enjuagarse con agua y secarse. Puede ser necesario desechar los materiales utilizados para absorber el derrame como residuos peligrosos. A continuación, el área debe ser descontaminada con un desinfectante químico.

NOTA: No coloque soluciones que contengan lejía en el autoclave.

- Deseche todas las muestras y todo el material utilizado para realizar la prueba como si contuvieran un agente infeccioso. Los residuos del laboratorio, sustancias químicas o residuos biológicos potencialmente peligrosos deben manipularse y desecharse conforme a la reglamentación local, regional y nacional.
- La Hoja de datos de seguridad de materiales está disponible en www.bio-rad.com.

5.2. Precauciones relativas al procedimiento

5.2.1. Preparación

La calidad de los resultados depende del respeto de las siguientes Buenas Prácticas de Laboratorio:

- No mezclar los reactivos de lotes diferentes dentro de una misma prueba.
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad.
- Antes del uso, esperar 30 minutos para que los reactivos se estabilicen a temperatura ambiente (18-30°C).

5.2.2. Procedimiento de la prueba

- No cambiar el procedimiento del ensayo.
- Utilizar una punta de dispensación nueva para cada muestra.
- No tocar la superficie de reacción de las placas de aglutinación.

6. MUESTRAS

Las muestras de suero o plasma (EDTA, citrato sódico, heparina de sodio y ACD) no deben contener células de sangre. Deberán almacenarse a +2-8 °C hasta 7 días antes de la prueba. Las muestras que requieran un almacenamiento superior deberán congelarse a -20 °C o menos. Las muestras congeladas deben descongelarse y mezclarse bien antes de la prueba.

No repita más de 5 ciclos de congelado/descongelado.

Las muestras calentadas a 56 °C durante 1 hora no tienen ningún impacto en los resultados.

Las muestras que contienen hasta 120 g/l de albúmina, 200 mg/l de bilirrubina, 33 g/l de trioleína y las muestras que contienen 2 g/l de hemoglobina no afectan a los resultados. Sea como sea, no se recomienda usar muestras hiperlipémicas ni hiperhemolizadas.

Si se deben transportar las muestras, es necesario embalarlas conforme a las regulaciones en vigor en lo relativo al transporte de agentes etiológicos y, en cualquier caso, es preferible transportarlas congeladas.

7. PROCEDIMIENTO

7.1. Materiales necesarios

7.1.1. Material suministrado

Aguja de goteo y botella de goteo desechables adecuadamente calibradas para dispensar las partículas de carbón.

7.1.2. Materiales necesarios pero no incluidos

Rotador para rotar las placas de prueba a 100 rpm, en un círculo de 1 cm de diámetro aprox.

Pipeta y puntas adecuadamente calibradas y mantenidas para dispensar un volumen de 50 µl.

Solución salina al 0,9% (para el procedimiento semi-cuantitativo).

7.2. Procedimiento del ensayo

Los controles positivos (R2) y negativos (R3) del kit tienen que cargarse para cada una de las pruebas.

7.2.1. Prueba cualitativa

1. Coloque 50 µl de muestra o control en un círculo en la placa de prueba.
2. Distribuya la muestra y los controles uniformemente por el área del círculo de la prueba.
3. Agite el vial de antígeno RPR para asegurar que se mezcla bien, **justo antes del uso** para evitar la sedimentación.
4. Acople la aguja de goteo en la botella de goteo y tome el antígeno RPR mediante succión.
5. Invierta el cuentagotas y apriételo suavemente para expulsar el aire de la aguja.
6. Con la botella de goteo en vertical sobre la muestra de prueba, dispense una sola gota de antígeno RPR.
7. Coloque la placa de prueba en el rotador de placas y gire a 100 rpm durante 8 minutos.
8. Lea **inmediatamente** e interprete los resultados visualmente con buena luz. (Consulte 7.4).
Nota: Si no es posible la lectura inmediata, la placa tiene que mantenerse en el rotador de placas hasta 15 minutos.
9. Devuelva el antígeno no utilizado de la botella de goteo al vial de cristal.
10. Limpie la botella de goteo y la aguja con agua destilada y deje que se sequen antes de volverlas a utilizar.

7.2.2. Prueba semi-cuantitativa

1. Haga diluciones dobles de no diluido a 1:16 en solución salina al 0,9%.
2. Coloque 50 µl de cada dilución y controles en un círculo separado en la placa de prueba.

3. Distribuya cada dilución uniformemente por el círculo de la prueba.
4. Continúe como se indica a partir de la sección 3 de la prueba cualitativa.

El valor de la muestra se expresa como el recíproco de la dilución más alta que muestra aglutinación de las partículas de carbón.

Si la dilución más alta probada (1:16) es reactiva, proceda con otra serie de diluciones, preparando diluciones dobles de la muestra de 1:32 a 1:512 usando una solución salina al 0,9%.

Mezcle bien y continúe como se indica desde el paso 2 de la prueba semi-cuantitativa.

7.3. Control de calidad

Utilice el control positivo (R2) y el control negativo (R3) en cada realización de la prueba para validar el ensayo.

7.4. Interpretación de los resultados de las muestras y criterios de validación de la prueba+



1

Fuertemente reactiva (FR):

Grupos grandes de partículas de carbón con un fondo transparente.



2

Reactiva (R):

Grupos grandes de partículas de carbón algo más dispersas que en el caso "fuertemente reactivo".



3

Débilmente reactiva (DR):

Grupos pequeños de partículas de carbón con un fondo gris claro.



4

Reactiva con trazos (RT):

Ligeros grupos de partículas de carbón, típicamente vistos como un botón de agregados en el centro del círculo de la prueba o dispersos alrededor del borde del círculo de la prueba.



1



2



3



4

No reactiva (NR):

No reactiva (NR): Normalmente es un ligero patrón gris o un botón de partículas de carbón no agregadas en el centro del círculo de la prueba o un círculo grande de partículas de carbón sin grumos en su interior.

Las muestras reactivas deberían registrarse como positivas a anticuerpos y tienen que (en vista de la naturaleza inespecífica de los anticuerpos detectados) someterse a pruebas posteriores para determinar la presencia o ausencia de anticuerpos no treponémicos específicos.

Para que el ensayo sea válido, el control positivo tiene que mostrar un patrón fuertemente reactivo y el control negativo, un resultado claramente no reactivo.

8. LIMITACIONES DE LA PRUEBA

No hay disponible ninguna prueba única ni ningún estándar de referencia definitivo para cada etapa de la enfermedad. Por lo tanto, el diagnóstico de sífilis se basa predominantemente en la prueba serológica, que requiere resultados de métodos tanto treponémicos como no treponémicos.

Se pueden observar resultados de falso positivo cuando la lectura no se realiza inmediatamente después de la rotación.

La prueba de carbono RPR no es específica para la sífilis. Todas las muestras reactivas deberían volverse a comprobar con métodos treponémicos, tales como TPHA para confirmar los resultados.

9. CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

9.1. Estudio de precisión

Un panel de muestras constituido por una muestra negativa, 1 muestra positiva débil (valor 1:4) y 1 muestra positiva (valor 1:16) se han comprobado para la repetibilidad en 8 réplicas durante la misma realización de la prueba. Para una precisión intermedia y estudios de reproducibilidad inter-lote, las muestras se han probado en 2 réplicas por día durante 5 días (lectura realizada por dos operadores distintos) y en dos lotes distintos.

9.1.1. Repetibilidad

Todas las réplicas de muestras negativas dieron resultados negativos y todas las réplicas de muestras positivas, resultados positivos.

9.1.2. Precisión intermedia / reproducibilidad inter-lote

Todas las réplicas de muestras negativas dieron resultados negativos y todas las réplicas de muestras positivas, resultados positivos, independientemente de las condiciones.

9.2. Resultado clínico

9.2.1. Especificidad

El estudio de especificidad fue un estudio retrospectivo realizado en 102 muestras de suero congeladas de la rutina del laboratorio de un centro de Enfermedades de Transmisión Sexual en Francia.

Los resultados del ensayo de RPR de sífilis se compararon con un ensayo RPR/VDRL con distintivo CE.

Número total de muestras	Inicialmente reactiva (IR)	Repetidamente reactiva (RR)	Especificidad RR (%)	IC 95%
102	2 (dudoso)	0	100% 102/102	[96,4% - 100,0%]

De las 102 muestras, 2 fueron dudosas. Después de repetir la prueba, todas las muestras fueron negativas.

La especificidad del diagnóstico de las muestras retrospectivas fue igual a $102/102 = 100\%$ con un rango de fiabilidad del 95% de [96,4% - 100,0%].

9.2.2. Sensibilidad

El estudio de sensibilidad fue un estudio retrospectivo realizado en 101 muestras de suero congeladas de la rutina del laboratorio de un centro de Enfermedades de Transmisión Sexual en Francia.

Los resultados del ensayo de RPR de sífilis se compararon con un ensayo RPR/VDRL con distintivo CE.

Número total de muestras	Inicialmente reactiva (IR)	Repetidamente reactiva (RR)	Especificidad RR (%)	IC 95%
101	100 (1 dudoso)	101	100% 101/101	[96,4% - 100,0%]

De las 101 muestras, 1 fue dudosa. Después de repetir la prueba, todas las muestras fueron positivas.

La sensibilidad del diagnóstico de las muestras retrospectivas fue del 100% (101/101) con un rango de fiabilidad del 95% de [96,4% - 100,0%].

9.3. Especificidad analítica - Estudio de reactividad cruzada

La especificidad analítica del ensayo RPR de sífilis se evaluó en un total de 65 muestras de reactividad cruzada seleccionadas de otras enfermedades infecciosas y/u otras condiciones que pudieran dar un resultado de falso positivo debido a la inespecificidad (factor reumatoide, enfermedad de Lyme, EBV, rubéola, leptospirosis, LES (lupus), hepatitis B, hepatitis C, VIH 1/2, mujeres multíparas, mujeres embarazadas).

La especificidad del ensayo obtenida es del 100,0% (65/65) con un rango de fiabilidad del 95% de [94,5% - 100,0 %].

9.4. Efecto prozona

Tres (3) muestras positivas de sífilis Ab muy altas (>1:128) se probaron sin diluir y diluidas para verificar la ausencia del efecto prozona.

Todas las muestras positivas no diluidas fueron positivas.

El efecto prozona se observa en valores hasta 1:256.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Larsen SA., Pettit , et coll., EDTA -treated plasma in the Rapid Plasma Reagin card test and the toluidine red unheated serum test for serodiagnosis of syphilis. J Clin Microbiology 1983;17;431-5
2. Larsen S.A., Pope V., et coll., A manual of Tests for Syphilis. 9th Edition ;1998; 193 – 207
3. Portnoy J. Modifications of the rapid plasma reagin (RPR) card test for syphilis, for use in large-scale testing. Am J Clin Pathol;1963;40;473-9
4. Singh AE and Romanowski. Syphilis: Review with emphasis on clinical, epidemiological, and some biologic features. Clin Microbiol Rev. 1999 Apr; 12(2):187-209.
5. Stability of selected serum proteins after long-term storage in the Janus Serum Bank. Clin Chem Lab Med. 2009. 47:596-606.

- (BG)** • Този продукт съдържа човешки или животински компоненти. Бъдете внимателни при работа с него.
- (CZ)** • Tento výrobek obsahuje lidské nebo zvířecí komponenty. Zacházejte s ním opatrně.
- (DE)** • Dieses Produkt enthält Bestandteile menschlichen oder tierischen Ursprungs. Vorsichtig handhaben.
- (DK)** • Dette produkt indeholder humane og animalske komponenter. Skal behandles med forsigtighed.
- (EE)** • Käesolev toode sisaldab inim-või loomseid komponente. Käsitseta ettevaatlikult.
- (EN)** • This product contains human or animal components. Handle with care.
- (ES)** • Este producto contiene componentes humanos o animales. Manejar con cuidado.
- (FI)** • Tässä tuotteessa on ihmisestä tai eläimestä peräisin olevia osia. Käsittele varovasti.
- (FR)** • Ce produit contient des composants d'origine humaine ou animale. Manipuler avec précaution.
- (GR)** • Αυτό το προϊόν περιέχει ανθρώπινα ή ζωικά στοιχεία. Χειριστείτε το με προσοχή.
- (HR)** • Ovaj proizvod sadrži ljudske ili životinjske sastojke. Pažljivo rukovati.
- (HU)** • A készítmény emberi vagy állati eredetű összetevőket tartalmaz. Óvatosan kezelendő.
- (IT)** • Questo prodotto contiene componenti umane o animali. Maneggiare con cura.
- (LT)** • Šiame produkto yra žmogiškosios arba gyvūninės kilmės sudėtiniai daliai. Elgtis atsargiai.
- (MT)** • Dan il-prodott fih komponenti umani jew tal-animali. Uża b'attenzjoni.
- (NL)** • Dit product bevat menselijke of dierlijke bestanddelen. Breekbaar.
- (NO)** • Dette produktet inneholder humane eller animalske komponenter. Håndteres med forsiktighet.
- (PL)** • Niniejszy produkt zawiera składniki pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego. Należy obchodzić się z nim ostrożnie.
- (PT)** • Este medicamento contém componentes de origem humana ou animal. Manuseie com cuidado.
- (RO)** • Acest produs conține materiale de origine umană sau animală. Manevrati-l cu grijă.
- (SE)** • Denna produkt innehåller beståndsdelar från människor eller djur. Hantera produkten varsamt.
- (SI)** • Izdelek vsebuje človeške ali živalske sestavine. Rokujte previdno.
- (SK)** • Tento výrobok obsahuje ľudské alebo zvieracie zložky. Narábajte s ním opatrne.



Bio-Rad

3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette - France

Tel.: +33 (0)1 47 95 60 00

Fax: +33 (0)1 47 41 91 33

www.bio-rad.com



2014/12
883684