

**Determinación cualitativa de reaginas plasmáticas  
 IVD**

Conservar a 2 - 8°C.

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

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**

<b>RPR-carbón</b>	Partículas de carbón sensibilizadas con una mezcla de lípidos, cardiolipina, lecitina y colesterol, en tampón fosfato 20 mmol/L, Conservante, pH, 7,0.
<b>Control + Tapón rojo</b>	Suero artificial con un título de reaginas $\geq 1/4$ .
<b>Control - Tapón azul</b>	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. 05/132).

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

**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  $\mu$ L.

**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.

**PROCEDIMIENTO**
**Método cualitativo**

1. Atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente. La sensibilidad del ensayo disminuye a temperaturas bajas.
2. Depositar 50  $\mu$ L de la muestra a ensayar y una gota de cada uno de los controles Positivo y Negativo, sobre círculos distintos de una 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  $\mu$ L) 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  $\geq 1/128$ .
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 reumatoideos (300 UI/mL), interfieren. Otros sustancias pueden interferir<sup>5</sup>.

**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 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.

**PRESENTACIÓN**

5 mL RPR

Ref.: 1200401	150 tests	Ref.: 1200402	500 tests
: 3 mL RPR-carbón		: 2 x 5 mL RPR-carbón	
: 1 mL Control +		: 1 mL Control +	
: 1 mL Control -		: 1 mL Control -	
: 21 x 8 portas desechables		: 63 x 8 portas desechables	
: Vial y aguja dispensadora		: Vial y aguja dispensadora	