

Determinazione delle Reagine Plasmatiche in siero o plasma umano. Test rapido per agglutinazione (carbone).

REF RT1020 R1: 1x2 mL + R2: 1x1mL + R3: 1x1mL

METODO E PRINCIPIO

L'antigene RPR Carbon è una preparazione non treponemica sviluppata appositamente per la rilevazione rapida e semiquantitativa mediante coagglutinazione su vetrino o micropiastra di reagenti plasmatici, un gruppo di anticorpi diretti contro componenti tissutali prodotti da quasi tutti i pazienti infetti da *Treponema Pallidum*. Il test noto anche come Rapid Pasma Reagin (RPR) viene eseguito testando l'antigene, un'associazione di complessi lipidici e carbonio particolato, contro campioni sconosciuti. La presenza o l'assenza di una visibile agglutinazione indica la presenza o l'assenza di anticorpi circolanti nei campioni testati.

SIGNIFICATO CLINICO

La sifilide è causata dall'infezione sostenuta dal battere *Treponema Pallidum* che può essere trasmesso congenitamente o per contatto sessuale. Il test consente un rapido screening di un gran numero di persone in modo che i reattivi (positivi) possano ricevere un trattamento farmacologico. Il test RPR al carbone ha un alto valore diagnostico se integrato con la storia clinica del paziente e con altri risultati clinici. Tuttavia, tutti i campioni positivi devono essere confermati con test treponemici come TPHA o FTA-ABS.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

R1 (Reagente): RPR Carbone-Antigene. Sospensione stabilizzata al 0.003% di cardiolipina, 0.020-0.022% di lecitina, 0.09% di colesterolo, 10% di cloruro di colina, 0.0125 mol/L di EDTA, 0.01% carbone particolato carbon, in Tampone Fosfator (PBS).

R2: Controllo Positivo. Siero umano.

R3: Controllo Negativo. Siero umano.

Inoltre, il kit contiene 1 ago dispensatore, 1 flacone di dispensazione, 3 cartoncini test, 2x50 bastoncini in plastica monouso.

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza indicata, se conservati come indicato sull'etichetta ed evitando contaminazione, evaporazione ed esposizione prolungata alla luce diretta. Non congelare i reagenti. Dopo aver aperto i flaconi, è consigliabile utilizzarli il prima possibile, quindi chiudere immediatamente le bottiglie e conservarle in frigorifero per evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

CAMPIONI

Raccogliere il siero utilizzando provette standard di prelievo. Utilizzare campioni di siero o plasma puliti (no emolisi o lipemia) e freschi, non inattivare.

Se il test non può essere eseguito immediatamente, conservare il campione a +2 a +8°C per un massimo di 2 giorni. Per una conservazione più lunga, congelare il siero a -20° C per 3 mesi. Centrifugare i campioni contenenti precipitato prima di eseguire il test.

PROCEDURE

Test Qualitativo

1. Portare i reagenti e i campioni a temperatura ambiente (Nota 1).
2. Mediante una pipetta automatica dispensare 50 µL di ciascun campione in un cerchio sul cartoncino. Utilizzare un puntale diverso per ogni campione e scartare dopo l'uso. Dispensare 1 goccia di ciascuno dei due controlli del siero in due cerchi aggiuntivi.
3. Agitare delicatamente la fiala di erogazione, tenere la fiala in posizione verticale, premere leggermente per rimuovere le bolle d'aria dall'ago, così da avere una goccia corretta.
4. Posizionare l'ago in posizione verticale, perpendicolare alla carta (Nota 2). Premere delicatamente la fiala di dispensazione e dispensare 1 goccia di antigene in ciascun cerchio accanto al campione da testare (Nota 3).
5. Mescolare il contenuto di ogni cerchio con un agitatore in plastica monouso e distribuire su tutta l'area racchiusa dall'anello. Utilizzare applicatori separati per ciascuna miscela.
6. Posizionare la scheda su un agitatore oscillante meccanico, ruotare a 100 r.p.m. per 8 minuti.
7. Osservare macroscopicamente per agglutinazione sotto una lampada ad alta intensità o forte luce diurna entro un minuto, dopo aver rimosso la carta dall'agitatore.

Test Quantitativo

1. Per ciascun campione da testare, dispensare con una pipetta automatica 50 µL di soluzione salina allo 0,9% in ciascuno dei 5 cerchi sulla scheda di reazione. Non disperdere questo diluente.
2. Aggiungere 50 µL di campione alla soluzione salina e, utilizzando lo stesso puntale, miscelare la soluzione salina con il campione mediante aspirazione ripetuta ed espulsione del fluido e trasferire 50 µL della miscela nella soluzione salina nel secondo cerchio.
3. Continuare con le diluizioni seriali in modo simile fino al quinto cerchio e scartare i 50 µL finali prelevati da questo ultimo cerchio. Le diluizioni finali del campione saranno: 1: 2, 1: 4, 1: 8, 1:16, 1:32.
4. Testare ciascuna diluizione come descritto nei passaggi 3-7 per il test qualitativo.

RISULTATI

Risultati Test Qualitativo

Non reattivo: in un risultato negativo le particelle di carbone rimangono in sospensione senza aggregati visibili, come mostrato dal controllo negativo.

Reattivo: in un risultato positivo si osservano lievi ma definiti e intensi aggregati visibili (Nota 4).

Risultati Test Quantitativo

Come nel test qualitativo. Il titolo del campione è riportato come la più grande diluizione che mostra reattività. La successiva diluizione dovrebbe essere negativa. Se la massima diluizione testata (1:32) è ancora reattiva, ripetere il test iniziando però con una diluizione 1:16 preliminare. Utilizzare una diluizione 1:50 del controllo negativo in soluzione salina allo 0,9% per sostituire la soluzione salina allo 0,9% in questa nuova serie di diluizioni.

CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo di livello normale e patologico dovrebbero essere analizzati regolarmente con ciascun gruppo di campioni sconosciuti. Utilizzare il materiale del controllo di qualità di **MTD Diagnostics** incluso nel kit.

VALORI DI RIFERIMENTO

Non reattivo.

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

PRESTAZIONI

1. Sensibilità Diagnostica: 86% (sifilide primaria) e 100% (sifilide secondaria)
2. Specificità Diagnostica: 98 %.
3. I risultati ottenuti con questo reagente non hanno mostrato differenze significative rispetto a quelli ottenuti con reagenti di riferimento.

INTERFERENZE E SPECIFICITA'

Emoglobina (<1 g/dL), Bilirubina (<20 mg/dL) e Lipemia (<1000 mg/dL) non interferiscono. Il Fattore Reumatoide (> 300 UI/mL) interferisce. Altre sostanze possono interferire.

NOTE

1. La sensibilità del test può essere ridotta a basse temperature. I migliori risultati si ottengono tra 20-25 ° C.
2. È estremamente importante mantenere l'ago erogatore verticalmente a 90° rispetto al cartoncino di reazione. Se questo non viene rispettato, è possibile che venga dispensata una quantità insufficiente di antigene a causa di bolle d'aria nell'ago.
3. Alla fine dei test di ogni giorno, l'ago deve essere rimosso, sciacquato con acqua distillata e asciugato all'aria. Riposizionare l'ago nel contenitore di plastica.
4. Alcuni campioni possono mostrare una agglutinazione di tipo non reattivo, che tende ad essere granulare attorno alla periferia della zona circolare di reazione ma con una sospensione omogenea al centro. Una breve rotazione e inclinazione del cartoncino di reazione può aiutare a differenziare questo da campioni con bassa reattività.
5. Reazioni falsamente negative possono verificarsi in corso di infezioni primarie oppure negli stadi latenti della malattia.
6. Con antigeni di cardiopatia, sono state segnalate reazioni falsamente positive in malattie quali mononucleosi infettiva, epatite, brucellosi, lebbra, malaria, morbillo, lupus eritematoso, polmonite virale e altre infezioni virali.
7. Gravidanza, tumore, dipendenza da narcotici e autoimmunità possono dare false reazioni positive.
8. Non usare con campioni di liquido spinale (liquor o CSF).
9. Il plasma contenente concentrazioni eccessive di anticoagulanti può dare risultati inaffidabili. I cerchi della zona di reazione non devono mai essere toccati con le dita in quanto i grassi presenti sulle dita potrebbe impedire una diffusione uniforme del campione. Non eseguire il test in prossimità di sistemi di riscaldamento o condizionatori d'aria per evitare reazioni falsamente positive poiché l'alta temperatura può far seccare i componenti del test sul vetrino, dando un aspetto di agglutinazione che può essere interpretato come un risultato falso positivo. Si consiglia di posizionare il cartoncino di reazione sotto una copertura umidificante.

10. Malfunzionamento dell'agitatore, eccesso di campione, reagenti freddi (campione di antigene o soluzione salina), temperatura della cella frigorifera e antigene obsoleto possono portare a risultati falsi negativi.

PRECAUZIONI

I sieri umani presenti nel Reagente R2-R3 (controlli) sono stati testati con metodi marcati CE e approvati FDA e sono stati trovati negativi per presenza di HBsAg, HIV 1&2, HCV. Le sostanze presenti nel preparato R1 sono di origine animale e non sono in grado di trasmettere malattie infettive all'uomo. Tuttavia, poiché non ci sono metodi capaci di assicurare la totale assenza di tali agenti infettanti o di altri microbi, questo prodotto deve essere maneggiato come se fosse rischioso e potenzialmente capace di trasmettere malattie infettive di ogni tipo, in accordo con le norme di Buona Pratica di Laboratorio.

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Il prodotto è classificato ed etichettato secondo le direttive CE o le corrispondenti normative nazionali. Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorché maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare le istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
	Numero di catalogo		Scadenza
	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

- Portnoy, J., Brewer, J.H. y Harris, A. Pub. Hlth. Rep. 77: 645 (1962).
 Portnoy, J. Pub. Hlth. Lab. 23: 43 (1965).
 McGrew, B.E., V.H.Amer. J. Clin. Path. 50: 52 (1968).
 McGrew, B.E., Amer. J. Clin. Tech. 34: 634 (1968).