

Revisions

SO 0191-5

Rev from	Rev to	ECO #
0508	2010/02	5270-10

Notes:

1. BD Cat. Number Varies
2. Blank (Sheet) Size : Length: 15" Width: 35"
 Number of Pages: 14 Number of Sheets: 1
 Page Size: Length 15" Width 5" Final Folded Size: 3.75" X 5"
3. Style (see illustrations below): # 4



4. See Specification Control Number N/A for Material Information
5. Ink Colors: Printed two sides Yes No
 No. of Colors: 1 PMS # Black
6. Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level

VS HELD BY BD CARIBE, LTD.

Label Design	Date	COMPANY CONFIDENTIAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION	Becton, Dickinson and Company 7 Loveton Circle Sparks, MD 21152 USA	
Proofer	Date			
Checked By	Date			
Part Number: 0212013JAA		Category and Description Package Insert, Macro-Vue Card (18mm) Test	Sheet: 1 of 15 Scale:	A



BD Macro-Vue™ RPR Card Tests

18 mm Circle Qualitative and Quantitative

Brewer Diagnostic Kit for the Serologic Detection of Syphilis

English: pages 1 – 3
 Français: pages 3 – 5
 Deutsch: Seiten 5 – 7

Italiano: pagine 7 – 9
 Português: páginas 9 – 11
 Español: páginas 11 – 13



0212013JAA
 2010/02

Pokyny vám poskytne miestni zástupce spoločnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőjétől. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Kontakt diin lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o seu representante local da BD para obter instruções. / Instruccióne ziskate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Kontakta lokal Vecton Dickinson-representant for anvisningar. / Свържете се с местния представител на BD за инструкции. / Contactați reprezentantul dumneavoastră local BD pentru instrucțiuni. / Talimatlar için yerel BD temsilcilerinize danışın. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Для получения инструкций свяжитесь с местным представителем компании BD. / Өзіндік жергілікті BD өкіліне жүгініп нұсқау алыңыз. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute.

INTENDED USE

The Macro-Vue™ RPR (Rapid Plasma Reagin) 18 mm Circle Card Test is a nontreponemal testing procedure for the serologic detection of syphilis.^{1,2}

SUMMARY AND EXPLANATION

The Macro-Vue RPR Teardrop Card Test (using finger puncture blood) was the original Card Test and was developed for field use where testing could be performed without laboratory equipment.^{3,4} By incorporating machine rotation, ringed test surfaces, and certain other technical changes, the RPR Circle Card Test was developed for use in large scale testing in public health and clinical laboratories.

The RPR 18 mm Circle Card Test is recommended when venous blood collection is employed and a large volume of serum is available, such as generally prevails in public health and clinical laboratories.⁵⁻¹² When a specimen contains antibody, flocculation occurs with a coagglutination of the carbon particles of the RPR Card antigen, which appear as black clumps against the white background of the plastic-coated card. By contrast, nonreactive specimens appear to have an even light-gray color.

In special situations when nontreponemal test results are needed rapidly and the specimen is collected as EDTA plasma, the RPR 18 mm Circle Card Test can be used if the test is performed within 24 h.^{13,14}

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

RPR Card antigen suspension is a carbon particle cardioliipin antigen¹ which detects "reagin", an antibody-like substance present in serum or plasma from syphilitic persons, and occasionally in serum or plasma of persons with other acute or chronic conditions. The reagin binds to the test antigen, which consists of cardioliipin-lectihin-coated cholesterol particles, causing macroscopic flocculation.

REAGENT

The ingredients* of the RPR Card antigen suspension are¹: 0.003% cardioliipin, 0.020 – 0.022% lecithin, 0.09% cholesterol, 0.0125 M EDTA, 0.01 M Na₂HPO₄, 0.01 M KH₂PO₄, 0.2% sodium azide (preservative), 0.02% charcoal (specially prepared, BD), 10% choline chloride, w/v, and deionized/distilled water.

*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance criteria.

Warnings and Precautions:

For *in vitro* Diagnostic Use.

Pathogenic microorganisms, including hepatitis viruses and Human Immunodeficiency Virus, may be present in clinical specimens. "Standard Precautions"¹⁵⁻¹⁸ and institutional guidelines should be followed in handling all items contaminated with blood and other body fluids.

Warning: RPR Card Antigen Suspension contains sodium azide, which is harmful if swallowed. Contact with acids liberates very toxic gas. After contact with skin, wash immediately with plenty of water. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up.

Antigen: Refrigeration is recommended for the RPR Card antigen suspension only. Storage in bright sunlight or temperatures above 30°C should be avoided; such conditions may cause a rough appearance of the antigen when used with nonreactive sera. If the ampule of antigen is frozen during shipment, it can be reconstituted once by warming to room temperature; avoid repeated freezing and thawing. Immediate use of a refrigerated antigen may result in decreased sensitivity of the test. Therefore, upon removal from the refrigerator, allow the antigen to warm to room temperature (23 to 29°C) before use.

Do not use antigen beyond the expiration date.

Diagnostic Test Cards: Specially prepared, plastic-coated cards designed for use with the RPR Card antigen. In handling, take care not to fingerprint the card test areas, as this may result in an oily deposit and improper test results. When spreading specimen within confines of test areas, avoid scratching the card with the **Dispenstirs**™ device. If the specimen does not spread to the outer perimeter of test area, use another test area of card.

Dispenstirs™ and Capillaries: In performing the Card Tests, a **Dispenstirs** device (18 mm Circle qualitative test only) or capillary may be used to transfer the specimen to the card surface. A new **Dispenstirs** device or capillary must be used for each test specimen. When transferring from the collecting tube, the specimen must not be drawn up into the rubber bulb attached to the capillary, as this will cause incorrect readings on subsequent tests.

Needles: To maintain clear passage for accurate drop delivery, upon completion of the tests, remove the needle from the dispensing bottle and rinse the needle with deionized/distilled water. Do not wipe the needle since this will remove the silicone coating and may affect the accuracy of the drop of antigen being dispensed.

Reading of Card Test Results: Read immediately following rotation in the "wet" state under a high intensity incandescent lamp or strong daylight.

Rotation: The recommended speed for mechanical rotation is 100 ± 2 rpm. The rotator should circumscribe a circle approximately two centimeters in diameter in the horizontal plane. A moistened humidifying cover should be used to prevent drying of test specimens during rotation.

Storage of Antigen: Refrigerate at 2 to 8°C. All other components of the kit should be stored in a dry place at room temperature in the original packaging. See "Warnings and Precautions" for additional information.

Once placed in the **dispensing bottle** (provided in each kit) and refrigerated (2 to 8°C), the antigen reactivity remains satisfactory for approximately three months, or until the expiration date, if it occurs sooner.

Label the dispensing bottle with the antigen lot number, expiration date, and date antigen was placed in the bottle.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

No special preparation of the patient is required prior to specimen collection.

To Test Unheated Serum: Collect blood by venipuncture into a clean, dry tube without anticoagulant and allow to clot. Centrifuge the specimen at a force sufficient to sediment cellular elements. Keep the serum in the original collecting tube or transfer the serum into a clean, dry test tube if testing is to be delayed. Serum, removed from the clot, may be refrigerated at 2 to 8°C, for up to 5 days or frozen at -20°C or below in a Pyrex (or equivalent) vial or capped test tube.¹ Avoid repeated freeze-thawing of specimens.

To Test Heated Serum: After collection and centrifugation, as for unheated serum, transfer to a clean dry tube and place in 56°C water bath, or a heat block for 30 min.

To Test Unheated Plasma: Collect blood by venipuncture into a tube containing anticoagulant such as EDTA, heparin, potassium oxalate, potassium sequestrane or sodium fluoride. EDTA and heparin have the advantage of not being critical with respect to concentration; as little as 1 mL of blood in a tube normally used to collect 7 mL of blood produces satisfactory results. With the other anticoagulants, it is advisable to collect no less than one half a tube of blood. Centrifuge as above. Keep plasma in the original collecting tube, and if stored, store the specimen at 2 to 8°C. Test specimen within 24 h of blood collection.

PROCEDURES AND RESULTS

Materials Provided: Various RPR Card Test kits are available (see "Availability") which contain sufficient card antigen suspension, with a pre-installed ampule opener, to perform the specified number of daily control card and card tests, and the required dispensing bottle, dispensing needle, cards and either capillaries, or **Dispenstirs** devices.

Materials Required But Not Provided:

- Controls with established patterns of graded reactivity should be included in each day's testing to confirm optimal reactivity of the antigen. See "Availability" for **Macro-Vue RPR 18 mm Circle Card Test Control Cards**.
- A rotator, 100 ± 2 rpm, circumscribing a circle 2 cm in diameter, with automatic timer, friction drive, and a cover containing a moistened sponge or blotter.
- Saline (0.9%) for use in quantitative testing. Prepare by adding 900 mg dry sodium chloride, ACS to 100 mL deionized/distilled water.
- Serum Nonreactive to syphilis in 0.9% saline; required for diluting test specimens giving a Reactive result at the 1:16 dilution. Also required is the necessary equipment and labware used in preparation, storage and handling of serologic specimens.

Preliminary Preparations: Review "Warnings and Precautions" and "Specimen Collection and Preparation" prior to performance of card tests. When tests are to be performed, the antigen suspension should be checked with controls of graded reactivity using the particular test procedure. Only those antigens which give the prescribed reactions should be used. Controls, RPR Card antigen suspension and test specimens should be at room temperature when used.

Before use, vigorously shake the ampule for 10 to 15 s to resuspend the antigen and disperse any carbon particles lodged in the neck of the ampule. If any carbon should remain in the neck of the ampule after this shaking, no additional effort should be made to dislodge it as this will only tend to produce a coarse antigen.

Check delivery of the needle by placing the needle firmly on a 1 mL pipet or syringe; fill the pipet or syringe with antigen suspension, and holding the pipet or syringe in a vertical position, count the number of drops delivered in 0.5 mL. The correct number of drops is given in the table opposite:

Test Method	Color of Needle Hub	Number of Drops in 0.5 mL
18 mm Circle	Yellow, 20 G	30 ± 1 drop

Attach the needle to the tapered fitting on the dispensing bottle. Be sure the antigen is below the breakline; snap the ampule neck using the pre-installed opener and withdraw all of the antigen into the dispensing bottle by collapsing the bottle and using it as a suction device. Label the dispensing bottle with the antigen lot number, expiration date, and date antigen was placed in the bottle. Shake the antigen dispensing bottle gently before each series of antigen droppings.

The needle and dispensing bottle should be discarded when the kit is used up.

It is imperative techniques as described herein be followed in detail.

18 mm Qualitative Card Test Using Dispenstirs™ Devices :

- Hold a **Dispenstirs** device between thumb and forefinger near the stirring or sealed end. Squeeze and do not release pressure until open end is below surface of specimen, holding the specimen tube vertically to minimize stirring up of cellular elements when using original blood tube. Release finger pressure to draw up the sample.
- Holding in a vertical position directly over the card test area to which the specimen is to be delivered (not touching card surface), squeeze **Dispenstirs** device allowing one drop to fall onto card (approx. 0.05 mL; each **Dispenstirs** device is designed to expel slightly in excess of 0.05 mL to compensate for small amount of specimen retained by stirring end).
- Invert **Dispenstirs** device and with sealed stirring end, spread the specimen filling entire surface of circle. (If desired, sample remaining may be discharged into specimen tube from which it was drawn.) Discard **Dispenstirs** device. Repeat procedure for number of specimens to be tested.
- Gently shake antigen dispensing bottle before use. Holding in a vertical position, dispense several drops in dispensing bottle cap to make sure the needle passage is clear. Place one "free-falling" drop (20 G, yellow hub needle) onto each test area. Do not restir; mixing of antigen and specimen is accomplished during rotation. Pick up the pre-dropped antigen from bottle cap.
- Rotate for 8 min (± 30 s) under humidifying cover, on mechanical rotator at 100 ± 2 rpm.

Following rotation, to help differentiate Nonreactive from Minimally Reactive results, a brief rotating and tilting of the card by hand (3 or 4 to-and-fro motions) must be made. Immediately read macroscopically in the "wet" state under a high intensity incandescent lamp or strong daylight.

Report as: Reactive — Showing characteristic clumping ranging from slight but definite (minimal-to-moderate) to marked and intense.

Nonreactive — Showing no clumping. See the Reading Guide.

Note: There are only two possible final reports with the Card Test — Reactive or Nonreactive, regardless of the degree of reactivity. Reactivity minimal-to-moderate (showing slight, but definite clumping) is always reported as Reactive.

Slightly granular or "rough" reactions should be repeated using an alternative procedure. For donor screening, these tests may be reported as "indeterminant" pending further evaluation. See "Limitations of the Procedure."

All reactive syphilis tests should be repeated using an alternative procedure.

18 mm Qualitative Card Test Using Capillaries:

- Using a new capillary, attach rubber bulb to capillary and remove 0.05 mL of specimen from blood collecting tube by allowing specimen to rise to measuring line on capillary, taking care not to transfer cellular elements. (If desired, a serologic pipette may be used, but do not pipette by mouth.)
- Place measured specimen onto circle of diagnostic test card, by compressing rubber bulb, while holding one finger over the hole in the bulb.
- Using a new **Dispenstirs** device for each specimen, spread to fill entire circle. Discard **Dispenstirs** device. Repeat procedure for number of specimens to be tested.
- Gently shake antigen dispensing bottle before use. Holding in vertical position, dispense several drops in dispensing bottle cap to make sure the needle passage is clear. Place one "free-falling" drop (20 G, yellow hub needle) onto each test area. Do not restir; mixing of antigen and specimen is accomplished during rotation. Pick up the pre-dropped antigen from bottle cap.
- Rotate for 8 min (± 30 s) under humidifying cover, on mechanical rotator at 100 ± 2 rpm.

Following rotation, to help differentiate Nonreactive from Minimally Reactive results, a brief rotation and tilting of the card by hand (3 or 4 to-and-fro motions) must be made. Immediately read macroscopically in the "wet" state under a high intensity incandescent lamp or strong daylight.

Report as: Reactive — Showing characteristic clumping ranging from slight but definite (minimum-to-moderate) to marked and intense.

Nonreactive — Showing no clumping. See the Reading Guide.

Note: There are only two possible final reports with the Card Test — Reactive or Nonreactive, regardless of the degree of reactivity. Reactive minimal-to-moderate (showing slight, but definite clumping) is always reported as Reactive.

Slightly granular or "rough" reactions should be repeated using an alternative procedure. For donor screening, these tests may be reported as "indeterminant" pending further evaluation. See "Limitations of the Procedure".

All reactive syphilis tests should be repeated using an alternative procedure.

18 mm Circle Quantitative Card Test:

- For each specimen to be tested, place 0.05 mL of 0.9% saline onto circles, numbered 2 to 5. A capillary (red line), or serological pipette, 1 mL or less, may be used. DO NOT SPREAD SALINE!
- Using a capillary (red line graduated at 0.05 mL, to the tip) with rubber bulb attached, place 0.05 mL of specimen onto circle 1.
- Refill capillary to red line with test specimen, and holding in a vertical position, prepare serial two-fold dilutions by drawing saline and test specimen mixture up-and-down capillary 5 to 6 times. Avoid formation of bubbles. Transfer 0.05 mL from circle 2, to 3, to 4, to 5, mixing after each transfer. Discard 0.05 mL after mixing contents in circle 5.
- Using a new **Dispenstirs** device for each specimen, start at highest dilution of serum (circle 5) and spread serum, filling the entire surface of circle. Proceed to circles 4, 3, 2 and 1 and accomplish similar spreading.
- Gently shake antigen dispensing bottle before use. Holding in vertical position, dispense several drops in dispensing bottle cap to make sure needle passage is clear. Place one "free-falling" drop (20 G, yellow hub needle) onto each test area. Do not rest; mixing of antigen and specimen is accomplished during rotation. Pick up the pre-dropped antigen from bottle cap.
- Rotate for 8 min (\pm 30 s) under humidifying cover, on mechanical rotator at 100 \pm 2 rpm.

Following rotation, to help differentiate Nonreactive from Reactive minimal-to-moderate (RM) results, a brief rotating and tilting of the card by hand (3 or 4 to-and-fro motions) must be made. Immediately read macroscopically in the "wet" state under a high intensity incandescent lamp or strong daylight.

Report in terms of the highest dilution giving a Reactive including minimal-to-moderate reaction.

Examples:

(Prozone reaction — see "Limitations of the Procedure")

R = Reactive
N = Nonreactive
RM = Reactive minimal-to-moderate

(Und.) 1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	Report
RM	N	N	N	N	Reactive, 1:1 dilution
R	R	R	N	N	Reactive, 1:4 dilution
R	R	R	R	N	Reactive, 1:8 dilution

Unheated or Heated Serum: If the highest tested (1:16) is Reactive, proceed as follows —

- Prepare a 1:50 dilution of Nonreactive serum in 0.9% saline. (This is to be used for making 1:32 and higher dilutions of specimens to be quantitated.)
- Prepare a 1:16 dilution of the test specimen by adding 0.1 mL of serum to 1.5 mL of 0.9% saline. Mix thoroughly.
- Place 0.05 mL of 1:50 Nonreactive serum in circles 2, 3, 4, and 5.
- Using capillary, place 0.05 mL of 1:16 dilution of test specimen in circle 1.
- Refill capillary to red line, make serial two-fold dilutions and complete tests as described under steps 3 to 6. (See "18 mm Circle Quantitative Card Test".)

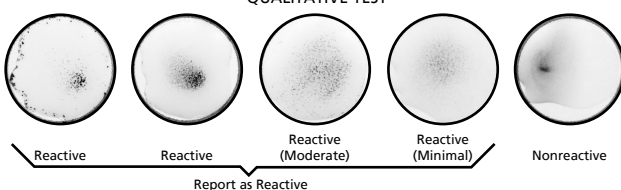
Higher dilutions are prepared if necessary in 1:50 Nonreactive serum.

Plasma: If a baseline is to be established from which changes in titer can be determined, the test should be repeated on unheated serum (see section "Unheated Serum").

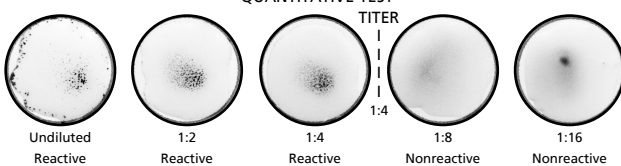
Reading and Reporting the Macro-Vue™ RPR Card Tests: Individual reactions should be evaluated in the "wet" state, under a high intensity incandescent lamp or strong daylight. Immediately following rotation read and record as Reactive or Nonreactive.

RPR 18 MM CIRCLE CARD TEST READING GUIDE

QUALITATIVE TEST



QUANTITATIVE TEST



Quality Control

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent CLSI (formerly NCCLS) guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

The diagnosis of syphilis should not be made on a single reactive result without the support of a positive history or clinical evidence. Therefore, as with any serological testing procedure, Reactive card test specimens should be subjected to further serologic study. Serum specimens which are Reactive in qualitative testing should be quantitated to establish a baseline from which changes in titer can be determined, particularly for evaluating treatment.¹ The use of plasma specimens to establish a baseline from which changes in titer can be determined has not been evaluated.

False-negative results can occur because of failure to recognize prozone reactions. Prozone reactions occur in 1% to 2% of patients with secondary syphilis. These specimens may exhibit a nonreactive pattern that is slightly granular or "rough." Upon dilution, the reactivity will increase and then decrease as the endpoint titer is approached. All tests with a rough appearance should be further evaluated. False-negative nontreponemal test results are also seen in incubating primary and late syphilis.¹

It is not necessary to perform the quantitative procedure on reactive donor samples.

The RPR Card Tests cannot be used for testing spinal fluids.

The ideal specimen for neonatal testing is the infant's serum as obtained by heel stick procedure. However, cord blood may be used for baseline screening when no other specimen is available.¹

With cardiolipin type antigens, biological false positive reactions have been reported in diseases such as infectious mononucleosis, leprosy, malaria, lupus erythematosus, vaccinia and virus pneumonia. In leprosy, Portnoy³ reported no false positives; Achimastos¹⁹ reported 14 of 50 leprosy cases were Reactive and Scotti²⁰ reported 1 out of 208 cases was reactive with RPR Card which were nonreactive with the FTA-ABS and TPI tests. Dorwart²¹ studied the incidence of chronic BFP reactions in various connective tissue disorders. Six out of 41 cases of systemic lupus erythematosus were reactive in the Card Test, whereas only 5 were reactive in the VDRL slide test. Only 1 out of 23 cases of rheumatoid arthritis was reactive with both RPR Card and VDRL slide tests. In pregnancy, several reports indicated the occurrence of false positive reactions.^{11,22} Narcotic addiction and autoimmune diseases also may give false positive reactions.²³ Pinta, yaws, bejel and other treponemal diseases produce positive reactions in this test.¹

Lipemia will not interfere with the card tests, however, if the degree of lipemia is so severe as to obscure the state of the antigen particles, the specimen should be considered unsatisfactory for testing.

Do not test specimens that are grossly hemolyzed, contaminated or extremely turbid; report as "Specimen unsatisfactory for testing."¹

EXPECTED VALUES AND PERFORMANCE CHARACTERISTICS

RPR Card antigen suspension is tested for the established pattern of reactivity against reference antigen suspensions and meets the U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) product specifications for performing the RPR 18 mm Circle Card Tests. These performance characteristics were established from a large number of papers which have appeared in the scientific literature, from routine daily test performances in syphilis serology testing laboratories and are in conformity with CDC specifications.

Reported studies show the RPR Card Tests have adequate sensitivity and specificity in relation to clinical diagnosis and a reactivity level similar to that of the VDRL slide test.^{6-10,24,25}

Heating of serum specimens at 56°C for 30 min has been shown to have no effect on reactivity.²⁰

A qualitative comparison of 1104 simultaneously collected serum and EDTA plasma specimens was conducted using the **Macro-Vue** RPR 18 mm Circle Card Test. There was complete agreement in test results which included 134 reactive and 970 nonreactive pairs. In other studies comparable results were found between plasma and serum pairs (306 specimens) with RPR Card Tests both in qualitative and quantitative procedures.^{14,26}

AVAILABILITY

Cat. No. Description

Macro-Vue™ RPR Card Tests:

- 274449 Kit No. 104: (300 qualitative tests), contains: two 3 mL amps. antigen, 20 G needle, dispensing bottle, 300 **Dispenstirs**™ devices, 30 cards with ten 18 mm Circle spots ea. and 300-0.05 mL capillaries.
- 275005 Kit No. 110: (500 qualitative tests), contains: three 3 mL amps. antigen, 20 G needle, dispensing bottle, 50 cards with ten 18 mm Circle spots ea. and 500-0.05 mL **Dispenstirs**™ devices.
- 275239 Kit No. 112: (150 quantitative tests), contains: five 3 mL amps. antigen, 20 G needle, dispensing bottle, 150 **Dispenstirs**™ devices, 50 cards with fifteen 18 mm Circle spots ea. and 150-0.05 mL capillaries.
- 275539 Kit No. 115: (150 qualitative tests), contains: one 3 mL amp. antigen, 20 G needle, dispensing bottle, 15 cards with ten 18 mm Circle spots ea. and 150-0.05 mL **Dispenstirs**™ devices.
- 275110 Bulk Kit No. 510: (5,000 qualitative tests).
- 275692 Bulk Kit No. 532: (10,000 qualitative tests).
- 276709 **Macro-Vue**™ RPR Card Test Control Cards containing graded reactivity specimens, (R, RM and N 18 mm circles). Box of 10.
- 272905 **Dispenstirs**™ (single use, plastic pipettes), 0.05 mL, Box of 500.
- 275115 Bulk Kit No. 515: (5,000 qualitative tests), contains: thirty 3 mL amps. antigen, 5,000 **Dispenstirs**™ devices, 340 cards with fifteen-18 mm circle spots each, test disposables and accessories.
- 275130 Bulk Kit No. 530: (5,000 qualitative tests), contains: thirty 3 mL amps. antigen, 5,000 **Dispenstirs**™ devices, 170 cards with thirty-18 mm circle spots each, test disposables and accessories.

REFERENCES

- Larsen, S.A., V. Pope, R.E. Johnson and E.J. Kennedy (ed.). 1998. A manual of tests for syphilis, 9th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Larsen, S.A., V. Pope, and T.J. Quan. 1992. Immunologic methods for the diagnosis of spirochetal diseases, p. 467-481. In N.R. Rose, E.C. de Macario, J.L. Fahey, H. Friedman, and G.M. Penn (ed.), Manual of clinical laboratory immunology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Portnoy, J., J.H. Brewer, and A. Harris. 1962. Public Health Rep., 77:645-652.
- Portnoy, J. 1963. Military Med. 128:414-417.
- Portnoy, J. 1965. Public Health Lab. 23:43.
- Reed, E.L. 1965. Public Health Lab. 23:96-103.
- Reed, E.L. 1966. Public Health Lab. 24:203-206.
- Reed, E.L. 1968. Public Health Lab. 26:123-133.
- Reed, E.L. October 22, 1968. Presented at FTA-ABS Test Seminar, co-sponsored by Md. State Dept. of Public Health, Bureau of Laboratories, and the NCDC, VDRL.
- Reed, E.L. 1969. J. Conf. Public Health Lab. Dir. 27:8-14.
- Walker, A.N. 1971. Br. J. Vener. Dis. 47:259-262.
- Croix, J.C. 1975. Feuillets de Biologie. 16:61-65.
- Larsen, S.A., D.E. Pettit, M.W. Perryman, E.A. Hamble, R. Mullally, and W. Whittington. 1983. J. Clin. Microbiol. 17:341-345.
- Warner, G.S., et al. 1980. Data on file. Becton Dickinson Microbiology Systems.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.

- Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.
- U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
- Achimastos, A., G. Tolis, G. Papadopoulos, and K. Kousoutzakoglou. 1970. Public Health Rep. 85:66-68.
- Scotti, A.T., D.M. Mackey, and J.R. Trautman. 1970. Arch. Dermatol. 101:328-330.
- Dorwart, B.B., and A.R. Myers. 1974. Br. J. Vener. Dis. 50:435-436.
- Garner, M.F., and J.L. Backhouse. 1973. Med. J. Aust. 1:737-739.
- Kaufman, R.E., S. Weiss, J.D. Moore, V. Falcone, and P.J. Weisner. 1974. Br. J. Vener. Dis. 50:350-353.
- Falcone, V.H., G.W. Stout, and M.B. Moore, Jr. 1964. Public Health Rep. 79:491-495.
- Portnoy, J. 1963. Am. J. Clin. Pathol. 40:473-479.
- Larsen, S.A., B.T. Craig, M.E. Shepherd, and B. McLaurin. 1988. Data on file. Treponema Research Branch, CDC.

BD Tests RPR sur carte Macro-Vue

Cercle de 18 mm qualitatifs et quantitatifs

Coffret de diagnostic de Brewer pour la détection sérologique de la syphilis

Français

APPLICATION

Le test RPR (réagine rapide de plasma) sur carte avec cercle de 18 mm **Macro-Vue** est une méthode de diagnostic de la syphilis par sérologie non tréponémique.^{1,2}

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Le test sur carte de goutte de RPR **Macro-Vue** (qui fait appel à un prélèvement de sang par ponction digitale) a été le premier test sur carte. Il a été mis au point pour être utilisé sur le terrain, où les tests peuvent être réalisés sans équipement de laboratoire.^{3,4} En y associant une agitation mécanique, des zones de test annulaires, et d'autres modifications techniques, le test RPR sur carte a pu être utilisé dans des tests à grande échelle dans le domaine de la santé publique et des laboratoires cliniques.

Le test RPR sur carte avec cercle de 18 mm est recommandé pour les prélèvements de sang veineux, et lorsqu'un grand volume de sérum est disponible, comme c'est généralement le cas dans le domaine de la santé publique et des laboratoires cliniques.⁵⁻¹² Lorsqu'un prélèvement contient des anticorps, une flocculation se produit en même temps qu'une coagulation des particules de carbone de l'antigène de la carte RPR, et apparaît comme des amas noirs contrastant sur le fond blanc de la carte plastifiée. Par contraste, les prélèvements non-réactifs ont un couleur gris clair uniforme.

Dans les situations particulières où des résultats rapides d'analyse par sérologie non tréponémique sont requis, et où le sang est prélevé sous forme de plasma EDTA, le test RPR sur carte avec cercle de 18 mm peut être utilisé, s'il est effectué dans les 24 h.^{13,14}

PRINCIPES DE LA METHODE

La suspension antigénique pour RPR sur carte est constituée de particules de carbone antigénées¹ qui détectent les "réagines", substances similaires aux anticorps présents dans le sérum et le plasma de personnes syphilitiques, et occasionnellement dans le sérum et le plasma de personnes affectées d'autres états aigus ou chroniques. Les réagines s'attachent à l'antigène, constitué de particules de cholestérol recouvertes de complexes cardioplipide-lécithine, provoquant ainsi une flocculation macroscopique.

REACTIFS

Les composants* de la suspension antigénique pour RPR sur carte sont : 0,003 % de cardioplipide, 0,020 – 0,022 % de lécithine, 0,09 % de cholestérol, 0,0125 M EDTA, 0,01 M Na₂HPO₄, 0,01 M KH₂PO₄, 0,2 % l'azide de sodium (agent conservateur), 0,02 % de charbon (spécialement préparé, BD), 10 % de chlorure de choline, p/v et d'eau désionisée/distillée.

*Ajustés et/ou supplémentés en fonction des critères de performance imposés.

Avertissements et précautions :

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les "Précautions standard"¹⁵⁻¹⁸ et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques. Stériliser à l'autoclave les récipients contenant les échantillons et d'autres matériaux contaminés avant de les éliminer.

Avertissement : La suspension d'antigène de RPR sur carte contient de l'azide de sodium qui est nocif en cas d'ingestion. Au contact d'un acide, un gaz très toxique est dégagé. Après tout contact avec la peau, laver immédiatement à grande eau. L'azide de sodium peut réagir au contact du plomb ou du cuivre des canalisations et former des azides métalliques très explosifs. Lors de l'élimination, faire couler un volume d'eau important pour éviter l'accumulation d'azides.

Antigène : il est recommandé de ne conserver au réfrigérateur que la suspension antigénique sur carte de RPR. Il faudra éviter de conserver en plein soleil ou à des températures dépassant 30 °C ; ces conditions peuvent conférer un aspect granulaire à l'antigène lors de son utilisation avec des sérums négatifs. Si l'ampoule d'antigène a gelé pendant son expédition, celle-ci peut être reconstituée une fois en la réchauffant à température ambiante ; éviter les cycles de congélation et de décongélation. L'utilisation de l'antigène dès sa sortie du réfrigérateur peut réduire la sensibilité du test. Pour cette raison, après l'avoir sorti du réfrigérateur, laisser l'antigène revenir à température ambiante (entre 23 et 29 °C) avant de l'utiliser.

Ne pas utiliser l'antigène au-delà de sa date de péremption.

Cartes de diagnostic pour test : ce sont des cartes spécialement préparées, plastifiées, conçues pour être utilisées avec l'antigène de RPR sur carte. Lors de la manipulation, veiller à ne pas poser les doigts sur les zones tests, les dépôts graisseux des empreintes pouvant entraîner des résultats inexacts. Lors de l'étalement d'un échantillon à l'intérieur des limites de la zone test, éviter de rayer la carte avec le dispositif **Dispenstirs**. Si l'échantillon ne s'étale pas jusqu'au périmètre extérieur de la zone test, utiliser une autre zone test de la carte.

Dispenstirs et capillaires : lors de l'exécution des tests sur carte, un dispositif **Dispenstirs** (seulement pour le test qualitatif sur cercle de 18 mm) ou un capillaire peut être utilisé pour déposer l'échantillon sur la carte. Un nouveau dispositif **Dispenstirs** ou un nouveau capillaire doit être employé pour chaque prélèvement à tester. Lors du prélèvement à partir du tube d'origine, l'échantillon ne doit pas être aspiré dans la poire en caoutchouc attachée au capillaire, sous peine de lectures erronées pour les tests qui suivent.

Aiguilles : afin d'éviter l'obturation de l'aiguille compte-gouttes (précision de la méthode), enlever l'aiguille du flacon distributeur après avoir terminé les analyses et la rincer à l'eau désionisée/distillée. Ne pas essuyer l'aiguille, ceci enlevant son revêtement de silicone et affectant la précision du volume de la goutte d'antigène qui est distribuée.

Lecture des résultats du test sur carte : lire immédiatement après avoir agité, à l'état "humide" à la lumière d'une lampe à incandescence de forte puissance ou sous forte lumière du jour.

Rotation : la vitesse de rotation mécanique recommandée est 100 ± 2 tpm (tours par minute). L'appareil rotateur doit décrire un cercle d'approximativement deux centimètres de diamètre à l'horizontale. Il faut utiliser un protège-carte humidificateur mouillé pour empêcher que les échantillons ne se dessèchent pendant la rotation.

Conservation de l'antigène : réfrigérer à une température comprise entre 2 et 8 °C. Tous les autres composants du coffret devront être conservés dans un endroit sec à température ambiante, dans leur emballage d'origine. Voir "Avertissements et précautions" pour un complément d'information.

Une fois placé dans le *flacon distributeur* (fourni avec chaque coffret) et au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C), la réactivité de l'antigène reste satisfaisante pendant environ trois mois, ou jusqu'à la date de péremption, si celle-ci survient plus tôt.

Etiqueter le flacon distributeur avec le numéro de lot de l'antigène, sa date de péremption et la date à laquelle l'antigène a été mis dans le flacon.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Aucune préparation spéciale du patient n'est requise avant le prélèvement des échantillons.

Pour l'analyse du sérum non chauffé : prélever le sang par ponction veineuse dans un tube propre et sec sans anticoagulant et laisser coaguler. Centrifuger l'échantillon à vitesse suffisante pour séparer les éléments cellulaires. Laisser le sérum dans ce tube d'origine ou transférer le dans un tube propre et sec si l'analyse du sérum est retardée. Le sérum, retiré du caillot, peut être réfrigéré entre 2 et 8 °C, pendant un maximum de 5 jours ou congelé à -20 °C ou à une température inférieure dans un flacon en Pyrex (ou l'équivalent) ou dans un tube à essai bouché.¹ Eviter de congeler et décongeler plusieurs fois les échantillons.

Pour l'analyse du sérum chauffé : après prélèvement et centrifugation comme pour le sérum non chauffé, transférer le sérum dans un tube propre et sec, et mettre au bain-marie à 56 °C, ou dans un bloc thermique pendant 30 min.

Pour l'analyse du plasma non chauffé : prélever le sang par ponction veineuse sur un tube contenant de l'anti-coagulant tel que l'EDTA, l'héparine, l'oxalate de potassium, la séquestrine de potassium, ou la fluorure de sodium. L'EDTA et l'héparine présentent l'avantage de n'être pas critiques quant à leur concentration ; une quantité aussi faible que 1 mL de sang dans un tube normalement utilisé pour prélever 7 mL de sang donne des résultats satisfaisants. Avec les autres anticoagulants, il est conseillé de ne pas prélever moins d'un demi-tube de sang. Centrifuger comme recommandé ci-dessus. Laisser le plasma dans le tube d'origine, et en cas de conservation, conserver l'échantillon entre 2 et 8 °C. Effectuer l'analyse dans les 24 h.

MODE OPERATOIRE ET RESULTATS

Matériel fourni : divers coffrets de test RPR sur carte sont disponibles (voir "Matériel disponible"). Ils contiennent suffisamment de suspension antigénique sur carte, avec dispositif d'ouverture d'ampoule pré-installé, pour exécuter le nombre voulu de contrôles sur carte et de tests sur carte quotidiens, ainsi que le flacon distributeur nécessaire, l'aiguille distributrice, les cartes et les capillaires ou les dispositifs **Dispenstirs**.

Matériaux requis mais non fournis :

- Des contrôles avec des profils établis de réactivité devront être inclus dans les essais quotidiens pour s'assurer de la réactivité optimale de l'antigène. Voir "Matériel disponible" pour les cartes de contrôle du test **Macro-Vue** RPR sur carte avec cercle de 18 mm.
- Un agitateur, à 100 ± 2 tpm, décrivant un cercle de 2 cm de diamètre, avec une minuterie automatique, un entraînement à friction, et un protège-carte contenant une éponge ou un papier-buvard humide.
- Une solution saline (0,9 %) pour le test quantitatif. La préparer en ajoutant 900 mg de chlorure de sodium sec, ACS à 100 mL d'eau désionisée/distillée.
- Du sérum non-réactif pour la syphilis dans une solution saline à 0,9 % ; requis pour diluer les échantillons à analyser donnant un résultat réactif à la dilution à 1:16.

L'équipement et le matériel de laboratoire utilisés pour la préparation, la conservation et la manipulation des échantillons sérologiques sont également nécessaires.

Préparations préliminaires : relire "Avertissements et précautions" et "Prélèvement et préparations des échantillons" avant d'exécuter les tests sur carte. Lors de l'exécution des tests, la suspension antigénique devra être vérifiée à l'aide des contrôles à réactivité graduée en suivant la technique particulière à ce test. Seuls les antigènes présentant les réactions attendues devront être utilisés. Les contrôles, la suspension antigénique sur carte de RPR et les prélèvements à analyser devront être à température ambiante lors de leur utilisation.

Avant l'utilisation, agiter vigoureusement l'ampoule pendant 10 à 15 s afin de remettre l'antigène en suspension et de distribuer toute particule de charbon qui se serait logée dans le goulot de l'ampoule. Si du charbon devait rester dans le goulot de l'ampoule après l'avoir agitée, ne pas insister, car cela pourrait produire un antigène granulaire.

Vérifier le débit de l'aiguille en plaçant fermement l'aiguille sur une pipette ou une seringue de 1 mL ; remplir la pipette ou la seringue avec la suspension antigénique, et en maintenant la pipette ou la seringue en position verticale, compter le nombre de gouttes distribuées pour 0,5 mL. Le nombre correct de gouttes est donné dans le tableau ci-contre :

Attacher l'aiguille au raccord conique du flacon distributeur. S'assurer que l'antigène est sous le niveau de la ligne de rupture ; casser le goulot de l'ampoule à l'aide du dispositif d'ouverture pré-installé et vider tout l'antigène dans le flacon distributeur en écrasant le flacon et en l'utilisant comme un dispositif d'aspiration. Etiqueter le flacon distributeur avec le numéro de lot de l'antigène, sa date de péremption et la date à laquelle l'antigène a été mis dans le flacon. Agiter doucement le flacon distributeur d'antigène avant chaque série de gouttes d'antigène.

L'aiguille et le flacon distributeur devront être jetés lorsque le coffret est utilisé complètement.

Il est impératif que les techniques décrites ici soient suivies en détail.

Test qualitatif sur carte de 18 mm avec utilisation des dispositifs Dispenstirs :

- Prendre un dispositif **Dispenstirs** entre le pouce et l'index près de l'extrémité agitateur ou scellée. Presser et ne relâcher la pression que lorsque l'extrémité ouverte est en dessous de la surface de l'échantillon, en maintenant le tube d'échantillon verticalement pour éviter la remise en suspension des éléments cellulaires lorsqu'il est fait usage du tube de sang d'origine. Relâcher la pression des doigts pour aspirer l'échantillon.
- En le maintenant en position verticale exactement au dessus de la zone test de la carte sur laquelle l'échantillon doit être déposé (sans toucher la surface de la carte), presser le dispositif **Dispenstirs** pour laisser tomber une goutte (environ 0,05 mL ; chaque dispositif **Dispenstirs** est conçu pour expulser légèrement plus de 0,05 mL pour compenser la petite quantité d'échantillon restant à l'extrémité de l'agitateur).
- Retourner le dispositif **Dispenstirs** et en utilisant l'extrémité agitateur scellée, étaler l'échantillon en couvrant toute la surface du cercle (si désiré, ce qui reste de l'échantillon peut être remis dans le tube à échantillon d'où il a été aspiré). Jeter le dispositif **Dispenstirs** . Répéter le procédé autant de fois qu'il y a d'échantillons à tester.
- Agiter doucement le flacon distributeur d'antigène avant de l'utiliser. En le maintenant verticalement, distribuer plusieurs gouttes dans le bouchon du flacon distributeur pour être sûr que le passage de l'aiguille est dégagé. Mettre une "goutte

Méthode de test	Couleur de la garde de l'aiguille	Nombre de gouttes dans 0,5 mL
Cercle de 18 mm	Jaune, 20 G	30 ± 1 goutte

tombant librement" (20 G, garde de l'aiguille de couleur jaune) sur chaque zone test. *Ne pas remélanger ; le mélange de l'antigène et de l'échantillon se produit pendant l'agitation.* Reprendre dans le bouchon du flacon l'antigène qui s'y trouve.

5. Agiter pendant 8 min (± 30 s), avec le protège-carte humidifiant, sur l'agitateur mécanique réglé à 100 ± 2 tpm.

Après l'agitation, pour faciliter la différenciation entre les résultats non-réactifs et réactifs faibles, il faut agiter et incliner brièvement la carte à la main (3 ou 4 mouvements de va-et-vient). Lire immédiatement et d'une manière macroscopique à l'état "humide" à la lumière d'une lampe à incandescence de forte puissance ou sous forte lumière du jour.

Interpréter : Réactif — Présentant une agglutination caractéristique allant de légère mais définie (minimale à modérée) jusqu'à marquée et intense.

Non-réactif — Présentant aucune agglutination. Voir le guide de lecture.

Nota : il n'y a que deux interprétations définitives possibles avec le test sur carte — réactif ou non-réactif — quelle que soit l'intensité de la réactivité. Une réactivité minimale à modérée (présentant une agglutination légère mais définie) est toujours retenue comme réactif.

Une réaction légèrement granuleuse ou d'apparence rugueuse devrait être répétée avec une méthode alternative. Lors du dépistage de donneurs ces tests peuvent être rapportés comme "indéterminés", en attendant une étude sérologique complémentaire. Voir la section "Limites de la méthode".

Tous les tests de syphilis réactifs devront être répétés en utilisant une méthode alternative.

Test qualitatif sur carte de 18 mm avec utilisation des capillaires :

1. En utilisant un nouveau capillaire, y attacher la poire en caoutchouc et prélever 0,05 mL d'échantillon du tube de sang en laissant l'échantillon monter jusqu'à la graduation du capillaire. Veiller à ne pas prélever d'éléments cellulaires. (Si désiré, une pipette sérologique peut être utilisée, mais ne pas pipeter à la bouche.)

2. Placer l'échantillon mesuré sur le cercle de la carte de diagnostic pour test, en pressant la poire en caoutchouc, tout en gardant un doigt sur le trou de la poire.

3. En utilisant un dispositif **Dispenstirs** neuf pour chaque échantillon, étaler sur tout le cercle. Jeter le dispositif **Dispenstirs**. Répéter la procédure pour tous les échantillons à tester.

4. Agiter doucement le flacon distributeur d'antigène avant de l'utiliser. En le maintenant verticalement, distribuer plusieurs gouttes dans le bouchon du flacon distributeur pour être sûr que le passage de l'aiguille est dégagé. Mettre une goutte tombant librement (20 G, garde de l'aiguille de couleur jaune) sur chaque zone test. *Ne pas remélanger ; le mélange de l'antigène et de l'échantillon se produit pendant l'agitation.* Reprendre dans le bouchon du flacon l'antigène qui s'y trouve.

5. Agiter pendant 8 min (± 30 s), avec le protège-carte humidifiant, sur l'agitateur mécanique réglé à 100 ± 2 tpm.

Après l'agitation, pour faciliter la différenciation entre les résultats non-réactifs et réactifs faibles, il faut agiter et incliner brièvement la carte (3 ou 4 mouvements de va-et-vient). Lire immédiatement et d'une manière macroscopique à l'état "humide" à la lumière d'une lampe à incandescence de forte puissance ou sous forte lumière du jour.

Interpréter : Réactif — Présentant une agglutination caractéristique allant de légère mais définie (minimale à modérée) jusqu'à marquée et intense.

Non-réactif — Présentant aucune agglutination. Voir le guide de lecture.

Nota : il n'y a que deux interprétations définitives possibles avec le test sur carte — réactif et non-réactif — quelle que soit l'intensité de la réponse. Une réactivité minimale à modérée (présentant une agglutination légère mais définie) est toujours retenue comme réactif.

Une réaction légèrement granuleuse ou d'apparence rugueuse devrait être répétée avec une méthode alternative. Lors du dépistage de donneurs ces tests peuvent être rapportés comme "indéterminés", en attendant une étude sérologique complémentaire. Voir la section "Limites de la méthode".

Tous les tests de syphilis réactifs devront être répétés en utilisant une méthode alternative.

Test quantitatif sur carte avec cercle de 18 mm :

1. Pour chaque échantillon à tester, mettre 0,05 mL de solution saline à 0,9 % dans les cercles numérotés de 2 à 5. Un capillaire (à ligne rouge) ou pipette sérologique de 1 mL ou moins peut être utilisé. **NE PAS ETALER LA SOLUTION SALINE !**

2. En utilisant un capillaire (à ligne rouge graduée à 0,05 mL jusqu'à l'extrémité) surmonté de sa poire, mettre 0,05 mL de l'échantillon sur le cercle 1.

3. Remplir à nouveau jusqu'à la ligne rouge avec l'échantillon à tester, et en le maintenant en position verticale, préparer une série de dilutions de deux en deux en aspirant et refulant le mélange de solution saline et d'échantillons à analyser 5 ou 6 fois dans le capillaire. Eviter la formation de bulles. Transférer 0,05 mL du cercle 2 vers le 3, vers le 4, vers le 5. Mélanger après chaque transfert. Eliminer 0,05 mL du cercle 5 après avoir mélangé son contenu.

4. En utilisant un dispositif **Dispenstirs** neuf pour chaque échantillon, commencer par le sérum à la plus grande dilution (cercle 5) et l'étaler sur toute la surface du cercle. Se déplacer aux cercles 4, 3, 2 et 1 et étaler de la même manière.

5. Agiter doucement le flacon distributeur d'antigène avant de l'utiliser. En le maintenant verticalement, distribuer plusieurs gouttes dans le bouchon du flacon distributeur pour être sûr que le passage de l'aiguille est dégagé. Mettre une "goutte tombant librement" (20 G, garde de l'aiguille de couleur jaune) sur chaque zone test. *Ne pas remélanger ; le mélange de l'antigène et de l'échantillon se produit pendant l'agitation.* Reprendre dans le bouchon du flacon l'antigène qui s'y trouve.

6. Agiter pendant 8 min (± 30 s), avec le protège-carte humidifiant, sur l'agitateur mécanique réglé à 100 ± 2 tpm.

Après l'agitation, pour faciliter la différenciation entre les résultats non-réactifs et de réactivité minimale à modérée (RM), il faut agiter et incliner brièvement la carte (3 ou 4 mouvements de va-et-vient). Lire immédiatement et d'une manière macroscopique à l'état "humide" à la lumière d'une lampe à incandescence de forte puissance ou sous forte lumière du jour.

Etablir l'interprétation : retenir la dilution la plus élevée présentant une réaction "réactif", y compris minimale à modérée.

Exemples :

(Phénomène de prozone — voir "Limites de la méthode")

R = Réactif
N = Non-réactif
RM = Réactif minimale à modérée

(Non dilué) 1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	Interprétation
RM	N	N	N	N	Réactif, dilution 1:1
R	R	R	N	N	Réactif, dilution 1:4
R	R	R	R	N	Réactif, dilution 1:8

Sérum non chauffé ou chauffé : si la dilution la plus élevée essayée (1:16) est réactive, procéder comme suit —

1. Préparer une dilution à 1:50 du sérum non-réactif avec une solution saline à 0,9 %. (Cette dilution doit être utilisée pour préparer des dilutions à 1:32 ou plus des échantillons à quantifier).

2. Préparer une dilution à 1:16 de l'échantillon à tester en ajoutant 0,1 mL de sérum à 1,5 mL de solution saline à 0,9 %. Mélanger parfaitement.

3. Mettre 0,05 mL de sérum non-réactif à 1:50 dans les cercles 2, 3, 4 et 5.

4. En utilisant un capillaire, mettre 0,05 mL de dilution à 1:16 de l'échantillon à tester dans le cercle 1.

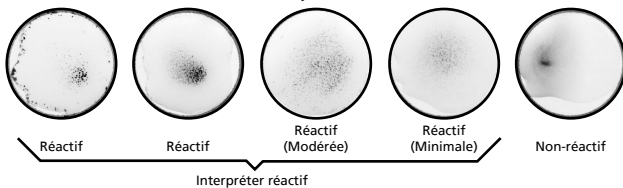
5. Remplir à nouveau le capillaire jusqu'à la ligne rouge, faire une série de dilutions de deux en deux et terminer les tests suivant la description des points 3 à 6. (Voir "Test quantitatif sur carte avec cercle de 18 mm".)

Si nécessaire, des dilutions plus importantes sont préparées en utilisant le sérum non-réactif à 1:50.

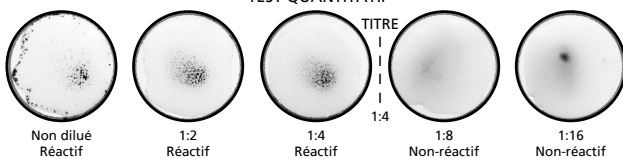
Plasma : s'il faut établir un taux à partir duquel des modifications de titre peuvent être déterminées, l'analyse doit être répétée sur du sérum non chauffé (voir "Sérum non chauffé").

Lecture et rapport des tests sur carte RPR Macro-Vue : les réactions individuelles devront être évaluées à l'état "humide" à la lumière d'une lampe à incandescence de forte puissance ou sous forte lumière du jour. Immédiatement après l'agitation, lire et interpréter comme réactif ou non-réactif.

GUIDE DE LECTURE TEST RPR SUR CARTE AVEC CERCLE DE 18 MM TEST QUALITATIF



TEST QUANTITATIF



Contrôle de qualité réalisé par l'utilisateur

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives de la CLSI (anciennement NCCLS) et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

LIMITES DE LA METHODE

Le diagnostic de la syphilis ne devra pas reposer sur un seul résultat réactif du test sans le support d'un antécédent de réactivité ou d'un signe clinique. Dès lors, comme pour toute autre technique sérologique, les échantillons réactifs par le test sur carte devront être soumis à une étude sérologique complémentaire. Les sérums qui sont réactifs par le test qualitatif devront être quantifiés pour établir un seuil de référence à partir duquel des modifications de titre pourront être déterminées. Ceci est important particulièrement pour l'évaluation du traitement.^{11,22} L'utilisation d'échantillons de plasma pour établir un seuil à partir duquel des modifications de titre peuvent être déterminées n'a pas été évaluée.

Des résultats faussement négatifs peuvent survenir lorsqu'un phénomène de prozone n'est pas reconnu. Des phénomènes de prozone peuvent survenir avec 1 à 2 % des sérums provenant de patients ayant une syphilis secondaire. Ces échantillons peuvent montrer un patron de réactivité qui est légèrement granuleux ou d'apparence "rugueuse". Suite à une dilution, la réactivité va augmenter puis décroître lorsque l'on s'approche de la dilution limite (titre). Tous les sérums donnant une réaction d'apparence rugueuse devraient subir une analyse plus poussée. Des tests non-tréponémiques faussement négatifs sont aussi rencontrés lors de syphilis primaire et tertiaire.¹

Il n'est pas nécessaire d'exécuter la méthode quantitative sur des échantillons réactifs provenant de donneurs.

Les tests RPR sur carte ne doivent pas être utilisés pour analyser les liquides rachidiens.

L'échantillon idéal pour un test néonatal est un sérum d'enfant prélevé par ponction au niveau du talon. Cependant, du sang de cordon peut être utilisé pour fin de dépistage quand aucun autre échantillon n'est disponible.¹

Avec les antigènes de type cardioliipine, de fausses réactions biologiques positives ont été rapportées dans des maladies telles que la mononucléose infectieuse, la lèpre, la malaria, le lupus érythémateux, la vaccine, les pneumonies virales. Pour la lèpre, Portnoy³ n'a pas rapporté de faux réactifs ; Achimastos¹⁹ a rapporté 14 cas de lèpre réactifs sur les 50 testés et Scott²⁰ a rapporté 1 cas réactif avec la carte RPR sur 208, tout en étant non-réactif avec les tests FTA-ABS et TPI (tests d'immunofluorescence absorption et sérologie tréponémique). Dorwart²¹ a étudié l'incidence des réactions biologiques faussement positives dans diverses connectivités. Six cas de lupus érythémateux systémique sur 41 étaient réactifs avec le test sur carte à la où seulement 5 étaient réactifs avec le test sur lame du VDRL (Laboratoire de Recherche en matière de Maladies Vénériennes). Seulement 1 cas parmi 23 de polyarthrite rhumatoïde était réactif aussi bien avec les tests RPR sur carte et VDRL sur lame. Lors de la grossesse, plusieurs rapports ont indiqué des cas de réactions faussement positives.^{11,22} La toxicomanie et les affections auto-immunes peuvent également entraîner des réactions faussement positives.²³ Le caraté, le pian, le béjel et d'autres tréponémiques donnent des réactions positives avec ce test.¹

La lipémie n'interfère pas avec les tests sur carte. Cependant, si le degré de lipémie est élevé au point d'altérer l'état des particules d'antigène, l'échantillon devra être considéré comme non valable pour procéder au test.

Ne pas tester des échantillons fortement hémolysés, contaminés ou très turbides ; dans ces cas émettre un rapport "échantillon inadéquat pour effectuer le test".¹

VALEURS ESCOMPTEES ET CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

La suspension antigénique sur carte de RPR est testée suivant un schéma établi de réactivité par rapport à des suspensions d'antigène de référence et est conforme aux spécifications du U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) pour l'exécution des tests RPR sur carte avec cercle de 18 mm. Ces caractéristiques ont été établies à partir d'un grand nombre d'articles qui ont paru dans la littérature scientifique, et d'après les résultats des tests de routine journaliers dans les laboratoires d'analyses sérologiques de la syphilis et sont conformes aux spécifications CDC.

Les études rapportées montrent que les tests RPR sur carte ont une sensibilité et une spécificité adaptées au diagnostic clinique et un niveau de réactivité similaire à celui du test VDRL sur lame (Laboratoire de Recherche en matière de Maladies Vénériennes).^{6-10,24,25}

Le chauffage des échantillons de sérum à 56 °C pendant 30 min s'est révélé sans effets sur la réactivité.¹³

Une comparaison qualitative sur 1.104 échantillons de sérum et de plasma EDTA, récoltés en même temps, a été menée en utilisant le test RPR sur carte avec cercle de 18 mm **Macro-Vue**. Il y a eu une concordance complète entre les résultats de ces tests qui concernaient 134 paires réactives et 970 paires non-réactives. D'autres études ont donné des résultats comparables entre des paires de plasma et de sérum (306 échantillons) avec les tests RPR sur carte aussi bien dans les procédures qualitative et quantitative.^{14,26}

CONDITIONNEMENT

Réf. Description

Tests sur carte RPR Macro-Vue :

- 274449 Coffret N° 104 : (300 tests qualitatifs), contenant : deux ampoules de 3 mL d'antigène, aiguille 20 G, flacon distributeur, 300 dispositifs **Dispenstirs**, 30 cartes avec chacune dix zones circulaires de 18 mm et 300 capillaires de 0,05 mL.
- 275005 Coffret N° 110 : (500 tests qualitatifs), contenant : trois ampoules de 3 mL d'antigène, aiguille 20 G, flacon distributeur, 50 cartes avec chacune dix zones circulaires de 18 mm et 500 dispositifs **Dispenstirs** de 0,05 mL.
- 275239 Coffret N° cat. 112 : (150 tests quantitatifs), contenant : cinq ampoules de 3 mL d'antigène, aiguille 20 G, flacon distributeur, 150 dispositifs **Dispenstirs**, 50 cartes avec chacune quinze zones circulaires de 18 mm et 150 capillaires de 0,05 mL.
- 275539 Coffret N° 115 : (150 tests qualitatifs), contenant : une ampoule de 3 mL d'antigène, aiguille 20 G, flacon distributeur, 15 cartes avec chacune dix zones circulaires de 18 mm et 150 dispositifs **Dispenstirs** de 0,05 mL.
- 275110 Coffret en gros N° 510 : (5.000 tests qualitatifs).
- 275692 Coffret en gros N° 532 : (10.000 tests qualitatifs).
- 276709 **Macro-Vue** Cartes de contrôle pour test RPR sur carte contenant des échantillons à réactivité variable (cercles de 18 mm R, RM et N), coffret de 10 pièces.
- 272905 **Dispenstirs** (pipettes en plastique, jetables), 0,05 mL, coffret de 500.
- 275115 Coffret en gros N° 515: (5 000 tests qualitatifs), contenant trente ampoules de 3 mL d'antigène, 5 000 dispositifs **Dispenstirs**, 340 cartes avec chacune quinze zones circulaires de 18 mm, accessoires pour le test et matériel jetable.
- 275130 Coffret en gros N° 530: (5 000 tests qualitatifs), contenant trente ampoules de 3 mL d'antigène, 5 000 dispositifs **Dispenstirs**, 170 cartes avec chacune trente zones circulaires de 18 mm, accessoires pour le test et matériel jetable.

BIBLIOGRAPHIE : voir la rubrique "References" du texte anglais.

BD Macro-Vue-RPR-Kartentest mit 18-mm Testfeldern zum qualitativen und quantitativen Testen Ein Brewer-Diagnostik-Kit zum serologischen Nachweis von Syphilis

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Der **Macro-Vue-RPR** (Rapid Plasma Reagin)-Kartentest mit 18-mm Testfeldern ist ein nicht auf Treponemen-Nachweis beruhendes Testverfahren zum serologischen Nachweis von Syphilis.^{1,2}

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Der **Macro-Vue-RPR-Kartentest** mit tropfenförmigen Testfeldern (mit Blut aus der Fingerbeere durchgeführt) war der erste Kartentest; er wurde zum Testen außerhalb des Labors entwickelt und kam ohne die sonst erforderlichen Laborutensilien aus.^{3,4} Durch den Einsatz von Rotorgeräten beim Testvorgang, die Verwendung runder Testfelder sowie durch bestimmte andere technische Änderungen entstand der RPR-Kartentest mit runden Testfeldern, der speziell für Reihenuntersuchungen im öffentlichen Gesundheitswesen und in Kliniklabors entwickelt wurde.

Der RPR-Kartentest mit 18-mm Testfeldern ist zu verwenden, wenn mit venösem Blut gearbeitet wird und eine große Serummenge zur Verfügung steht, wie das normalerweise bei Untersuchungen im öffentlichen Gesundheitswesen und in Kliniklabors der Fall ist.⁵⁻¹² Enthält das Untersuchungsmaterial Antikörper, so tritt durch die Agglutination des Antikörpers mit den Kohlepartikeln des RPR-Kartentest-Antigens eine Ausflockung ein, die auf der Testkarte in Form von schwarzen Klümpchen auf der weißen Plastikbeschichtung erkennbar ist. Nicht reaktives Probenmaterial hingegen zeigt eine gleichmäßige hellgraue Farbe.

In speziellen Fällen, in denen ein nicht auf Treponemen beruhendes, schnelles Testergebnis benötigt wird und das Probenmaterial in Form von EDTA-Plasma vorliegt, kann der RPR-Kartentest mit 18-mm Testfeldern verwendet werden, sofern der Test innerhalb von 24 h erfolgt.^{13,14}

VERFAHRENSPRINZIP

Die RPR-Kartentest-Antigen-Suspension enthält ein Aktivkohle-Cardiolipin-Antigen¹ das in der Lage ist, "Reagin" nachzuweisen, eine antikörperähnliche Substanz, die im Serum oder Plasma von Syphilispatienten vorhanden ist und gelegentlich auch im Serum oder Plasma von Patienten auftritt, die an anderen akuten oder chronischen Krankheiten leiden. Das "Reagin" bindet das Testantigen, das aus mit Cardiolipin-Lecithin beschichteten Cholesterinpartikeln besteht, und verursacht eine makroskopisch erkennbare Ausflockung.

REAGENZIEN

Die RPR-Kartentest-Antigen-Suspension enthält folgende Bestandteile*1: 0,003 % Cardiolipin, 0,020 – 0,022 % Lecithin, 0,09 % Cholesterin, 0,0125 M EDTA, 0,01 M Na₂HPO₄, 0,01 M KH₂PO₄, 0,2 % Natriumazid (Konservierungsmittel), 0,02 % Aktivkohle (speziell zubereitet, BD), 10 % Cholinchlorid (Gew./Vol.) und deionisiertes/distilliertes Wasser.

*Abgestimmt und/oder supplementiert auf die geforderten Testkriterien.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

In-vitro-Diagnostikum.

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z.B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die "Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen"¹⁵⁻¹⁸ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Nach Gebrauch Probenbehälter und andere kontaminierte Materialien im Autoklav sterilisieren und erst dann entsorgen.

Warnung: Die RPR Karten-Antigen-Suspension enthält Natriumazid, das bei Verschlucken gesundheitsschädlich ist. Bei Kontakt mit Säuren entstehen hochgiftige Gase. Bei Berührung mit der Haut sofort mit viel Wasser abwaschen. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferleitungen reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Beim Entsorgen mit sehr viel Wasser nachspülen, um Ansammlungen von Azid zu vermeiden.

Antigen: Die RPR-Kartentest-Antigen-Suspension ist kühl zu lagern. Nicht direktem Sonnenlicht oder Temperaturen über 30 °C aussetzen. Nichtbeachtung dieser Lagerhinweise kann zur Folge haben, daß das Antigen beim Testen eines nicht reaktiven Serums seine Homogenität verliert. Zum Transport eingefrorene Ampullen können bei Raumtemperatur einmal rekonstituiert werden. Mehrmaliges Einfrieren und Auftauen vermeiden. Bei sofortiger Verwendung von gekühltem Antigen kann die Testempfindlichkeit herabgesetzt sein. Antigen daher vor Gebrauch rechtzeitig aus dem Kühlschrank nehmen und auf Raumtemperatur (23 bis 29 °C) erwärmen.

Antigen-Suspension nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

Diagnostik-Testkarten: Diese speziellen plastikbeschichteten Karten werden mit dem RPR-Kartentest-Antigen verwendet. Testfelder nicht berühren, da eventuelle Fettsuren zu falschen Ergebnissen führen können. Beim Verteilen der Probe im Testfeld darauf achten, daß die Karte nicht mit der **Dispenstirs**-Pipette verkratzt wird. Gelingt es nicht, die Probe bis an den Außenrand des Testfelds zu verteilen, so sollte ein anderes Testfeld der Karte verwendet werden.

Dispenstirs-Pipetten/Rührstäbchen und Glaskapillarpipetten: Zum Aufbringen des Untersuchungsmaterials auf die Kartenoberfläche kann eine **Dispenstirs**-Pipette (nur beim qualitativen Test mit 18-mm Testfeldern) oder eine Glaskapillarpipette verwendet werden. Für jede zu testende Probe eine frische **Dispenstirs**-Pipette bzw. Glaskapillarpipette nehmen. Beim Aufziehen der Probe in die Glaskapillarpipette darauf achten, daß kein Probenmaterial in den Gummihalber der Pipette gerät, was bei späteren Tests zu falschen Ergebnissen führen wird.

Kanülen: Um einem Verstopfen der Kanüle vorzubeugen und immer eine exakte Tropfengröße zu haben, ist die Kanüle nach Durchführung des Tests vom Tropfenfläschchen abzunehmen und mit destilliertem/deionisiertem Wasser abzuspülen. Kanüle nicht abwischen, da die Silikonbeschichtung dadurch entfernt wird, was sich negativ auf die Genauigkeit der Tropfengröße auswirken kann.

Ablesen der Kartenergebnisse: Kartentestergebnisse sofort nach Beendigung des Rotationsvorgangs in noch "feuchtem" Zustand unter einer starken Lichtquelle oder im hellen Tageslicht ablesen.

Rotation: Die empfohlene Geschwindigkeit für mechanische Rotation beträgt 100 ± 2 U/min. Der Rotator sollte einen horizontalen Kreis von ca. zwei Zentimetern Durchmesser beschreiben. Testkarte während der Rotation mit einem befeuchteten Verdunstungsschutzdeckel bedecken, um das Austrocknen der Testproben zu vermeiden.

Lagerung des Antigens: Bei 2 bis 8 °C kühl aufbewahren. Alle anderen Bestandteile des Kits an einem trockenen Ort in der Originalverpackung bei Raumtemperatur lagern. Weitere Informationen sind dem Abschnitt "Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen" zu entnehmen.

Nach Umfüllen des Antigens in das (mit jedem Kit mitgelieferte) *Tropffläschchen* ist das Antigen bei kühler Lagerung zwischen 2 bis 8 °C etwa drei Monate, höchstens aber bis zum Verfallsdatum haltbar.

Auf dem Tropffläschchen Chargennummer, Verfallsdatum und Umfülldatum des Antigens vermerken.

PROBENTNAHME UND HANDHABUNG

Eine spezielle Vorbereitung des Patienten vor der Probenentnahme ist nicht erforderlich.

Durchführung des Tests mit nicht erhitztem Serum: Blut durch Venenpunktion in ein sauberes, trockenes Röhrchen ohne Antikoagulum entnehmen. Gerinnen lassen. Die Probe bei einer Geschwindigkeit zentrifugieren, die ausreicht, daß sich die Zellbestandteile am Boden absetzen. Serum im Blutentnahmeröhrchen belassen, oder in ein sauberes, trockenes Röhrchen geben, wenn das Testen sich verzögern muß. Das vom Blutkuchen abpipettierte Serum kann in Fläschchen aus Pyrexglas (oder vergleichbarem Produkt) oder in Reagenzröhrchen mit Verschlusskappe bis zu 5 Tage bei 2-8°C aufbewahrt oder bei -20°C oder darunter tiefergefroren werden.¹ Wiederholtes Auftauen und Einfrieren der Proben vermeiden.

Durchführung des Tests mit erhitztem Serum: Blut ebenso wie bei der Durchführung mit nicht erhitztem Serum entnehmen und zentrifugieren. Überstand in ein sauberes, trockenes Röhrchen geben, anschließend 30 min bei 56 °C im Wasserbad oder Wärmeblock belassen.

Durchführung des Tests mit nicht erhitztem Plasma: Blut durch Venenpunktion in ein Röhrchen entnehmen, das EDTA, Heparin, Kaliumoxalat, Kaliumsequestren oder Natriumfluorid als Antikoagulum enthält. EDTA und Heparin haben den Vorteil, daß es keine Probleme mit der Konzentration gibt; bereits 1 mL Blut erbringt in einem Röhrchen, das normalerweise zur Entnahme von 7 mL Blut dient, zufriedenstellende Resultate. Bei Verwendung der anderen Koagulanzen wird die Entnahme von mindestens einem halben Röhrchen Blut empfohlen. Die Probe wie oben beschrieben zentrifugieren. Plasma in Entnahmeröhrchen belassen, und sofern die Probe nicht unverzüglich verwendet wird, bei 2 bis 8 °C lagern. Die Probe innerhalb von 24 Stunden nach der Blutentnahme testen.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: : Es sind verschiedene RPR-Kartentest-Kits lieferbar (siehe "Lieferbare Produkte"). Die Kartentest-Antigen-Suspension mit vorinstalliertem Ampullenöffner ist in allen Kits so reichlich bemessen, das damit die angegebene Anzahl von täglichen Kontroll- und Kartentests durchgeführt werden kann. Ferner enthalten alle Kits das benötigte Tropffläschchen und die Kanüle, die Testkarten und entweder die Kapillarpipetten oder die **Dispenstirs**-Tropfer.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial:

1. Kontrollen mit vorgegebener, gestaffelter Syphilis-Reaktivität, mit denen täglich vor Testbeginn die optimale Reaktivität der Antigen-Suspension ausgetestet wird. 5. "Lieferbare Produkte": **Macro-Vue-RPR-Kartentest-Kontrollkarten** mit 18-mm Testfeldern.
2. Rotator, 100 ± 2 U/min, der einen Kreis von 2 cm Durchmesser beschreibt, mit automatischer Zeitschaltuhr, Reibradantrieb und einem Deckel mit einem feuchten Schwamm oder Fließpapier.
3. Kochsalzlösung (0,9 %) für den quantitativen Test. Zubereitung: 900 mg trockenes Natriumchlorid, ACS, zu 100 mL deionisiertes/distilliertes Wasser geben.
4. Nicht syphilis-reaktives Serum in 0,9%iger Kochsalzlösung; zur weiteren Verdünnung von Untersuchungsmaterial, das bei einer Verdünnung von 1:16 ein reaktives Ergebnis aufweist.

Ferner werden die zur Vorbereitung, Lagerung und Verarbeitung der klinischen Proben verwendeten Geräte und Laborutensilien benötigt.

Vorbereitungen: Vor Durchführung des Kartentests sind die Abschnitte "Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen" und "Probenentnahme und Handhabung" sorgfältig durchzulesen. Vor Testbeginn sollte die Antigen-Suspension mit Hilfe von Kontrollen mit vorgegebener, gestaffelter Syphilis-Reaktivität (RPR-Kartentest-Kontrollkarte) auf ihre Reaktivität getestet werden. Antigen-Suspension nur verwenden, wenn sie den geforderten Reaktivitätswerten entspricht. Kontrollen, RPR-Kartentest-Antigen-Suspension und Untersuchungsmaterial vor Gebrauch auf Raumtemperatur erwärmen.

Ampulle vor Gebrauch 10 bis 15 S kräftig schütteln, um das Antigen zu resuspendieren und Kohlepartikel, die sich eventuell im Ampullenhals festgesetzt haben, gleichmäßig in der Suspension zu verteilen. Befinden sich nach dem Schütteln immer noch Kohlepartikel im Ampullenhals, so sind diese dort zu belassen, da die Suspension sonst ihre Homogenität verlieren kann.

Der Kanüledurchfluß ist folgendermaßen zu überprüfen: Kanüle fest auf eine 1-ml-Pipette oder Spritze aufsetzen. Pipette oder Spritze mit Antigen-Suspension füllen, senkrecht halten und die in 0,5 mL enthaltenen Tropfen zählen. Die korrekte Tropfenzahl ist der gegenüber angeführten Tabelle zu entnehmen:

Testmethode	Farbe des Kanülenansatzstücks	Anzahl der Tropfen in 0,5 mL
18-mm Testfeld	gelb, 20-G-Kanüle	30 ± 1 Tropfen

Die Kanüle auf das konisch zulaufende Ansatzstück des Plastiktropffläschchens stecken. Darauf achten, daß sich kein Antigen im Ampullenhals befindet. Mit dem vorinstallierten Ampullenöffner den Ampullenhals abbrechen, und das gesamte Antigen durch Zusammendrücken des Fläschchens in das Tropffläschchen aufziehen. Auf dem Tropffläschchen Chargennummer, Verfallsdatum und Umfülldatum des Antigens vermerken. Tropffläschchen mit dem Antigen vor jedem Gebrauch leicht schütteln.

Kanüle und Tropffläschchen werfen, wenn das Kit aufgebraucht ist.

Die in dieser Packungsbeilage enthaltenen Anweisungen sind genauestens zu befolgen.

Qualitativer 18-mm-Kartentest mit Dispenstirs-Tropfern:

1. Eine **Dispenstirs**-Pipette mit Daumen und Zeigefinger entweder in der Nähe des offenen oder in der Nähe des verschweißten Endes halten. Pipette so lange zusammendrücken, bis das offene Ende in das Probenmaterial eingetaucht ist. Befindet sich das Probenmaterial noch im Blutentnahmeröhrchen, so ist dieses senkrecht zu halten, um möglichst wenig Zellsediment aufzurühren. Probe durch allmähliches Nachlassen des Fingerdrucks aufziehen.

2. **Dispenstirs-Pipette** senkrecht knapp über das Testfeld halten, das das Probenmaterial aufnehmen soll (Testkarte dabei nicht berühren), zusammendrücken und einen Tropfen auf das Testfeld pipettieren (ca. 0,05 mL; die **Dispenstirs-Pipette** kann etwas mehr als 0,05 mL aufnehmen und so den Verlust an Probenmaterial ausgleichen, der durch Zurückbleiben einer geringen Menge des Materials in der Pipette entsteht).
3. **Dispenstirs-Pipette** umdrehen, und das Probenmaterial mit dem verschweißten Rührstäbchen über das gesamte Testfeld verteilen. (Überschüssiges Untersuchungsmaterial kann wieder in das Probenröhrchen zurückgegeben werden.) **Dispenstirs-Pipette** werfen, und bei weiteren Proben entsprechend verfahren.
4. Antigen-Tropffläschchen vor Gebrauch leicht schütteln. Senkrecht halten, und zur Überprüfung des Kanüledurchflusses mehrere Tropfen in die Verschlusskappe des Fläschchens geben. Dann je einen "freifallenden" Tropfen (20-G-Kanüle mit gelbem Ansatzstück) in jedes Testfeld pipettieren. *Nicht umrühren. Antigen-Suspension und Untersuchungsmaterial werden erst während des Rotationsvorgangs gemischt.* Das Antigen aus der Verschlusskappe wieder zurück in das Fläschchen saugen.
5. Testkarte 8 Min (± 30 s) auf einem mechanischen Rotator bei 100 ± 2 U/min unter einem Verdunstungsschutzdeckel bewegen. Nach erfolgter Rotation Karte kurz manuell drehen und kippen (drei- bis viermal hin- und herbewegen): ein nicht reaktives Ergebnis kann so leichter von einem minimal reaktiven unterschieden werden. Karte sofort in noch "feuchtem" Zustand makroskopisch unter einer starken Lichtquelle oder im hellen Tageslicht ablesen.

Zu interpretieren als: **Reaktiv** — wenn die charakteristische Agglutination eingetreten ist; sie kann von leicht aber eindeutig (minimal bis mäßig) bis zu ausgeprägt und intensiv reichen.

Nicht reaktiv — wenn keine Agglutination vorliegt. S. Hinweise zum Ablesen der Ergebnisse.

Hinweis: Beim Kartentest sind nur zwei Endergebnisse möglich — reaktiv oder nicht reaktiv; der Reaktivitätsgrad bleibt dabei unberücksichtigt. Liegt die Reaktivität bei minimal bis mäßig (d.h. es tritt eine leichte, aber eindeutige Agglutination ein), so ist sie in jedem Fall als reaktives Ergebnis zu interpretieren.

Tests, die leicht granulöse oder "raue" Reaktionen ergeben, sollten mit einem alternativen Verfahren wiederholt werden. Beim Testen von Blutspendern können solche Ergebnisse als "unbestimmt" festgehalten werden, bis weitere Untersuchungsergebnisse vorliegen. Siehe "Verfahrensbeschränkungen".

Ein reaktiver Syphilis-Test sollte mit einer alternativen Methode wiederholt werden.

Qualitativer 18-mm-Kartentest mit Glaskapillarpipette:

1. Eine unbenutzte Glaskapillarpipette mit einem Gummihalter versehen. Mit der Pipette 0,05 mL Probenmaterial, d.h. bis zur Markierungslinie der Pipette, aus dem Blutentnahmeröhrchen entnehmen; darauf achten, daß kein Zellsediment mitgenommen wird. (Es kann auch eine serologische Pipette dazu benutzt werden; es darf jedoch nicht mit dem Mund pipettiert werden.)
2. Durch Zusammendrücken des Gummihalters und bei gleichzeitigem Verschließen der Öffnung des Gummihalters mit einem Finger wird die genaue Probenmenge in ein Testfeld der Diagnostik-Karte pipettiert.
3. Untersuchungsmaterial mit der **Dispenstirs-Tropfern** über das gesamte Testfeld verteilen: für jede Probe ein frisches **Dispenstirs-Tropfern** verwenden. **Dispenstirs-Tropfern** nach einmaligem Gebrauch werfen. Mit weiteren Proben entsprechend verfahren.
4. Antigen-Tropffläschchen vor Gebrauch leicht schütteln. Senkrecht halten, und zur Überprüfung des Kanüledurchflusses mehrere Tropfen in die Verschlusskappe des Fläschchens geben. Dann je einen freifallenden Tropfen (20-G-Kanüle mit gelbem Ansatzstück) in jedes Testfeld pipettieren. *Nicht umrühren. Antigen-Suspension und Untersuchungsmaterial werden erst während des Rotationsvorgangs gemischt.* Das Antigen aus der Verschlusskappe wieder zurück in das Fläschchen saugen.
5. Testkarte 8 Min (± 30 s) auf einem mechanischen Rotator bei 100 ± 2 U/min unter einem Verdunstungsschutzdeckel bewegen. Nach erfolgter Rotation Karte kurz manuell drehen und kippen (drei- bis viermal hin- und herbewegen): ein nicht reaktives Ergebnis kann so leichter von einem minimal reaktiven unterschieden werden. Karte sofort in noch "feuchtem" Zustand makroskopisch unter einer starken Lichtquelle oder im hellen Tageslicht ablesen.

Zu interpretieren als: **Reaktiv** — wenn die charakteristische Agglutination eingetreten ist; sie kann von leicht aber eindeutig (minimal bis mäßig) bis zu ausgeprägt und intensiv reichen.

Nicht reaktiv — wenn keine Agglutination vorliegt. S. Hinweise zum Ablesen der Ergebnisse.

Hinweis: Beim Kartentest sind nur zwei Endergebnisse möglich — reaktiv oder nicht reaktiv; der Reaktivitätsgrad bleibt dabei unberücksichtigt. Liegt die Reaktivität bei minimal bis mäßig (d.h. es tritt eine leichte, aber eindeutige Agglutination ein), so ist sie in jedem Fall als reaktives Ergebnis zu interpretieren.

Tests, die leicht granulöse oder "raue" Reaktionen ergeben, sollten mit einem alternativen Verfahren wiederholt werden. Beim Testen von Blutspendern können solche Ergebnisse als "unbestimmt" festgehalten werden, bis weitere Untersuchungsergebnisse vorliegen. Siehe "Verfahrensbeschränkungen".

Ein reaktiver Syphilis-Test sollte mit einer alternativen Methode wiederholt werden.

Quantitativer 18-mm-Kartentest:

1. Für jede zu testende Probe 0,05 mL einer 0,9%igen Kochsalzlösung auf die Felder 2 bis 5 pipettieren. Dazu kann eine Kapillarpipette (bis zur roten Markierung füllen) oder eine serologische Pipette (bis zu 1 mL) verwendet werden. KOCHSALZ-LÖSUNG NICHT VERTEILEN!
2. Mit einer Kapillarpipette (Füllvolumen 0,05 mL von der roten Markierung bis zur Pipettenspitze) mit Gummihalter 0,05 mL des Probenmaterials auf Testfeld 1 geben.
3. Kapillarpipette erneut bis zur roten Markierung mit Probenmaterial füllen. Pipette senkrecht halten, und durch 5- bis 6-maliges Aufziehen und Entleeren der Pipette eine zweifache Reihenverdünnung der Kochsalzlösung und des Probenmaterials durchführen. Darauf achten, daß sich keine Bläschen bilden. Jeweils 0,05 mL von Testfeld 2 auf Testfeld 3, dann auf Testfeld 4 und schließlich auf Testfeld 5 pipettieren. Nach jedem Pipettieren erneut mischen. Material in Testfeld 5 mischen, und 0,05 mL davon werfen.
4. In Testfeld 5 (höchste Serumverdünnung) beginnend Serum mit der **Dispenstirs-Tropfern** über das gesamte Testfeld verteilen. Dann in den Testfeldern 4, 3, 2 und 1 entsprechend verfahren. Für jede Probenverdünnung ein frisches **Dispenstirs-Tropfern** verwenden.
5. Antigen-Tropffläschchen vor Gebrauch leicht schütteln. Senkrecht halten, und zur Überprüfung des Kanüledurchflusses mehrere Tropfen in die Verschlusskappe des Fläschchens geben. Dann je einen "freifallenden" Tropfen (20-G-Kanüle mit gelbem Ansatzstück) in jedes Testfeld pipettieren. *Nicht umrühren. Antigen-Suspension und Untersuchungsmaterial werden erst während des Rotationsvorgangs gemischt.* Das Antigen aus der Verschlusskappe wieder zurück in das Fläschchen saugen.
6. Testkarte 8 Min (± 30 s) auf einem mechanischen Rotator bei 100 ± 2 U/min unter einem Verdunstungsschutzdeckel bewegen. Nach erfolgter Rotation Karte kurz manuell drehen und kippen (drei- bis viermal hin- und herbewegen); ein nicht reaktives Ergebnis kann so leichter von einem minimal bis mäßig reaktiven Ergebnis (RM) unterschieden werden. Karte sofort in noch "feuchtem" Zustand makroskopisch unter einer starken Lichtquelle oder im hellen Tageslicht ablesen.

Die Reaktivität wird durch den höchsten Verdünnungswert ausgedrückt, der ein reaktives (einschließlich eines minimal bis mäßigen) Ergebnis zeigt.

Beispiele:

(Prozon-Reaktion — s. "Verfahrensbeschränkungen")

R = Reaktiv
N = Nicht reaktiv
RM = Minimal-mäßig reaktiv

(Unverd.)	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	Interpretation
RM	N	N	N	N	N	Reaktiv, Verdünnung 1:1
R	R	R	N	N	N	Reaktiv, Verdünnung 1:4
R	R	R	R	N	N	Reaktiv, Verdünnung 1:8

Nicht erhitztes oder erhitztes Serum: Ist das Testmaterial mit dem höchsten Verdünnungswert (1:16) reaktiv, so ist folgendermaßen weiterzutesten —

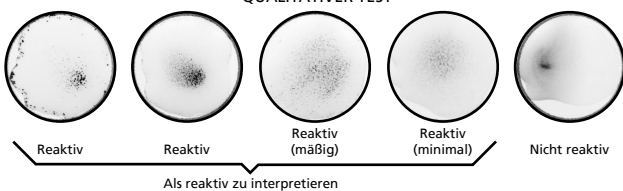
1. Nicht reaktives Serum mit 0,9%iger Kochsalzlösung 1:50 verdünnen. (Diese Lösung wird beim quantitativen Testen zum Verdünnen von Probenmaterial im Verhältnis 1:32 oder höher verwendet.)
2. Probenmaterial 1:16 verdünnen; dazu 0,1 mL Serum gut mit 1,5 mL einer 0,9%igen Kochsalzlösung mischen.
3. 0,05 mL des 1:50 verdünnten, nicht reaktiven Serums in die Testfelder 2, 3, 4 und 5 geben.
4. Mit der Kapillarpipette 0,05 mL des 1:16 verdünnten Probenmaterials in Testfeld 1 pipettieren.
5. Kapillarpipette erneut bis zur roten Markierung füllen, und eine zweifache Reihenverdünnung vornehmen. Test wie in den Schritten 3 bis 6 beschrieben durchführen. (Siehe "Quantitativer 18-mm-Kartentest.")

Höhere Verdünnungen können bei Bedarf mit nicht reaktivem, 1:50 verdünnten Serum zubereitet werden.

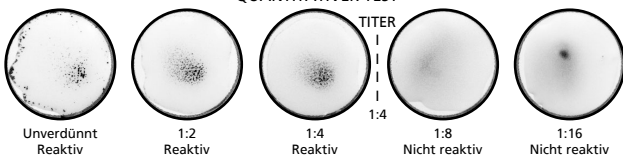
Plasma: Zur Festlegung der Schwelle, ab der eine Titeränderung feststellbar ist, sollte der Test mit nicht erhitztem Serum wiederholt werden (s. "Nicht erhitztes Serum").

Ablesen und Interpretation der Ergebnisse des Macro-Vue-RPR-Kartentests: Die RPR-Kartentestergebnisse sind in noch "feuchtem" Zustand unter einer starken Lichtquelle oder im hellen Tageslicht abzulesen. Ergebnisse sofort nach Beendigung der Rotation ablesen und als "reaktiv" oder "nicht reaktiv" einstufen.

ABLESEN DER TESTERGEBNISSE RPR-KARTENTEST MIT 18-MM TESTFELDERN QUALITATIVER TEST



QUANTITATIVER TEST



Qualitätskontrolle durch den Anwender

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Benutzer sollten die relevanten CLSI (ehemals NCCLS)-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Eine Syphilisdiagnose sollte nicht aufgrund eines einzigen reaktiven Testergebnisses gestellt werden, es sei denn, es liegt eine positive Krankengeschichte oder ein positiver klinischer Befund vor. Wie bei allen serologischen Tests sollte Probenmaterial, das beim Kartentest ein reaktives Ergebnis aufweist, weiteren serologischen Tests unterworfen werden. Serumproben, die beim qualitativen Test reaktiv sind, sollten zur Festlegung der Schwelle, ab der eine Titeränderung feststellbar ist, einem quantitativen Test unterzogen werden; dies ist vor allem im Hinblick auf die Wahl einer geeigneten Therapie wichtig.¹ Über die Verwendung von Plasmaproben zur Festlegung der Schwelle, ab der eine Titeränderung feststellbar ist, liegen keine Erfahrungen vor.

Wenn Prozon-Reaktionen nicht erkannt werden, können falsch-negative Ergebnisse auftreten. Prozon-Reaktionen kommen bei 1 bis 2 % der Patienten mit sekundärer Syphilis vor. Diese Proben können ein nichtreaktives Muster aufweisen, das leicht granulös oder "rauh" erscheint. Bei Verdünnung erhöht sich die Reaktivität und nimmt ab, wenn der Titer-Endpunkt erreicht wird. Alle Testergebnisse, die "rauh" erscheinen, müssen weiter untersucht werden. Falsch-negative Testergebnisse bei nicht auf Treponemen-Nachweis beruhenden Testverfahren werden auch im Inkubationsstadium der Primär- und Spätsyphilis beobachtet.¹

Es ist nicht nötig, das quantitative Verfahren mit reaktiven Spenderproben durchzuführen.

Der RPR-Kartentest kann nicht zur Untersuchung von Spinalflüssigkeiten verwendet werden.

Das ideale Probenmaterial für Tests an Neugeborenen ist das aus Fersenblut gewonnene Serum der Kleinkinder. Nabelschnurlut kann in Screeningtests zur Bestimmung der Normalwerte verwendet werden, falls kein anderes Probenmaterial vorliegt.¹

Bei Cardiolipin-artigen Antigenen wurden biologisch falsch-positive Reaktionen beschrieben, und zwar bei Krankheiten wie Mononucleosis infectiosa, Lepra, Malaria, Lupus erythematodes, Kuhpocken und Viruspneumonie. Portnoy³ beschrieb keine falsch-positiven Ergebnisse bei Lepra; Achimastos¹⁹ berichtete über 14 von 50 Leprafällen und Scott²⁰ über 1 von 208 Leprafällen, die beim FTA-ABS- und beim TPI-Test nicht reaktiv, beim RPR-Kartentest dagegen reaktiv waren. Dorwart²¹ untersuchte chronisch auftretende biologisch falsch-positive Ergebnisse bei verschiedenen Bindegewebskrankheiten. Sechs von 41 Fällen von Lupus erythematodes waren beim Kartentest reaktiv, beim VDRL-Test dagegen nur 5. Nur 1 von 23 Fällen von Arthritis rheumatica war sowohl beim RPR-Kartentest als auch beim VDRL-Test reaktiv. Bei Schwangeren wurde in mehreren Fällen ein falsch-positives Ergebnis beschrieben.^{11,22} Bei Drogenabhängigkeit und Autoimmunerkrankungen können ebenfalls falsch-positive Reaktionen auftreten.²³ Pinta, Frambösie, endemische Syphilis und andere Treponematosen weisen bei diesem Test ein positives Ergebnis auf.¹

Lipämie beeinflusst die Kartentests nicht; ist die Lipämie jedoch so stark, daß der Zustand der Antigenpartikel nicht mehr ablesbar ist, so ist die Probe als zum Testen ungeeignet zu betrachten.

Stark hämolytierte, kontaminierte oder extrem trübe Proben sind nicht zum Testen geeignet und werden gekennzeichnet wie folgt: "Probenmaterial zum Testen ungeeignet".¹

ZU ERWARTENDE WERTE UND LEISTUNGSMERKMALE

Die RPR-Kartentest-Antigen-Suspension wurde gegen Referenz-Antigen-Suspensionen auf ihre Übereinstimmung mit den für das Produkt festgelegten Reaktivitätsvorgaben ausgetestet und entspricht den Produktspezifikationen der U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) zur Durchführung des Kartentests mit 18-mm Testfeldern. Diese Leistungsmerkmale basieren auf einer Vielzahl von Studien, über die in der einschlägigen Literatur berichtet wird, sowie auf Ergebnissen von serologischen

Syphilistests, die in Testlabors bei der täglichen Routine gewonnen wurden; diese Leistungsmerkmale entsprechen den CDC-Spezifikationen.

Studien zeigen, daß der RPR-Kartentest eine ausreichende Empfindlichkeit und Spezifität in bezug auf die klinische Diagnose aufweist und daß sein Reaktivitätsniveau dem des VDRL-Tests entspricht.^{6-10,24,25}

Ferner hat sich gezeigt, daß die 30-minütige Wärmebehandlung der Serumproben bei 56 °C keine Auswirkungen auf die Reaktivität hat.¹³

Für 1104 zur selben Zeit entnommene Serum- und EDTA-Plasmaproben wurde eine qualitative Vergleich durchgeführt; dazu wurde der Macro-Vue-RPR-Kartentest mit 18-mm Testfeldern verwendet. Die Testergebnisse der 134 reaktiven und 970 nicht reaktiven Probenpaare stimmen zu 100 % überein. Bei anderen Studien ergaben sich beim qualitativen und quantitativen Testen mit dem RPR-Kartentest vergleichbare Ergebnisse für Plasma- und Serumprobenpaare (306 Proben).^{14,26}

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.-Nr. Beschreibung

Macro-Vue-RPR-Kartentests:

- 274449 Kit Nr. 104: (300 qualitative Tests). Inhalt: Zwei 3-ml-Ampullen Antigen, eine 20-G-Kanüle, ein Tropffläschchen, 300 Dispenstirs-Tropfern, 30 Testkarten mit jeweils zehn 18-mm Testfeldern und 300 Kapillarpipetten (0,05 mL).
- 275005 Kit Nr. 110: (500 qualitative Tests). Inhalt: Drei 3-ml-Ampullen Antigen, eine 20-G-Kanüle, ein Tropffläschchen, 50 Testkarten mit jeweils zehn 18-mm Testfeldern und 500 Dispenstirs-Tropfern (0,05 mL).
- 275239 Kit Nr. 112: (150 quantitative Tests). Inhalt: Fünf 3-ml-Ampullen Antigen, eine 20-G-Kanüle, ein Tropffläschchen, 150 Dispenstirs-Tropfern, 50 Testkarten mit jeweils fünfzehn 18-mm Testfeldern und 150 Kapillarpipetten (0,05 mL).
- 275539 Kit Nr. 115: (150 qualitative Tests). Inhalt: Eine 3-ml-Ampulle Antigen, eine 20-G-Kanüle, ein Tropffläschchen, 15 Testkarten mit jeweils zehn 18-mm Testfeldern und 150 Dispenstirs-Tropfern (0,05 mL).
- 275110 Kit Nr. 510, Großpackung: (5.000 qualitative Tests).
- 275692 Kit Nr. 532, Großpackung: (10.000 qualitative Tests).
- 276709 Macro-Vue-RPR-Kartentest-Kontrollkarte, jede Kontrollkarte enthält Kontrollen mit gestaffelter Reaktivität (R, RM, N, 18-mm Testfelder), Packung mit 10 Stück.
- 272905 Dispenstirs (Einmalplastikpipetten), 0,05 mL, 500er Packung.
- 275115 Kit Nr. 515, Großpackung: (5.000 qualitative Tests), Inhalt: dreißig 3-ml-Ampullen Antigen, 5.000 Dispenstirs-Tropfern, 340 Testkarten mit jeweils fünfzehn 18-mm Testfeldern, Test-Einwegmaterialien und -zubehör.
- 275130 Kit Nr. 530, Großpackung: (5.000 qualitative Tests), Inhalt: dreißig 3-ml-Ampullen Antigen, 5.000 Dispenstirs-Tropfern, 170 Testkarten mit jeweils dreißig 18-mm Testfeldern, Test-Einwegmaterialien und -zubehör.

LITERATURNACHWEIS: S. "References" im englischen Text.

BD Test RPR su cartoncino Macro-Vue

Qualitativo e quantitativo su cartoncino a cerchi da 18 mm

Kit diagnostico di Brewer per la diagnosi sierologica della sifilide

Italiano

USO PREVISTO

Il Test Macro-Vue RPR (Rapid Plasma Reagin) su cartoncino a cerchi da 18 mm è un metodo non treponemico per la diagnosi sierologica della sifilide.^{1,2}

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

La prima versione del test è stato il Macro-Vue RPR su cartoncino in gocce (che utilizza del plasma prelevato mediante puntura del dito) ideato per analisi in sito senza l'utilizzo di attrezzature di laboratorio.^{3,4} Con l'introduzione della rotazione meccanica, di aree circolari per il test, ed alcuni altri accorgimenti tecnici, venne in seguito elaborato il test RPR su cartoncino a cerchi, adatto alle analisi su larga scala nei servizi di medicina pubblica e nei laboratori clinici.

Il test RPR su cartoncino a cerchi 18 mm è utilizzabile laddove s'impieghino prelievi di sangue venoso e sia però disponibile un elevato volume di siero, così come in genere accade nei servizi di medicina pubblica e nei laboratori clinici.⁵⁻¹² Quando un campione contiene l'anticorpo, si ottiene una reazione di flocculazione con coagulazione delle particelle di carbone dell'antigene per il test RPR su cartoncino; tale coagulazione si presenta sotto forma di granulosità -neri contrastanti con il fondo bianco del cartoncino plastificato. Per contrasto, i campioni non reattivi appaiono di un colore grigio-chiaro omogeneo.

In situazioni particolari, in cui i risultati dei test non treponemici vengano richiesti con urgenza e il campione venga prelevato sotto forma di plasma con EDTA, è possibile usare il test RPR su cartoncino a cerchi da 18 mm, a patto che il test venga eseguito entro 24 h.^{13,14}

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

La sospensione antigenica del test RPR su cartoncino è costituita da antigene cardiolipinico¹, assorbito su particelle di carbone vegetale, che si lega alla "reagina", una sostanza di tipo anticorpale presente nel siero o nel plasma dei soggetti luetici e, occasionalmente, nel siero e nel plasma di persone con infezioni acute o croniche. La reagina si lega all'antigene costituito da particelle di colesterolo rivestite di cardiolipina-lecitina, causando una flocculazione riconoscibile ad occhio nudo.

REAGENTI

I componenti* della sospensione antigenica per il test RPR su cartoncino sono: cardiolipina 0,003%, lecitina 0,020 - 0,022%, colesterolo 0,09%, EDTA 0,0125 M, Na₃HPO₄ 0,01 M, KH₂PO₄ 0,01 M, la sodio azide (conservante) 0,2%, carbone vegetale (preparato specifico, BD) 0,02%, cloruro di colina 10%, p/v ed acqua deionizzata/distillata.

* Controllati e/o corretti per soddisfare i criteri di rendimento.

Avvertenze e precauzioni:

Per uso diagnostico *in vitro*.

I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e i virus dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle linee guida dell'Istituto e alle "Precauzioni standard".¹⁵⁻¹⁸ Prima dello smaltimento, sterilizzare in autoclave i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

Avvertenza - La sospensione antigenica RPR su cartoncino contiene sodio azide, sostanza nociva se ingerita. A contatto con acidi, la sodio azide libera gas estremamente tossici. In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente e abbondantemente con acqua. La sodio azide può reagire con il piombo e il rame delle tubature, formando azidi metalliche altamente esplosive. Eliminare la sodio azide facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi per impedire l'accumulo di azidi.

Antigene: La refrigerazione è consigliata solo per la sospensione antigenica del test RPR su cartoncino. Evitare l'esposizione alla luce solare diretta o a temperature superiori ai 30° C; tali condizioni potrebbero far assumere all'antigene un aspetto granuloso quando utilizzato con un siero non reattivo. Se la fiala contenente l'antigene viene congelata durante il trasporto, questa potrà essere ricostituita una sola volta a temperatura ambiente; sono da evitare i cicli ripetuti di congelamento e scongelamento. Condizionare l'antigene a temperatura ambiente (dai 23 ai 29° C) prima dell'uso. Infatti l'utilizzo dell'antigene refrigerato può portare ad una riduzione della sensibilità del test.

Non utilizzare l'antigene oltre la data di scadenza.

Cartoncini diagnostici per il test: Sono cartoncini speciali plastificati da utilizzarsi con l'antigene per il test RPR su cartoncino. Nel manipolarli bisogna evitare di lasciare impronte digitali sulle zone del cartoncino destinate al test, questo infatti porterebbe alla formazione di depositi oleosi che possono causare risultati errati. Nel distribuire il campione all'interno delle zone destinate all'effettuazione del test, evitare di graffiare il cartoncino con un Dispenstirs. Se il campione in esame non si distribuisce fino al perimetro esterno della zona del test, bisogna usare un'altra area di reazione del cartoncino.

Dispenstirs e capillari: Nell'esecuzione dei test su cartoncino si può usare un miscelatore Dispenstirs (per il solo test qualitativo con cartoncini a cerchi da 18 mm) o un capillare per trasferire il campione sulla superficie del cartoncino. Per ogni campione in esame dovrà essere impiegato un nuovo Dispenstirs o capillare. Nel trasferimento dalla provetta di raccolta, il campione non deve giungere a contatto con il bulbo in gomma del capillare; ciò, infatti, indurrebbe risultati erronei nei test successivi.

Aghi: Al fine di evitare ostruzioni dell'ago e ottenere l'aliquota ottimale della goccia di campione, una volta effettuato il test, bisogna togliere l'ago dal flaconcino dispensatore e sciacquarlo con acqua distillata/deionizzata. Non strofinare l'ago per non rimuovere il rivestimento in silicone, cosa che potrebbe alterare l'accuratezza della dispensazione della goccia di antigene.

Lettura dei risultati del test su cartoncino: La lettura deve essere effettuata immediatamente dopo la rotazione alla luce di una lampada a incandescenza ad alta intensità oppure in condizioni di luce solare intensa.

Rotazione: Si consiglia di utilizzare una velocità di rotazione meccanica di 100 ± 2 giri/minuto. Il rotatore deve circoscrivere un cerchio di circa due centimetri di diametro sul piano orizzontale. Durante la rotazione si deve utilizzare un coperchio umidificatore per impedire la disidratazione dei campioni.

Conservazione dell'antigene: Conservare a 2 - 8° C. Tutti gli altri componenti del kit devono essere conservati in luogo asciutto e a temperatura ambiente nella loro confezione originale. Per ulteriori informazioni vedere "Avvertenze e precauzioni".

Una volta posto nel flaconcino dispensatore (in dotazione con ogni kit) e refrigerato (2 - 8° C), la sua reattività rimane soddisfacente all'incirca per tre mesi, o fino alla data di scadenza.

Apporre al flaconcino dispensatore un'etichetta recante il numero di lotto dell'antigene, la data di scadenza e la data in cui l'antigene vi è stato versato.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Per il prelievo del campione di sangue non è richiesta alcuna particolare preparazione del paziente.

Dosaggio di sieri non trattati al calore: Il sangue prelevato per via endovenosa, deve essere lasciato coagulare in una provetta pulita ed asciutta priva di anticoagulante. Centrifugare il campione a una velocità sufficiente a far sedimentare gli elementi corpuscolati. Mantenere il siero nella provetta di raccolta o trasferire il siero in una provetta pulita e asciutta, se il test non può venir eseguito subito. Conservare il siero, rimosso dal coagulo, in frigorifero a 2-8 °C per un massimo di 5 giorni, o in congelatore a una temperatura di -20 °C o inferiore in un'ampolla di vetro pyrex o equivalente o in una provetta da test tappata.¹ Evitare il ripetuto congelamento e scongelamento dei campioni.

Dosaggio di sieri trattati al calore: Una volta effettuato il prelievo e la centrifugazione, così come indicato per il siero non trattato al calore, trasferire il siero in una provetta pulita e asciutta e quindi riscaldarlo a 56° C per 30 min in una stufa o in un bagno termostatico.

Dosaggio di plasma non trattato al calore: Porre il sangue, prelevato per via endovenosa, in una provetta contenente un anticoagulante quali, EDTA, eritrina, ossalato di potassio, sequestrare di potassio o fluoro di sodio. Il vantaggio dell'EDTA e dell'eritrapina è la loro non critica rispetto alla concentrazione; si possono ottenere risultati soddisfacenti con poco più di 1 mL di sangue in una provetta normalmente utilizzato per un prelievo di 7 mL. Utilizzando gli altri anticoagulanti, è consigliabile prelevare non meno di metà della provetta. Centrifugare come descritto sopra. Mantenere il siero nella provetta di raccolta e conservare il campione a 2 - 8° C. Il campione dovrà essere testato entro 24 ore dal prelievo.

PROCEDURE E RISULTI

Materiali forniti: Sono disponibili diversi kit per test RPR su cartoncino (vedere "Disponibilità"), contenenti una quantità di sospensione antigenica (con aprì-ampolla preinstallato) sufficiente per i controlli giornalieri e i test su cartoncino; i kit contengono inoltre flaconcini dispensatori, aghi dispensatori, cartoncini e capillari o dispositivi Dispenstirs.

Materiali necessari ma non forniti:

- Sieri di controllo con reattività graduata prestabilita da includere nell'esecuzione del test, per confermare la reattività ottimale della sospensione antigenica. Vedere "Disponibilità" per i cartoncini di controllo per test Macro-Vue RPR su cartoncini a cerchi da 18 mm.
- Un rotatore da 100 ± 2 giri/minuto, circoscrive un cerchio dal diametro di 2 cm, con timer automatico, trasmissione a frizione, e con un coperchio contenente della spugna o della carta assorbente umide.
- Soluzione fisiologica (0,9%) da utilizzare nei test quantitativi. Da preparare aggiungendo 900 mg di cloruro di sodio in polvere, ACS a 100 mL di acqua deionizzata/distillata.
- Siero non reattivo per la sifilide in soluzione fisiologica allo 0,9%; necessario per diluire i campioni in esame che forniscano un esito Positivo alla diluizione di 1:16.

Si devono anche avere a disposizione le attrezzature di laboratorio necessarie per la preparazione, la conservazione e la manipolazione dei campioni sierologici.

Preparazioni preliminari: Prima di eseguire il test RPR su cartoncino leggere i paragrafi relativi alle "Avvertenze e precauzioni" e "Raccolta dei campioni". Innanzitutto verificare la reattività della sospensione antigenica con controlli a reattività graduata, utilizzando la procedura specifica. Utilizzare per il dosaggio dei campioni solo le sospensioni antigeniche che danno le corrette reattività dei controlli. Condizionare a temperatura ambiente i controlli, la sospensione antigenica per il test RPR su cartoncino e i campioni da testare.

Prima dell'uso agitare vigorosamente la fiala da 10 a 15 s per risospendere l'antigene e disperdere le particelle di carbone eventualmente aderite al collo della fiala stessa. Se alcune particelle di carbone aderiscono al collo della fiala dopo l'agitazione, non bisognerà insistere nel tentativo di staccarle, in quanto questo potrebbe produrre una granulosità dell'antigene.

Verificare la dispensazione dell'ago mettendo sulla punta una pipetta o siringa da 1 mL, riempire la pipetta (o siringa) con la sospensione antigenica e, mantenendola in posizione verticale, contare il numero di gocce erogate per 0,5 mL. Il numero corretto di gocce è indicato dalla tabella qui accanto:

Tipo di test	Colore del raccordo dell'ago	Numero di gocce per 0,5 mL
Cerchi da 18 mm	Giallo, 20 G	30 ± 1 goccia

Inserire l'ago sul flaconcino dispensatore. Accertarsi che l'antigene si trovi al di sotto della linea tratteggiata; rompere il collo della fiala, usando l'aprì-ampolla preinstallato, e versare tutto l'antigene nel flaconcino dispensatore, schiacciando la bottiglietta in modo da farla aspirare dalla fiala. Apporre al flaconcino dispensatore un'etichetta recante il numero di lotto dell'antigene, la data di scadenza e la data in cui l'antigene vi è stato versato. Agitare dolcemente il flaconcino dispensatore prima di erogare l'antigene.

L'ago e il flaconcino dispensatore dovranno essere eliminati una volta completato l'uso del kit.

Seguire accuratamente le modalità d'impiego del test.

Test qualitativo su cartoncino da 18 mm utilizzando i dispositivi Dispenstirs:

1. Tenere il dispositivo **Dispenstirs** tra il pollice e l'indice in prossimità dell'estremità di miscelazione o dell'estremità sigillata. Premere e continuare ad esercitare pressione fintanto che l'estremità aperta non si trovi al di sotto della superficie del campione. Mantenere la provetta contenente il campione in posizione verticale in modo da evitare la riospensione degli elementi cellulari se si usa la provetta di sangue d'origine. Smettere di esercitare pressione in modo da permettere la raccolta per aspirazione del campione.
2. Mantenendolo in posizione verticale sopra l'area di reazione del cartoncino, su cui deve essere versato il campione (badando tuttavia a non toccare la superficie), premere il dispositivo **Dispenstirs** lasciando cadere una goccia di campione sul cartoncino (corrispondente all'incirca a 0,05 mL; ogni dispositivo **Dispenstirs** è progettato in modo da erogare un quantitativo di liquido leggermente superiore a 0,05 mL, per poter compensare la piccola quantità di campione che viene trattenuta nell'estremità).
3. Capovolgere il dispositivo **Dispenstirs** e, con l'estremità di miscelazione chiusa, distribuire il campione su tutta la superficie del cerchietto (se si desidera, il quantitativo di campione rimasto può essere rimosso nella provetta). Gettare il dispositivo **Dispenstirs**. Ripetere la procedura con tutti i campioni da dosare.
4. Prima dell'uso, agitare delicatamente il flaconcino dispensatore dell'antigene. Mantenendolo in posizione verticale, lasciare cadere alcune gocce di antigene nel tappo della bottiglietta per accertare che l'ago non sia ostruito. Lasciare cadere una goccia "a caduta libera" (ago con raccordo giallo da 20 G) su ogni area di reazione. *Non agitare nuovamente; la miscelazione dell'antigene col campione si verificherà in fase di rotazione.* Riaspirare dal tappo della bottiglietta l'antigene versato in precedenza.
5. Ruotare i campioni sul rotatore meccanico con coperchio umidificatore per 8 min (\pm 30 s) alla velocità di 100 ± 2 giri/minuto.

Dopo la rotazione, per meglio differenziare i risultati non reattivi da quelli a bassa reattività, girare e inclinare lievemente a mano il cartoncino (3 o 4 movimenti nei due sensi). Leggere immediatamente alla luce di una lampada a incandescenza a forte intensità, oppure in condizioni di luce solare intensa, i risultati a livello macroscopico.

Da considerarsi: **Reattivo** — Si ha la caratteristica agglutinazione a granuli piccoli, ma ben distinguibili (da minimi a medi), o granuli più grossi ed evidenti.

Non reattivo — Non compare alcuna agglutinazione a granuli. Vedere la relativa guida alla lettura.

Nota: Con il test su cartoncino esistono soltanto due risposte finali possibili — reattivo o non reattivo, indipendentemente dal grado di reattività. Campioni con reattività minima o moderata (con granuli piccoli ma definiti) devono comunque essere considerati reattivi.

Le reazioni di granulosità leggera o più definita devono essere ripetute usando una procedura alternativa. Agli effetti dello screening del donatore, questi test possono essere considerati "non determinanti", in attesa di valutazioni di conferma. Vedere "Limitazioni della procedura".

Tutti i test positivi della sifilide devono essere ripetuti con procedura alternativa.

Test quantitativo su cartoncino da 18 mm utilizzando capillari:

1. Applicare ad un capillare nuovo un bulbo in gomma e prelevare 0,05 mL di campione dalla provetta di sangue. Riempire il capillare fino alla linea di calibrazione evitando di trasferire elementi cellulari (se si utilizza una pipetta sierologica evitare di aspirare con la bocca).
2. Distribuire il campione nel cerchietto del cartoncino per il test, comprimendo il bulbo di gomma e occludendo nel frattempo con un dito il foro sul bulbo stesso.
3. Usando un nuovo dispositivo **Dispenstirs** per ogni campione, distribuire il campione in tutta l'area del cerchietto. Gettare via il dispositivo **Dispenstirs**. Ripetere la procedura per tutti i campioni da dosare.
4. Prima dell'uso, agitare delicatamente il flaconcino dispensatore con l'antigene. Mantenendolo in posizione verticale, lasciare cadere alcune gocce di antigene nel tappo della bottiglietta per accertare che l'ago non sia ostruito. Lasciare cadere una goccia "a caduta libera" (ago con raccordo giallo da 20 G) su ogni area di reazione. *Non agitare nuovamente; la miscelazione dell'antigene col campione si verificherà in fase di rotazione.* Riaspirare dal tappo della bottiglietta l'antigene versato in precedenza.
5. Ruotare i campioni sul rotatore meccanico con coperchio umidificatore per 8 min (\pm 30 s) alla velocità di 100 ± 2 giri/minuto.

Dopo la rotazione, per meglio differenziare i risultati non reattivi da quelli con bassa reattività, girare e inclinare lievemente a mano il cartoncino (3 o 4 movimenti nei due sensi). Leggere immediatamente, a occhio nudo alla luce di una lampada a incandescenza a forte intensità, oppure in condizioni di luce solare intensa.

Da considerarsi: **Reattivo** — Si ha la caratteristica agglutinazione a granuli piccoli, ma ben distinguibili, (da minimi a medi) o granuli più grossi ed evidenti.

Non reattivo — Non compare alcuna agglutinazione a granuli. Vedere la relativa guida alla lettura.

Nota: Con il test su cartoncino esistono soltanto due risposte finali possibili — reattivo o non reattivo, indipendentemente dal grado di reattività. Campioni con reattività minima o moderata (con granuli piccoli ma definiti) devono comunque essere considerati reattivi.

Le reazioni di granulosità leggera o più definita devono essere ripetute usando una procedura alternativa. Agli effetti dello screening del donatore, questi test possono essere considerati "non determinanti", in attesa di valutazioni di conferma. Vedere "Limitazioni della procedura".

Tutti i test positivi della sifilide devono essere ripetuti con procedura alternativa.

Test quantitativo su cartoncino a cerchi da 18 mm:

1. Per ogni campione da dosare, mettere 0,05 mL di soluzione fisiologica allo 0,9% sui cerchi numerati da 2 a 5. È possibile impiegare un capillare (linea rossa), o una pipetta sierologica da 1 mL o meno. **NON DISTRIBUIRE LA SOLUZIONE FISIOLÓGICA!**
2. Usando un capillare (linea rossa graduata a 0,05 mL fino alla punta) con bulbo di gomma inserito, versare 0,05 mL di campione sul cerchietto 1.
3. Riempire di nuovo il capillare fino alla linea rossa con il campione in esame e, mantenendolo in posizione verticale, preparare delle diluizioni seriali a raddoppio aspirando la miscela di soluzione fisiologica e campione nel capillare 5 o 6 volte. Evitate la formazione di bolle d'aria. Trasferire 0,05 mL di campione dal cerchietto 2 al cerchietto 3, al cerchietto 4 e al cerchietto 5, mescolando dopo ogni trasferimento. Dopo aver mescolato il contenuto nel cerchietto 5, scartarne 0,05 mL.
4. Usando un nuovo dispositivo **Dispenstirs** per ogni campione, iniziando dalla diluizione più alta (cerchietto 5), distribuire il campione sull'intera superficie del cerchio. Ripetere l'operazione con i cerchietti 4, 3, 2 e 1.
5. Prima dell'uso, agitare delicatamente il flaconcino dispensatore dell'antigene. Mantenendolo in posizione verticale, lasciare cadere alcune gocce di antigene nel tappo della bottiglietta per accertare che l'ago non sia ostruito. Lasciare cadere una goccia "a caduta libera" (ago con raccordo giallo da 20 G) su ogni area di reazione. *Non agitare nuovamente; la miscelazione dell'antigene col campione si verificherà in fase di rotazione.* Riaspirare dal tappo della bottiglietta l'antigene versato in precedenza.
6. Ruotare i campioni sul rotatore meccanico con coperchio umidificatore per 8 min (\pm 30 s) alla velocità di 100 ± 2 giri/minuto.

Dopo la rotazione, per meglio differenziare i risultati non reattivi da quelli debolmente o moderatamente reattivi (RM), girare e inclinare lievemente a mano il cartoncino (3 o 4 movimenti nei due sensi). Leggere immediatamente a occhio nudo alla luce di una lampada a incandescenza a forte intensità, oppure in condizioni di luce solare intensa.

Riportare i risultati come la diluizione più alta che risulti reattiva, ivi comprese le reattività deboli o moderate.

Esempi:

(Effetto prozona — vedere "Limitazioni della procedura")

R = Reattivo
N = Non reattivo
RM = Reattivo moderato

(Non diluito)	1:2	1:4	1:8	1:16	Risposta
RM	N	N	N	N	Reattivo a diluizione 1:1
R	R	N	N	N	Reattivo a diluizione 1:4
R	R	R	N	N	Reattivo a diluizione 1:8

Sieri trattati o non trattati al calore: Se la diluizione più alta dosata (1:16) è risultata reattiva, bisogna procedere nel modo seguente —

1. Preparare una diluizione 1:50 del siero non reattivo in soluzione fisiologica allo 0,9% (da usarsi per diluire i campioni da quantizzare a 1:32 o diluizioni più elevate).
2. Preparare una diluizione 1:16 del campione in esame aggiungendo 0,1 mL di siero ad 1,5 mL di soluzione fisiologica allo 0,9%. Miscelare accuratamente.
3. Mettere 0,05 mL della diluizione 1:50 del siero non reattivo nei cerchi 2, 3, 4, e 5.
4. Con il capillare, versare 0,05 mL della diluizione 1:16 del campione in esame nel cerchio 1.
5. Riempire di nuovo il capillare fino linea rossa, fare delle diluizioni seriali a raddoppio e completare il test come descritto nei punti da 3 a 6. (Vedere "Test quantitativo su cartoncino a cerchi da 18 mm".)

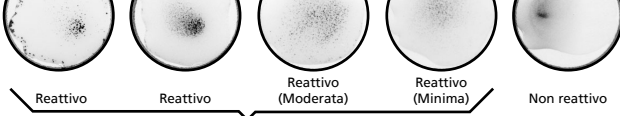
Se necessario, è possibile preparare delle diluizioni maggiori utilizzando come diluente il siero non reattivo diluito 1:50.

Plasma: Se occorre stabilire un valore base da cui determinare i cambiamenti del titolo, il test dovrebbe essere ripetuto con siero non trattato al calore (vedere "Siero non trattato al calore").

Letture e interpretazioni dei test RPR su cartoncino Macro-Vue: Le singole reazioni dovrebbero essere lette immediatamente alla luce di una lampada a incandescenza a forte intensità o in condizioni di luce solare intensa. Subito dopo la rotazione, leggere e interpretare come reattivi o non reattivi i campioni.

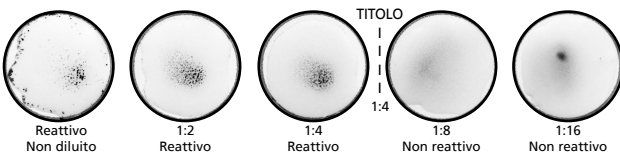
GUIDA ALLA LETTURA TEST RPR SU CARTONCINO A CERCHI DA 18 MM

TEST QUALITATIVO



Da considerarsi reattivo

TEST QUANTITATIVO



Controllo di qualità a cura dell'utente:

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione CLSI (già NCLLS) in merito.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

La diagnosi di sifilide non dovrebbe basarsi su un singolo test reattivo senza il supporto di dati clinici ed anamnesici. Così, come per ogni altra procedura sierologica, i campioni reattivi al test su cartoncino devono essere sottoposti ad ulteriori studi sierologici. I campioni di siero, risultati reattivi nelle indagini di tipo qualitativo, devono essere quantizzati per definire un valore di base con il quale sia possibile valutare i cambiamenti di titolo, soprattutto nel monitoraggio del trattamento.¹ Non è stato valutato l'utilizzo di campioni di plasma per stabilire il valore di base su cui riconoscere i cambiamenti di titolo.

I risultati falsamente negativi possono essere dovuti al mancato riconoscimento degli effetti prozona. Gli effetti prozona si verificano nell'1 - 2% dei pazienti con sifilide secondaria. Questi campioni possono presentare una configurazione non reattiva, leggermente o decisamente granulosa. Alla diluizione, la reattività aumenta e poi cala a mano a mano che si avvicina il titolo estremo. Tutti i test che danno risultati di granulosità devono subire ulteriore verifica. Risultati falsamente negativi nel test non treponemico vengono evidenziati anche all'incubazione della sifilide primaria e tarda.¹

Non è necessario eseguire il test quantitativo su campioni reattivi di donatori.

I test RPR su cartoncini non devono essere usati per dosare il liquido spinale.

Il campione ideale per i test neonatali è il siero ottenuto mediante puntura del tallone. Il sangue del cordone ombelicale può essere peraltro usato per screening di base quando non si hanno a disposizione altri campioni.¹

Con l'impiego di antigeni di tipo cardiolipinico sono stati segnalati dei falsi positivi biologici in pazienti affetti da mononucleosi infettiva, lebbra, malaria, lupus eritematoso, vaiolo vaccino e polmonite virale. Nella lebbra, Portnoy² non ha riportato alcun falso positivo; Achimastos¹⁹ ha segnalato che 14 casi su 50 di lebbra erano reattivi, e Scott²⁰ ha segnalato come 1 caso su 208, non reattivo con test FTA-ABS e TPI, risultasse al contrario reattivo con RPR su cartoncino. Dorwart²¹ ha studiato l'incidenza di reazioni croniche FPB (falsi positivi biologici) in varie malattie del connettivo. Sei casi su 41 di lupus eritematoso sistemico erano reattivi con il test su cartoncino, mentre solo 5 lo erano con il test VDRL su vetrino. Solo 1 su 23 casi di artrite reumatoide era reattivo sia con RPR su cartoncino che con VDRL su vetrino. Varie segnalazioni hanno evidenziato la comparsa di reazioni falsamente positive in gravidanza.^{11,22} Anche la tossicodipendenza e le malattie autoimmuni possono dare delle reazioni falsamente positive.²³ La pinta, la fraebasia, il bejel ed altre treponematosi, producono delle reazioni positive.¹

La lipemia non interferisce con i test su cartoncino, tuttavia, se il livello lipemico è così elevato da mascherare le particelle antigeniche, il campione deve essere considerato inidoneo per l'esecuzione del test.

Non eseguire il test di campioni che siano notevolmente emolizzati, contaminati o estremamente torbidi; riportare come "campione non adatto al test."¹

VALORES PREVISTOS E CARACTERÍSTICAS DE PERFORMANCE

La suspensión antigénica del test RPR su cartoncino es dosada para la reactividad prestabilita en confronto con suspensiones antigenicas de riferimento ed è conforme alle normative sui prodotti emanate dall'U.S. Centers of Disease Control and Prevention (CDC) per l'esecuzione dei test RPR su cartoncino a cerchi da 18 mm. Le caratteristiche d'esecuzione, conformi alle normative CDC, sono state ottenute dal gran numero di pubblicazioni apparse nella letteratura scientifica e dall'uso routinario quotidiano nei laboratori per i test sierologici per la sifilide.

Gli studi riportati mostrano come i test RPR su cartoncino presentino una sensibilità ed una specificità adeguate per le diagnosi cliniche ed un livello di reattività comparabile al test VDRL su vetrino.^{6-10,24,25}

È stato dimostrato che il trattamento al calore dei campioni di siero alla temperatura di 56° C per 30 minuti non ha alcuna influenza sulla reattività.¹³

È stato effettuato un controllo qualitativo utilizzando test **Macro-Vue RPR** su cartoncino a cerchi da 18 mm su 1104 campioni di siero e di plasma con EDTA prelevati simultaneamente. È stata riscontrata una completa correlazione tra i risultati delle 134 coppie reattive e 970 coppie non reattive. In altri studi sono stati ottenuti risultati paragonabili con coppie di plasma e di siero (306 campioni) utilizzando il test RPR su cartoncino sia in procedure qualitative che in procedure quantitative.^{14,26}

DISPONIBILITÀ

N° di cat. Descrizione

Macro-Vue, test su cartoncini RPR:

274449	Kit N° 104: (300 test qualitativi), contenuto: due fiale di antigene da 3 mL, ago da 20 G, flaconcino dispensatore, 300 dispositivi Dispenstirs , 30 cartoncini con dieci pozzetti circolari da 18 mm ciascuno e 300 capillari da 0,05 mL.
275005	Kit N° 110: (500 test qualitativi), contenuto: tre fiale di antigene da 3 mL, ago da 20 G, flaconcino dispensatore, 50 cartoncini con dieci pozzetti circolari da 18 mm l'uno e 500 dispositivi Dispenstirs da 0,05 mL.
275239	Kit N° 112: (150 test quantitativi), contenuto: cinque fiale di antigene da 3 mL, ago da 20 G, flaconcino dispensatore, 150 dispositivi Dispenstirs , 50 cartoncini con quindici pozzetti circolari da 18 mm ciascuno e 150 capillari da 0,05 mL.
275539	Kit N° 115: (150 test qualitativi), contenuto: una fiala di antigene da 3 mL, ago da 20 G, flaconcino dispensatore, 15 cartoncini con dieci pozzetti circolari da 18 mm ciascuno e 150 dispositivi Dispenstirs da 0,05 mL.
275110	Kit completo N° 510: (5.000 test qualitativi).
275692	Kit completo N° 532: (10.000 test qualitativi).
276709	Macro-Vue cartoncini di controllo per test RPR, contengono dei campioni dalla reattività graduata (cerchietti da 18 mm R, RM e N). Scatola da 10.
272905	Dispenstirs (pipette in plastica monouso), 0,05 mL, scatola da 500.
275115	Kit all'ingrosso n. 515: (5.000 test qualitativi), contenente trenta fiale di antigene da 3 mL, 5.000 dispositivi Dispenstirs , 340 cartoncini con quindici pozzetti circolari da 18 mm ciascuno, accessori e materiali monouso per il test.
275130	Kit all'ingrosso n. 530: (5.000 test qualitativi), contenente trenta fiale di antigene da 3 mL, 5.000 dispositivi Dispenstirs , 170 cartoncini con trenta pozzetti circolari da 18 mm ciascuno, accessori e materiali monouso per il test.

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.



Macro-Vue RPR Card Tests

Círculo de 18 mm Qualitativo e Quantitativo

Kit de Diagnóstico Brewer Para Detecção Serológica da Sífilis

Português

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **Macro-Vue RPR** (Reagina Rápida Plasmática) 18 mm Circle Card Test (Teste de Cartão com Círculo de 18 mm) consiste num procedimento de teste não treponémico para a detecção serológica de sífilis.^{1,2}

RESUMO E EXPLICAÇÃO

O **Macro-Vue RPR** Teardrop Card Tes (Teste de Cartão de Lágrima **Macro-Vue RPR**) (usando sangue colhido por punção do dedo) foi o Teste de Cartão original e foi desenvolvido para utilização no campo, onde o teste pode ser efectuado sem equipamento laboratorial.^{3,4} Ao incorporar rotação da máquina, superfícies de teste em anel e algumas outras alterações técnicas, o RPR Circle Card Test foi desenvolvido para utilização em testes de larga escala em laboratórios clínicos e de saúde pública.

O Teste de Cartão com Círculo de 18 mm RPR está recomendado quando se utiliza colheita de sangue venoso e está disponível um grande volume de soro, tal como sucede habitualmente em laboratórios clínicos e de saúde pública.⁵⁻¹² Quando uma amostra contém anticorpos, ocorre floculação com uma co-aglutinação das partículas de carbono do antígeno do Cartão RPR, que aparecem como aglomerações negras contra o fundo branco do cartão plastificado. Em contrapartida, amostras não reactivas parecem ter uma cor cinzenta clara.

Em situações especiais, quando os resultados do teste não treponémico são necessários rapidamente e a amostra é colhida sob a forma de plasma EDTA, o Teste de Cartão com Círculo de 18 mm RPR pode ser usado caso o teste seja efectuado no prazo de 24 h.^{13,14}

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

A suspensão de antígeno em Cartão RPR consiste num antígeno cardioplipina em partícula de carbono¹ que detecta "reagina", uma substância semelhante a anticorpo presente no soro ou plasma de indivíduos sífilíticos e ocasionalmente no soro ou plasma de indivíduos com outras doenças agudas ou crónicas. A reagina liga-se ao antígeno de teste, que é constituído por partículas de colesterol revestidas por cardioplipina-lectina, originando floculação macroscópica.

REAGENTE

Os ingredientes* da RPR Card Antigen Suspension são¹: cardioplipina a 0,003%, lecitina de 0,020 a 0,022%, colesterol a 0,09%, EDTA 0,0125 M, Na₂HPO₄ 0,01 M, KH₂PO₄ 0,01 M, azida de sódio a 0,2% (conservante), carvão a 0,02% (preparado especial, BD), cloreto de colina a 10%, p/v, e água desionizada/destilada.

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

Avisos e Precauções:

Para uso em Diagnóstico *in-vitro*.

Nas amostras clínicas podem estar presentes microorganismos patogénicos, incluindo vírus das hepatites e Vírus da Imunodeficiência Humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue e outros fluidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções padrão"¹⁵⁻¹⁸ e as linhas de orientação da instituição.

Advertência - A Suspensão de Antígeno em Cartão RPR contém azida de sódio, a qual é nociva quando ingerida. O contacto com ácidos liberta um gás altamente tóxico. Após o contacto com a pele, lavar imediatamente com água abundante. A azida de sódio pode reagir com as canalizações de chumbo e cobre, produzindo azidas metálicas altamente explosivas. Ao eliminar, dever-se-á irrigar com um grande volume de água para evitar a sua acumulação.

Antígeno: Está apenas recomendada refrigeração para a RPR Card Antigen Suspension: O armazenamento sob luz solar intensa ou temperaturas superiores a 30°C deve ser evitado; tais condições poderão provocar um aspecto irregular do antígeno quando este for utilizado com soros não reactivos. Se a ampola de antígeno for congelada durante o transporte, poderá ser reconstituída uma vez aquecendo-a à temperatura ambiente; o congelamento e descongelamento repetidos devem ser evitados. A utilização imediata de um antígeno refrigerado poderá resultar numa diminuição da sensibilidade do teste. Assim, quando retirar do frigorífico, deixe o antígeno aquecer até à temperatura ambiente (23 a 29°C) antes de utilizar.

Não use o antígeno findo o prazo de validade.

Cartões de teste para diagnóstico: Cartões especialmente preparados, revestidos por plástico, concebidos para utilização com o antígeno RPR Card. Durante o manuseamento, deve ter cuidado para não colocar os dedos sobre as áreas de teste, uma vez que tal poderá originar a deposição de gordura e produzir resultados de teste incorrectos. Quando espalhar as amostras dentro dos limites das áreas de teste, evite riscar o cartão com o dispositivo **Dispenstirs**. Se a amostra não se espalhar para o perímetro exterior da área de teste, use outra área de teste do cartão.

Dispenstirs e Capilares: Ao efectuar os Testes de Cartão, pode ser utilizado um dispositivo **Dispenstirs** (apenas para o teste qualitativo de Círculo de 18 mm) ou um capilar pode para transferir a amostra para a superfície do cartão. Deve utilizar-se um dispositivo **Dispenstirs** ou capilar novos para cada amostra de teste. Quando se transferir a amostra do tubo de colheita, a amostra não deve ser aspirada para a peça de borracha fixa ao capilar, dado que tal irá originar leituras incorrectas em testes subsequentes.

Agulhas: Para manter o caminho livre para a administração das gotas com rigor, após conclusões dos testes, retire a agulha do frasco de dispensa e lave a agulha com água desionizada/destilada. Não limpe a agulha dado que tal irá remover o revestimento de silicone e pode afectar a precisão da gota de antígeno que é distribuída.

Leitura dos resultados do teste em cartão: Ler imediatamente após a rotação no estado "húmido", sob uma lâmpada incandescente de intensidade elevada ou luz diurna forte.

Rotação: A velocidade recomendada para a rotação mecânica é de 100 ± 2 rpm. O rotor deve circunscrever um círculo de, aproximadamente, dois centímetros de diâmetro no plano horizontal. Deve ser utilizada uma tampa de humedificação humedecida para impedir a secagem das amostras de teste durante a rotação.

Armazenamento do Antígeno: Refrigere entre 2 e 8°C. Todos os outros componentes do kit devem ser armazenados em local seco à temperatura ambiente na embalagem original. Consulte a secção de "Advertências e Precauções" para mais informações.

Depois de o antígeno ser colocado no frasco de distribuição (fornecido com os kits) e refrigerado (2 a 8°C), a reactividade mantém-se satisfatória durante cerca de três meses, ou até ao fim do prazo de validade, caso este ocorra primeiro.

Identifique o frasco de distribuição com o número do lote de antígeno, o prazo de validade e a data de colocação do antígeno no frasco.

COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

Não é necessária qualquer preparação especial do doente antes da colheita da amostra.

Para Testar Soro Não Aquecido: Colha o sangue por punção venosa para um tubo limpo e seco sem anticoagulante e deixe coagular. Centrifugue a amostra a uma força suficiente para sedimentar os elementos celulares. Mantenha o soro no tubo de colheita original ou transfira o soro para um tubo de teste limpo e seco, caso se proteja a realização do teste. O soro retirado do coágulo pode conservar-se refrigerado até cinco dias, entre 2 e 8 °C, ou congelado a -20 °C ou temperatura inferior, em pyrex (ou equivalente), frasco ou tubo de ensaio rolhado.¹ Evitar o congelamento-descongelamento repetido das amostras.

Para Testar Soro Aquecido: Depois da colheita e centrifugação, como sucede com o soro não aquecido, transfira para um tubo seco e limpo e coloque em banho de água a 56°C ou num bloco de calor durante 30 min.

Para Testar Plasma Não Aquecido: Colha o sangue por punção venosa num tubo contendo anticoagulante tal como EDTA, heparina, oxalato de potássio, sequestrino de potássio ou fluoreto de sódio. EDTA e heparina têm a vantagem de não serem críticos no que diz respeito à concentração; basta apenas 1 mL de sangue num tubo habitualmente utilizado para colher 7 mL de sangue para se obterem resultados satisfatórios. Com os outros anticoagulantes, é aconselhável colher pelo menos metade de um tubo de sangue. Centrifugue conforme indicado acima. Mantenha o plasma no tubo de colheita original e, se for armazenado, armazene a amostra entre 2 e 8°C. Teste a amostra no prazo de 24 h depois da colheita do sangue.

PROCEDIMENTOS E RESULTADOS

Material fornecido: Estão disponíveis vários kits de RPR Card Test (ver "Apresentação") que contêm uma suspensão de antígeno no cartão suficiente, com um abridor de ampolas pré-instalado, para a realização do número especificado dos testes diários de cartão e de cartão de controlo, bem como o frasco de dispensa, agulha de dispensa, cartões e vasos capilares ou dispositivos **Dispenstirs**.

Material necessário mas não fornecido:

- No teste de cada dia devem ser incluídos controlos com padrões estabelecidos de reactividade classificada, para confirmar a reactividade ideal do antígeno. Ver "Apresentação" para os Cartões de Controlo do **Macro-Vue** Teste de Cartão com Círculo de 18 mm RPR.
- Um rotador, 100 ± 2 rpm, fazendo um círculo com 2 cm de diâmetro, com cronómetro automático, motor de fricção e uma tampa contendo material absorvente ou uma esponja humedecida.
- Soro fisiológico (0,9%) para utilização nos testes quantitativos. Prepare adicionando 900 mg de cloreto de sódio seco, ACS a 100 mL de água desionizada/destilada.
- Soro não reactivo para sífilis em soro fisiológico a 0,9%; necessário para diluir as amostras de teste, produzindo um resultado de Reactivo com a diluição de 1:16.

Também é necessário o equipamento e material de laboratório para a preparação, armazenamento e manipulação de amostras serológicas.

Preparações preliminares: Proceda à revisão de "Advertências e Precauções" e "Colheita e Preparação das Amostras" antes do desempenho dos testes de cartão. Quando se forem realizar os testes, deve verificar-se a suspensão de antígeno com controlos de reactividade classificada utilizando o procedimento de teste particular. Só devem ser utilizados os antígenos que produzirem as reacções prescritas. Os controlos e a Suspensão de antígeno RPR Card e as amostras de teste devem estar à temperatura ambiente quando utilizados.

Antes da utilização, agite vigorosamente a ampola durante 10 a 15 s para re-suspender o antígeno e dispersar quaisquer partículas de carbono alojadas no colo da ampola. Caso permaneça algum carbono no colo da ampola depois desta agitação, não deve fazer qualquer esforço adicional para o desalojar, dado que tal apenas irá tender a produzir um antígeno grosso.

Verifique a administração da agulha colocando a agulha firmemente numa pipeta ou seringa de 1 mL; encha a pipeta ou seringa com suspensão de antígeno e, segurando na pipeta ou seringa na vertical, conte o número de gotas administradas em 0,5 mL. O número correcto de gotas consta do quadro oposto:

Método de teste	Cor do Eixo da Agulha	Número de Gotas em 0,5 mL
Círculo de 18 mm	Amarelo, 20 G	30 ± 1 gotas

Fixe a agulha ao ajuste cónico do frasco de distribuição. Certifique-se de que o antígeno está debaixo da linha de fractura; parta o colo da ampola com o abridor pré-instalado e aspire todo o antígeno para o frasco de distribuição colapsando o frasco e utilizando-o como um dispositivo de sucção. Identifique o frasco de distribuição com o número de lote do antígeno, o prazo de validade e a data de colocação do antígeno no frasco. Agite suavemente o frasco de distribuição do antígeno antes de cada série de gojamento de antígeno.

A agulha e frasco de distribuição devem ser eliminados quando o kit tiver sido gasto.

É imperativo que se cumpram, ao pormenor, as técnicas aqui descritas.

Teste de Cartão Qualitativo 18 mm Utilizando Dispositivos Dispenstirs:

1. Segure num dispositivo Dispenstirs entre o polegar e o indicador próximo da extremidade de agitação ou selada. Aperte e não liberte a pressão até que a extremidade aberta esteja por baixo da superfície da amostra, segurando no tubo da amostra verticalmente para minimizar a agitação dos elementos celulares quando usar o tubo de sangue original. Liberte a pressão do dedo para aspirar a amostra.
2. Segurando numa posição vertical directamente por cima da área de teste do cartão onde será administrada a amostra (não tocando na superfície do cartão), aperte o dispositivo Dispenstirs permitindo que caia uma gota no cartão (aproximadamente 0,05 mL; cada dispositivo Dispenstirs foi concebido para expelir ligeiramente mais de 0,05 mL, para compensar a pequena quantidade de amostra retida na extremidade do agitador).
3. Inverta o dispositivo Dispenstirs e, com a extremidade de agitação selada, espalhe a amostra preenchendo toda a superfície do círculo. (Se desejar, a amostra restante pode ser eliminada para o tubo de amostra da qual foi aspirada.) Elimine o dispositivo Dispenstirs. Repita o procedimento para o número de amostras a serem testadas.
4. Agite suavemente o frasco de distribuição de antígeno antes da utilização. Segurando na vertical, dispense várias gotas na tampa do frasco de distribuição para garantir que a passagem da agulha se faz livremente. Coloque uma gota em "queda livre" (agulha de 20 G com eixo amarelo) em cada área de teste. Não volte a agitar; a mistura do antígeno e amostra é efectuada durante a rotação. Capture o antígeno pré-largado da tampa do frasco.
5. Rode durante 8 min (± 30 s) por de baixo da tampa humidificante, num rotador mecânico a 100 \pm 2 rpm.

Após a rotação, o cartão deve ser rodado e inclinado manualmente (3 a 4 movimentos dum lado para o outro), durante breves instantes, para ajudar a diferenciar os resultados não reactivos dos resultados minimamente reactivos. Ler de imediato macroscopicamente no estado "húmido", sob uma lâmpada incandescente de intensidade elevada ou luz diurna forte.

Relate como: Reactivo — apresenta aglutinação característica variando entre ligeira mas inequívoca (mínima a moderada) a marcada e intensa.

Não reactivo — não apresenta qualquer aglutinação. Consulte o Guia de Leitura.

Nota: Com o Teste de cartão, só existem dois relatórios finais possíveis — Reactivo ou Não Reactivo, independentemente do grau de reactividade. Reactividade mínima a moderada (apresenta uma aglutinação discreta mas inequívoca) é sempre reportado como Reactivo.

Reacções ligeiramente granulares ou "ásperas" devem ser repetidas utilizando um procedimento alternativo. Para rastreio de dadores, estes testes podem ser reportados como "indeterminados", sujeitos a avaliação adicional. Ver "Limitações do Procedimento."

Todos os testes de sífilis reactivos devem ser repetidos utilizando um procedimento alternativo.

Teste de Cartão Qualitativo 18 mm Utilizando Capilares:

1. Usando um capilar novo, fixe a pêra de borracha ao capilar e retire 0,05 mL de amostra de sangue do tubo de colheita deixando a amostra subir para a linha de medição no capilar, usando de precaução para não transferir elementos celulares. (Se desejar, poderá utilizar uma pipeta serológica, mas não pipete com a boca.)
2. Coloque a amostra medida no círculo do cartão de teste de diagnóstico, comprimindo a pêra de borracha enquanto mantém um dedo por cima do orifício da pêra.
3. Utilizando um novo dispositivo Dispenstirs para cada amostra, espalhe de forma a encher todo o círculo. Elimine o dispositivo Dispenstirs. Repita o procedimento para o número de amostras a serem testadas.
4. Agite suavemente o frasco de distribuição de antígeno antes da utilização. Segurando na vertical, dispense várias gotas na tampa do frasco de distribuição para garantir que a passagem da agulha se faz livremente. Coloque uma gota em "queda livre" (agulha de 20 G com eixo amarelo) em cada área de teste. Não volte a agitar; a mistura do antígeno e amostra é efectuada durante a rotação. Capture o antígeno pré-largado da tampa do frasco.
5. Rode durante 8 min (± 30 s) por de baixo da tampa humidificante, num rotador mecânico a 100 \pm 2 rpm.

Após a rotação, o cartão deve ser rodado e inclinado manualmente (3 a 4 movimentos dum lado para o outro), durante breves instantes, para ajudar a diferenciar os resultados não reactivos dos resultados minimamente reactivos. Ler de imediato macroscopicamente no estado "húmido", sob uma lâmpada incandescente de intensidade elevada ou luz diurna forte.

Relate como: Reactivo — apresenta aglutinação característica variando entre ligeira mas inequívoca (mínima a moderada) a marcada e intensa.

Não reactivo — não apresenta qualquer aglutinação. Consulte o Guia de Leitura.

Nota: Com o Teste de cartão, só existem dois relatórios finais possíveis — Reactivo ou Não Reactivo, independentemente do grau de reactividade. Reactivo mínimo a moderado (apresenta uma aglutinação discreta mas inequívoca) é sempre reportado como Reactivo.

Reacções ligeiramente granulares ou "ásperas" devem ser repetidas utilizando um procedimento alternativo. Para rastreio de dadores, estes testes podem ser reportados como "indeterminados", sujeitos a avaliação adicional. Ver "Limitações do Procedimento."

Todos os testes de sífilis reactivos devem ser repetidos utilizando um procedimento alternativo.

Testes de Cartão Quantitativos em Círculo de 18 mm

1. Para cada amostra a testar, coloque 0,05 mL de soro fisiológico a 0,9% nos círculos, numerados 2 a 5. Pode ser utilizado um capilar (linha vermelha) ou pipeta serológica, 1 mL ou menos. NÃO ESPALHE A SOLUÇÃO SALINA!
 2. Usando um capilar (linha vermelha graduada a 0,05 mL, até à ponta) com uma pêra de borracha, coloque 0,05 mL da amostra no círculo 1.
 3. Volte a encher o capilar até à linha vermelha com amostra de teste, e segure numa posição vertical, prepare diluições de duas vezes em série aspirando a mistura de solução salina e amostra de teste para cima e para baixo no capilar, 5 a 6 vezes. Evite a formação de bolhas. Transfira 0,05 mL do círculo 2 para o 3, para o 4 e para o 5, misturando depois de cada transferência. Elimine 0,05 mL depois de misturar o conteúdo no círculo 5.
 4. Utilizando um novo dispositivo Dispenstirs para cada amostra, comece com a diluição mais elevada do soro (círculo 5) e espalhe o soro, enchendo toda a superfície do círculo. Prossiga para os círculos 4, 3, 2 e 1 e espalhe de forma semelhante.
 5. Agite suavemente o frasco de distribuição de antígeno antes da utilização. Segurando na vertical, dispense várias gotas na tampa do frasco de distribuição para garantir que a passagem da agulha se faz livremente. Coloque uma gota em "queda livre" (agulha de 20 G com eixo amarelo) em cada área de teste. Não volte a agitar; a mistura do antígeno e amostra é efectuada durante a rotação. Capture o antígeno pré-largado da tampa do frasco.
 6. Rode durante 8 min (± 30 s) por de baixo da tampa humidificante, num rotador mecânico a 100 \pm 2 rpm.
- Após a rotação, o cartão deve ser rodado e inclinado manualmente (3 a 4 movimentos dum lado para o outro), durante breves instantes, para ajudar a diferenciar os resultados não reactivos dos resultados moderadamente reactivos (RM). Ler de imediato macroscopicamente no estado "húmido", sob uma lâmpada incandescente de intensidade elevada ou luz diurna forte.
- Reporte em termos da diluição mais elevada que produz uma reacção reactiva, incluindo reacção mínima a moderada.

Exemplos:

(Reacção de prozona - ver "Limitações do Procedimento".)

R = Reactivo

N = Não Reactivo

RM = Reactivo mínimo a moderado

(Und.) 1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	Reporte
RM	N	N	N	N	Reactivo, diluição de 1:1
R	R	R	N	N	Reactivo, diluição de 1:4
R	R	R	N	N	Reactivo, diluição de 1:8

Soro Aquecido ou Não Aquecido: Se a diluição mais elevada testada (1:16) for Reactiva, prossiga da seguinte forma —

1. Prepare uma diluição de soro não reactivo a 1:50 em soro fisiológico a 0,9%. (Esta será usada para fazer diluições de 1:32 e mais elevadas de amostras a quantificar.)
2. Prepare uma diluição de 1:16 da amostra de teste, adicionando 0,1 mL de soro a 1,5 mL de soro fisiológico a 0,9%. Misture bem.
3. Coloque 0,05 mL do soro não reactivo a 1:50 nos círculos 2, 3, 4 e 5.
4. Usando um capilar, coloque 0,05 mL de diluição da amostra a de teste 1:16 no círculo 1.
5. Encha o capilar até à linha vermelha, faça diluições de duas vezes em série e conclua os testes conforme descrito nos passos 3 a 6. (Consulte "Testes de Cartão Quantitativos em Círculo de 18 mm".)

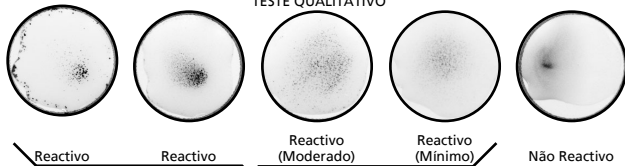
Se for necessário, são preparadas diluições mais elevadas em soro não reactivo a 1:50.

Plasma: Caso se pretenda estabelecer uma linha de base a partir da qual se podem determinar alterações do título, o teste deve ser repetido com soro não aquecido (ver a secção "Soro Não Aquecido").

Ler e Reportar os Macro-Vue RPR Card Tests: As reacções individuais devem ser avaliadas no estado "húmido", sob uma lâmpada incandescente de intensidade elevada ou luz diurna forte. Imediatamente após a rotação, leia e registre como Reactivo ou Não Reactivo.

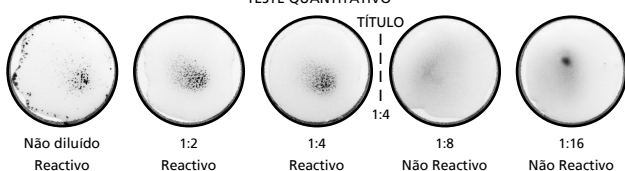
GUIA DE LEITURA DO TESTE DE CARTÃO COM CÍRCULO DE 18 MM RPR

TESTE QUALITATIVO



Relatar como Reactivo

TESTE QUANTITATIVO



Controlo de Qualidade

Os requisitos do controlo de qualidade devem ser efectuados de acordo com os regulamentos ou requisitos de acreditação europeus e/ou nacionais aplicáveis e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório. O utilizador deve consultar as orientações CLSI (anteriormente NCCLS) e os regulamentos CLIA relevantes sobre as práticas de Controlo da Qualidade adequadas.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O diagnóstico de sífilis não deve ser estabelecido com base num único resultado de reactivo, sem o apoio de uma história ou evidência clínica positivas. Por conseguinte, e como sucede com qualquer procedimento de teste serológico, as amostras de teste em cartão reactivas devem ser sujeitas a estudo serológico adicional. Amostras de soro que sejam Reactivas em testes qualitativos devem ser quantificadas para estabelecer uma linha de base a partir da qual se podem determinar alterações do título, particularmente para avaliação terapêutica.¹ O uso de amostras de plasma para estabelecer uma linha de base a partir da qual se podem determinar alterações do título não foi avaliada.

Podem ocorrer resultados falsos negativos em virtude de incapacidade para reconhecer reacções de prozona. As reacções de prozona ocorrem em 1% a 2% dos doentes com sífilis secundária. Estas amostras podem apresentar um padrão não reactivo que é ligeiramente granular ou "áspero." Após diluição, a reactividade irá aumentar e depois diminuir, à medida que se aproxima o título de parâmetro de avaliação final. Todos os testes com um aspecto áspero devem ser objecto de avaliação adicional. Também se observam resultados do teste não treponémico falsos negativos na sífilis primária e tardia em incubação.¹

Não é necessário efectuar o procedimento quantitativo com amostras de dadores reactivas.

Os RPR Card Tests não podem ser usados para testar fluidos espinais.

A amostra ideal para testes neonatais é o soro da criança, conforme obtido por procedimento de punção do calcanhar. Todavia, pode utilizar-se sangue do cordão para rastreio na linha de base quando não se encontra disponível qualquer outra amostra.¹

Com antígenos do tipo da cardioliplina, foram notificadas reacções falsas positivas biológicas em doenças tais como a mononucleose infecciosa, lepra, malária, lúpus eritematoso, variola e pneumonia viral. Na lepra, Portnoy³ não referiu qualquer falso positivo; Achimastos¹⁹ referiu que 14 de 50 casos de lepra eram reactivos e Scotti²⁰ referiu que 1 em 208 casos eram reactivos com o RPR Card e não eram reactivos com os testes FTA-ABS e TPI. Dorwart²¹ estudou a incidência de reacções crónicas BFP em várias doenças do tecido conjuntivo. Seis em 41 casos de lúpus eritematoso sistémico eram reactivos no Card Test, enquanto que apenas 5 eram reactivos nos testes em lâmina VDRL. Só 1 de 23 casos de artrite reumatóide eram reactivos com ambos o RPR Card e testes em lâmina VDRL. Na gravidez, vários relatos indicaram a ocorrência de reacções falsas positivas.^{11,22} A adição de narcóticos e doenças autoimunitárias podem também produzir reacções falsas positivas.²³ Pinta, yaws, bejel e outras doenças treponémicas podem produzir reacções positivas neste teste.¹

A lipemia não interfere com os testes de cartão, mas se o grau de lipemia for suficientemente elevado para obscurecer o estado das partículas de antígeno, a amostra deve ser considerada inadequada para o teste.

Não teste amostras que apresentem hemólise microscópica, estejam contaminadas ou extremamente turvas; reporte como "Amostra inadequada para o teste"¹

VALORES ESPERADOS E CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

A suspensão de antígeno RPR Card é testada para o padrão estabelecido de reactividade contra suspensões de antígeno de referência e cumpre as especificações do produto dos U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) para a realização dos Testes de Cartão com Círculo de 18 mm RPR. Estas características de desempenho foram estabelecidas com base num grande

número de artículos que aparecerán en la literatura científica, a partir de desempeños de tests diarios de rutina en laboratorios de análisis serológica de la sífilis y están en conformidad con las especificaciones del CDC.

Os estudos reportados mostram que os RPR Card Tests apresentam uma sensibilidade e especificidade adequadas em relação ao diagnóstico clínico e um nível de reactividade semelhante ao do teste em lâmina VDRL.^{6-10,24,25}

O aquecimento de amostras de soro a 56°C durante 30 minutos mostrou não ter qualquer efeito sobre a reactividade.²⁰

Foi feita uma comparação qualitativa de 1104 amostras de soro e plasma EDTA colhidas em simultâneo utilizando o **Macro-Vue** Teste de Cartão com Círculo de 18 mm RPR. Registrou-se uma concordância total dos resultados de teste, que incluíram 134 pares reactivos e 970 pares não reactivos. Noutros estudos, foram obtidos resultados comparáveis entre pares de plasma e soro (306 amostras) com os RPR Card Tests, tanto em procedimentos qualitativos como em procedimentos quantitativos.^{14,26}

APRESENTAÇÃO

Cat. No.	Descrição
Macro-Vue RPR Card Tests:	
274449	N.º de kit 104: (300 testes qualitativos), contém: duas ampolas de 3 mL com antígeno, agulha de 20 G, frasco de distribuição, 300 dispositivos Dispenstirs , 30 cartões com 10 manchas de círculo de 18 mm cada e 300 capilares de 0,05 mL.
275005	N.º de kit 110: (500 testes qualitativos), contém: uma ampola de 3 mL com antígeno, agulha de 20 G, frasco de distribuição, 50 cartões com 10 manchas de círculo de 18 mm cada e 500 dispositivos Dispenstirs de 0,05 mL.
275239	N.º de kit 112: (150 testes quantitativos), contém: cinco ampolas de 3 mL com antígeno, agulha de 20 G, frasco de distribuição, 150 dispositivos Dispenstirs , 50 cartões com 15 manchas de círculo de 18 mm cada e 150 capilares de 0,05 mL.
275539	N.º de kit 115: (150 testes qualitativos), contém: uma ampola de 3 mL com antígeno, agulha de 20 G, frasco de distribuição, 15 cartões com 10 manchas de círculo de 18 mm cada e 150 dispositivos Dispenstirs de 0,05 mL.
275110	N.º de kit em Bruto 510: (5.000 testes qualitativos).
275692	N.º de kit em Bruto 532: (10.000 testes qualitativos).
276709	Macro-Vue RPR Card Test Control Cards , contendo amostras com reactividade graduada (Círculos de 18 mm R, RM e N). Caixa de 10.
272905	Dispenstirs (pipetas de plástico para uma única utilização), 0,05 mL, Caixa de 500.
275115	N.º de kit em Bruto 515: (5.000 testes qualitativos), contém trinta ampolas de 3 mL com antígeno, 5.000 dispositivos Dispenstirs , 340 cartões com quinze manchas de círculo de 18 mm cada, descartáveis e acessórios de teste.
275130	N.º de kit em Bruto 530: (5.000 testes qualitativos), contém trinta ampolas de 3 mL com antígeno, 5.000 dispositivos Dispenstirs , 170 cartões com quinze manchas de círculo de 18 mm cada, descartáveis e acessórios de teste.

BIBLIOGRAFIA: Consulte "Referencias" no texto em Inglês.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

Importado e Distribuído no Brasil por:
Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda
Rua Cyro Correia Pereira 550, Curitiba – Paraná-Brasil
CNPJ 21.551.379/0013-31
Serviço de Suporte Técnico (11)5185-9961
Registro ANVISA nº 10033430354
Centro de Relacionamento com o Cliente: 0800 0555654

BD Prueba Macro-Vue RPR en tarjeta

Círculo de 18 mm Cualitativa y Cuantitativa

Equipo de diagnóstico de Brewer para la detección serológica de la sífilis

Español

USO PREVISTO

La prueba **Macro-Vue RPR** (reagina plasmática rápida) en tarjeta de círculo de 18 mm es un procedimiento de análisis no treponémico para la detección serológica de la sífilis.^{1,2}

RESUMEN Y EXPLICACION

La prueba **Macro-Vue RPR** en tarjeta en lágrima (usando sangre obtenida por punción de un dedo) fue la prueba en tarjeta original y fue desarrollada para usarse donde pudiera realizarse la prueba sin equipos de laboratorio.^{3,4} Al incorporar la rotación de la máquina, superficies de prueba anulares y otros cambios técnicos, la prueba en tarjeta de círculo de RPR fue desarrollada para usarse en pruebas a gran escala en laboratorios de salud pública y laboratorios clínicos.

La prueba de RPR en tarjeta de círculo de 18 mm se recomienda cuando se emplea una muestra de sangre venosa y se dispone de un gran volumen de suero, situación aplicable a los laboratorios de salud pública y laboratorios clínicos.⁵⁻¹² Cuando una muestra contiene anticuerpos, aparece floculación con una coagulación de las partículas de carbón del antígeno de RPR en la tarjeta que aparecen como grumos negros contra el fondo blanco de la tarjeta revestida de plástico. Al contrario, las muestras no reactivas tienen un color gris claro uniforme.

En situaciones especiales en que se requieran resultados rápidos de la prueba no treponémica y la muestra se obtenga como plasma EDTA, la prueba de RPR en tarjeta de círculo de 18 mm puede usarse si la prueba se realiza dentro de un límite de 24 h.^{13,14}

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La suspensión de antígeno de RPR es un antígeno de cardioplipina con partículas de carbón¹ que detecta la presencia de "reagina", substancia similar a los anticuerpos presentes en el suero o plasma de personas sífilíticas, y ocasionalmente en el suero o plasma de personas con otras condiciones agudas o crónicas. La reagina se liga al antígeno de la prueba, que consiste en partículas de colesterol cubiertas de cardioplipina y lecitina, lo que produce una floculación macroscópica.

REACTIVOS

Los ingredientes* de la suspensión de antígeno de RPR son¹: 0,003% de cardioplipina, 0,020 – 0,022% de lecitina, 0,09% de colesterol, solución 0,0125 M de EDTA, solución 0,01 M de Na₂HPO₄, solución 0,01 M de KH₂PO₄, 0,2% de azida sódica (conservante), 0,02% de carbón (preparado especialmente, BD), 10% de cloruro de colina, peso-volumen y agua desionizada/destilada.

* Ajustados y/o suplementados para satisfacer los criterios de rendimiento.

Advertencias y precauciones:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"¹⁵⁻¹⁸ y las directrices del centro. Esterilizar en autoclave los recipientes para muestras y cualquier otro material contaminado antes de desecharlos.

Advertencia: la suspensión de antígeno para tarjetas de RPR contiene azida sódica, que es nociva en caso de ingestión. El contacto con ácidos libera un gas muy tóxico. En caso de contacto con la piel, lave de inmediato el área afectada con abundante agua. La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Al eliminar el material por el desagüe, utilizar un gran volumen de agua para evitar la acumulación de azidas.

Antígeno: Se recomienda refrigerar solamente la suspensión de antígeno de RPR en tarjeta. No se debe guardar a la luz directa del sol o a temperaturas de más de 30° C; dichas condiciones podrían producir un aspecto rugoso del antígeno cuando se usa con sueros no reactivos. Si la ampolla de antígeno se congeló durante el envío, puede reconstituirse una vez calentándola hasta la temperatura ambiente; evite la congelación y descongelación repetidas. El uso inmediato de un antígeno refrigerado puede producir una disminución de la sensibilidad de la prueba. Por lo tanto, después de sacar del refrigerador, deje el antígeno a temperatura ambiente (entre 23 y 29° C) antes de usarlo.

No use el antígeno después de la fecha de caducidad.

Tarjetas de prueba de diagnóstico: Tarjetas especialmente preparadas, revestidas de plástico, diseñadas para usarse con el antígeno en la tarjeta de RPR. Durante su manipulación, tenga cuidado de no marcar con los dedos las áreas de prueba de la tarjeta, ya que esto puede dejar un depósito de grasa y producir resultados inapropiados de la prueba. Cuando se extienda la muestra dentro de los límites de las áreas de prueba, evite rayar la tarjeta con el dispositivo **Dispenstirs**. Si la muestra no se extiende al perimetro exterior del área de prueba, use otra área de prueba de la tarjeta.

Dispenstirs y tubos capilares: Al realizar las pruebas en tarjeta, un dispositivo **Dispenstirs** (prueba cualitativa de círculo de 18 mm solamente) o tubo capilar puede usarse para transferir la muestra a la superficie de la tarjeta. Debe usarse un nuevo dispositivo **Dispenstirs** o tubo capilar para cada muestra de prueba. Cuando se transfiera desde el tubo de recogida, la muestra no debe extraerse hacia el bulbo de goma adjunto al tubo capilar, ya que esto causará lecturas incorrectas en pruebas posteriores.

Aguijas: Para mantenerlas permeables para un suministro de gotas exacto, al completarse la prueba retire la aguja del frasco dispensador y enjuague la aguja con agua desionizada/destilada. No seque la aguja con un trapo, ya que de esta forma se eliminará el revestimiento de silicona y podría afectar la exactitud de la gota de antígeno que se está dispensando.

Lectura de los resultados de la prueba en tarjeta: Lea inmediatamente después de la rotación, en estado "húmedo" bajo una lámpara incandescente de alta intensidad o luz diurna intensa.

Rotación: La velocidad de rotación mecánica recomendada es de 100 ± 2 rpm. El rotador debe circunscribir un círculo de aproximadamente dos centímetros de diámetro en el plano horizontal. Se debe usar una tapa humidificadora para evitar que las muestras se sequen durante la rotación.

Almacenamiento del antígeno: Refrigerados a una temperatura de entre 2 y 8° C. Todos los demás componentes del juego deben almacenarse en un lugar seco a temperatura ambiente en el paquete original. Vea "Advertencias y precauciones" para obtener información adicional.

Una vez colocado en el *frasco dispensador* (incluido en cada juego) y refrigerado (entre 2 y 8° C), la reactividad del antígeno se mantiene satisfactoria durante aproximadamente tres meses, o hasta la fecha de caducidad, si ésta es anterior.

Marque el frasco dispensador con el número de lote del antígeno, la fecha de caducidad y la fecha en que el antígeno se colocó en el frasco.

RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

No se requiere preparación especial del paciente antes de la recogida de la muestra.

Las muestras derivadas de la sangre humana pueden ser infecciosas. Precaución: Manipúelas como si fueran contagiosas.

Para analizar suero sin calentar: Recoja sangre por punción venosa en un tubo limpio y seco sin anticoagulante y permita que se coagule. Coloque la muestra en una centrifuga con fuerza suficiente para sedimentar los elementos celulares. Mantenga el suero en el tubo de recogida original o transfiera el suero a un tubo de ensayo limpio y seco si la prueba no va a ser realizada de inmediato. El suero, extraído del coágulo, puede refrigerarse entre 2 y 8° C durante un máximo de 5 días o congelarse a -20° C o a una temperatura inferior en un vial de Pyrex (o equivalente) o en un tubo de ensayo tapado¹. Evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación de las muestras.

Para analizar suero calentado: Después de la recogida y centrifugación, al igual que para el suero sin calentar, transfiera a un tubo limpio y seco y coloque en un baño de agua a 56° C o en un bloque térmico durante 30 minutos.

Para analizar plasma no calentado: Recoja sangre por punción venosa en un tubo que contenga anticoagulante como EDTA, heparina, oxalato de potasio, secuestro de potasio o fluoruro de sodio. El EDTA y la heparina tienen la ventaja de no ser críticos con respecto a la concentración; un mínimo de 1 mL de sangre en un tubo en el que generalmente se recogen 7 mL de sangre produce resultados satisfactorios. Con los otros anticoagulantes, se recomienda recoger no menos de medio tubo de sangre. Centrifugue como se indicó anteriormente. Mantenga el plasma en el tubo de recogida original, y en caso de almacenarlo, almacene la muestra entre 2 y 8° C. Analice la muestra dentro de las 24 horas de la recogida de la sangre.

PROCEDIMIENTOS Y RESULTADOS

Materiales suministrados: Se encuentran disponibles varios equipos de prueba de RPR en tarjeta (vea "Disponibilidad") con un abridor de ampollas preinstalado que contienen suficiente suspensión de antígeno para realizar el número especificado de pruebas diarias de control en tarjeta y pruebas en tarjeta y los frascos dispensadores, aguja dispensadora, tarjetas y los tubos capilares o los dispositivos **Dispenstirs** necesarios.

Materiales necesarios pero no suministrados:

1. Sueros de control con configuraciones establecidas de reactividad graduada que deben incluirse en las pruebas diarias para confirmar la reactividad óptima de la suspensión de antígeno. Vea "Disponibilidad" para las tarjetas de control de la prueba en tarjeta de círculo de 18 mm de RPR **Macro-Vue**.
2. Un agitador de 100 ± 2 rpm, circunscribiendo un círculo de 2 cm de diámetro, con cronómetro automático, accionamiento por fricción y una cubierta que contiene una esponja humedecida o un secante humedecido.
3. Solución salina (0,9%) para usarla en pruebas cuantitativas. Prepare agregando 900 mg de cloruro sódico seco, ACS a 100 mL de agua desionizada/destilada.
4. Suero no reactivo a la sífilis en solución salina al 0,9%, necesario para diluir las muestras de prueba dando un resultado reactivo en la dilución 1:16.

También se necesitan los aparatos de laboratorio apropiados para la preparación, el almacenamiento y la manipulación de muestras serológicas.

Preparativos preliminares: Vuelva a leer "Advertencias y precauciones" y "Recogida y preparación de las muestras" antes de efectuar las pruebas en tarjeta. Cuando deban realizarse las pruebas, la suspensión de antígeno deberá verificarse con controles de reactividad graduada, usando el procedimiento de prueba determinado. Solamente deberán usarse aquellos antígenos que dan las reacciones prescritas. Los controles, la suspensión de antígeno en tarjeta de RPR y las muestras de pruebas deberán estar a temperatura ambiente cuando se usen.

Antes de usar, agite vigorosamente la ampolla durante 10 a 15 s para volver a suspender el antígeno y dispersar cualquier partícula de carbón alojada en el cuello de la ampolla. Si alguna partícula de carbón permanece en el cuello de la ampolla después de agitarla, no debería tratar de desalojarla ya que tendría a producirse un antígeno rugoso.

Verifique la dispensación de la aguja colocándola firmemente en una pipeta o jeringa de 1 mL; llene la pipeta o jeringa con la suspensión de antígeno y, sujetando la pipeta o jeringa en posición vertical, cuente el número de gotas dispensadas en 0,5 mL. El número correcto de gotas se especifica en la tabla del lado opuesto:

Método de la Prueba	Color de la Cánula de la Aguja	Número de Gotas en 0,5 mL
Círculo de 18 mm	Amarilla, calibre 20	30 ± 1 gota

Coloque la aguja en el accesorio en forma de huso del frasco dispensador. Asegúrese de que el antígeno esté debajo de la línea de rotura; parta el cuello de la ampolla con el abridor de ampollas preinstalado y transfiera todo el antígeno al frasco dispensador comprimiendo el frasco y usándolo como dispositivo de succión. Marque el frasco dispensador con el número de lote del antígeno, la fecha de caducidad y la fecha en que el antígeno se colocó en el frasco. Agite suavemente el frasco dispensador con el antígeno antes de seguir adelante con cada serie de gotas de antígeno.

La aguja y el frasco dispensador deberán desecharse cuando se haya usado todo el juego.

Es imprescindible que las técnicas descritas en este documento sean seguidas con todo detalle.

Prueba cualitativa en tarjeta de 18 mm usando dispositivos Dispensstirs:

- Sujete el dispositivo Dispensstirs entre el pulgar y el índice cerca del extremo sellado o de agitación. Comprima y no deje de ejercer presión hasta que el extremo abierto quede por debajo de la superficie de la muestra, sujetando el tubo de muestra verticalmente para reducir al mínimo la agitación de elementos celulares cuando se usa el tubo de sangre original. Deje de ejercer presión con los dedos para extraer la muestra.
- Sujetando en posición vertical directamente sobre el área de prueba de la tarjeta a la cual debe agregarse la muestra (sin tocar la superficie de la tarjeta), comprima el dispositivo Dispensstirs permitiendo que caiga una gota en la tarjeta (aproximadamente 0,05 mL; cada dispositivo Dispensstirs está diseñado para proporcionar un poco más de 0,05 mL a fin de compensar la pequeña cantidad de muestra retenida en el extremo de agitación).
- Invierta el dispositivo Dispensstirs y con el extremo sellado de agitación extienda la muestra ocupando toda la superficie circular. (Si así se desea, el resto de la muestra puede volverse a meter al tubo de muestra del cual fue extraída). Deseche el dispositivo Dispensstirs. Repita el procedimiento para el número de muestras que se van a analizar.
- Agite suavemente el frasco dispensador de antígeno antes de usarlo. Sujetándolo en posición vertical, dispense varias gotas en la tapa del frasco dispensador para asegurarse de que el conducto de la aguja esté abierto. Deje caer por gravedad una gota (aguja de cánula amarilla, calibre 20) en cada área de prueba. *No vuelva a agitar; el antígeno y la muestra se mezclarán durante la rotación.* Recoja el antígeno que se había vaciado anteriormente en la tapa del frasco.
- Gire durante 8 min (± 30 s) bajo la cubierta humidificadora en el rotador mecánico a 100 ± 2 rpm.

A continuación de la rotación, para ayudar a diferenciar los resultados no reactivos de aquellos de mínima reactividad, debe efectuarse una breve rotación e inclinación de la tarjeta en forma manual (3 ó 4 movimientos laterales). Lea inmediatamente macroscópicamente en estado "húmedo" bajo una lámpara incandescente de alta intensidad o luz diurna intensa.

Considere como: Reactivo — Cuando muestre una aglutinación característica que varía de leve pero definida (mínima a moderada) a marcada e intensa.

No reactivo — Cuando no muestre aglutinación. Consulte la Guía de lectura.

Nota: Con la prueba en tarjeta existen solamente dos informes finales posibles — reactivo o no reactivo, cualquiera que sea el grado de reactividad. La reactividad mínima a moderada (que muestra una aglutinación leve pero definida) siempre se considera como reactiva.

Las reacciones levemente granulares o "rugosas" deben repetirse utilizando un procedimiento alternativo. Estas pruebas pueden considerarse "indeterminadas" hasta realizarse una evaluación futura de los donantes. Vea "Limitaciones del procedimiento".

Todas las pruebas reactivas de la sífilis deberán repetirse utilizando un procedimiento alternativo.

Prueba cualitativa en tarjeta de 18 mm usando tubos capilares:

- Usando un nuevo tubo capilar, instale el bulbo de goma en el tubo capilar y extraiga 0,05 mL de muestra del tubo de recogida de sangre permitiendo que ésta llegue a la línea de medida en el tubo capilar, teniendo cuidado de no transferir elementos celulares. (Puede usarse una pipeta serológica si así se desea, pero no pipete con la boca).
- Coloque la muestra medida en el círculo de la tarjeta de diagnóstico de prueba, comprimiendo el bulbo de goma, manteniendo un dedo sobre la abertura del mismo.
- Usando un nuevo dispositivo Dispensstirs para cada muestra, extienda hasta ocupar todo el círculo. Deseche el dispositivo Dispensstirs. Repita el procedimiento para el número de muestras que se van a analizar.
- Agite suavemente el frasco dispensador de antígeno antes de usarlo. Sujetándolo en posición vertical, dispense varias gotas en la tapa del frasco dispensador para asegurarse de que el conducto de la aguja esté abierto. Deje caer por gravedad una gota (aguja de cánula amarilla, calibre 20) en cada área de prueba. *No vuelva a agitar; el antígeno y la muestra se mezclarán durante la rotación.* Recoja el antígeno que se había vaciado anteriormente en la tapa del frasco.
- Gire durante 8 min (± 30 s) bajo la cubierta humidificadora en el rotador mecánico a 100 ± 2 rpm.

A continuación de la rotación, para ayudar a diferenciar los resultados no reactivos de aquellos de mínima reactividad, debe efectuarse una breve rotación e inclinación de la tarjeta en forma manual (3 ó 4 movimientos laterales). Lea inmediatamente macroscópicamente en estado "húmedo" bajo una lámpara incandescente de alta intensidad o luz diurna intensa.

Considere como: Reactivo — Cuando muestre una aglutinación característica que varía de leve pero definida (mínima a moderada) a marcada e intensa.

No reactivo — Cuando no muestre aglutinación. Consulte la Guía de lectura.

Nota: Con la prueba en tarjeta existen solamente dos informes finales posibles — reactivo o no reactivo, cualquiera que sea el grado de reactividad. La reactividad mínima a moderada (que muestra una aglutinación leve pero definida) siempre se considera como reactiva.

Las reacciones levemente granulares o "rugosas" deben repetirse utilizando un procedimiento alternativo. Estas pruebas pueden considerarse "indeterminadas" hasta realizarse una evaluación futura de los donantes. Vea "Limitaciones del procedimiento".

Todas las pruebas reactivas de la sífilis deberán repetirse utilizando un procedimiento alternativo.

Prueba cuantitativa en tarjeta de círculo de 18 mm:

- Para cada muestra a ser analizada, coloque 0,05 mL de solución salina al 0,9% en los círculos numerados del 2 al 5. Puede usarse un tubo capilar (línea roja) o pipeta serológica de 1 mL o menor. ¡NO EXTIENDA LA SOLUCIÓN SALINA!
- Usando un tubo capilar (línea roja graduada cada 0,05 mL hasta la punta) con bulbo de goma adjunto, coloque 0,05 mL de muestra en el círculo 1.
- Vuelva a llenar el tubo capilar hasta la línea roja con muestra de prueba, y sujetando en posición vertical prepare diluciones dobles en serie extrayendo la mezcla de solución salina y muestra de prueba hacia arriba y hacia abajo del tubo capilar 5 a 6 veces. Evite la formación de burbujas. Transfiera 0,05 mL del círculo 2, al 3, al 4, al 5 mezclando después de cada transferencia. Deseche 0,05 mL después de mezclar el contenido en el círculo 5.
- Usando un nuevo dispositivo Dispensstirs para cada muestra, comience con la solución más diluida de suero (círculo 5) y extienda el suero, de modo que ocupe la superficie completa del círculo. Prosigua con los círculos 4, 3, 2 y 1 y extienda el suero en forma similar.
- Agite suavemente el frasco dispensador de antígeno antes de usarlo. Sujetándolo en posición vertical, dispense varias gotas en la tapa del frasco dispensador para asegurarse de que el conducto de la aguja esté abierto. Deje caer por gravedad una gota (aguja de cánula amarilla, calibre 20) en cada área de prueba. *No vuelva a agitar; el antígeno y la muestra se mezclarán durante la rotación.* Recoja el antígeno que se había vaciado anteriormente en la tapa del frasco.
- Gire durante 8 min (± 30 s) bajo la cubierta humidificadora en el rotador mecánico a 100 ± 2 rpm.

A continuación de la rotación, para ayudar a diferenciar los resultados no reactivos de aquellos de mínima a moderada (RM) reactividad, debe efectuarse una breve rotación e inclinación de la tarjeta en forma manual (3 ó 4 movimientos laterales). Lea inmediatamente macroscópicamente en estado "húmedo" bajo una lámpara incandescente de alta intensidad o luz diurna intensa.

Informe en función de la solución más diluida que da un resultado reactivo, incluyendo la reacción mínima a moderada.

Ejemplos:

(Reacción de prozona — vea "Limitaciones del procedimiento")

R = Reactivo
N = No reactivo
RM = Reactivo mínimo a moderado

(Sin diluir) 1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	Informe
RM	N	N	N	N	Reactivo, dilución 1:1
R	R	R	N	N	Reactivo, dilución 1:4
R	R	R	R	N	Reactivo, dilución 1:8

Suero sin calentar o calentado: Si la solución más diluida analizada (1:16) resulta reactiva, prosiga de la siguiente forma —

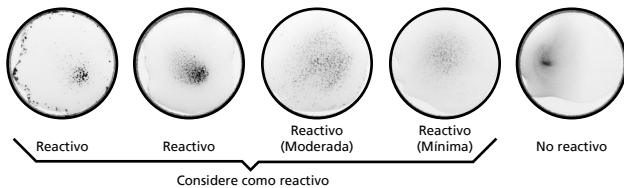
- Prepare una dilución 1:50 de suero no reactivo en solución salina al 0,9%. (Esta se usará para preparar diluciones 1:32 y más diluidas de muestras que serán sometidas a análisis cuantitativo).
- Prepare una dilución 1:16 de la muestra de prueba agregando 0,1 mL de suero a 1,5 mL de solución salina al 0,9%. Mezcle bien.
- Coloque 0,05 mL de suero no reactivo 1:50 en los círculos 2, 3, 4 y 5.
- Usando un tubo capilar, coloque 0,05 mL de dilución 1:16 de la muestra de prueba en el círculo 1.
- Vuelva a llenar el tubo capilar hasta la línea roja; prepare diluciones dobles y complete las pruebas en la forma descrita en los pasos 3 a 6. (Vea "Prueba cualitativa en tarjeta de círculo de 18 mm").

Las soluciones más diluidas, en caso necesario, se preparan en suero no reactivo 1:50.

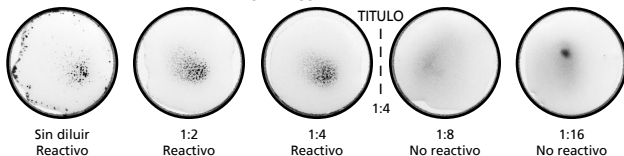
Plasma: Si debe establecerse una línea de referencia a partir de la cual puedan determinarse cambios de título, la prueba debería repetirse usando suero sin calentar (vea "Suero sin calentar").

Lectura e informe de las pruebas Macro-Vue RPR en tarjeta: Las reacciones individuales deberán ser evaluadas en el estado "húmedo", bajo una lámpara incandescente de alta intensidad o luz diurna intensa. Inmediatamente a continuación de la rotación, lea y anote si es reactivo o no reactivo.

GUIA DE LECTURA PRUEBA DE RPR EN TARJETA DE CIRCULO DE 18 MM PRUEBA CUALITATIVA



PRUEBA CUANTITATIVA



Control de calidad por parte del usuario

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI (antes NCCLS) y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El diagnóstico de la sífilis no debe hacerse en base a un solo resultado reactivo sin el respaldo de antecedentes o evidencia clínica positiva. Por lo tanto, al igual que con cualquier procedimiento de análisis serológico, las muestras cuya prueba en tarjeta resulta reactiva deben someterse a estudios serológicos adicionales. Las muestras de suero que resulten reactivas en pruebas cualitativas deben someterse a determinaciones cuantitativas para establecer la línea de referencia a partir de la cual puedan determinarse los cambios de título, en particular para evaluar el tratamiento.¹ El uso de muestras de plasma para establecer una línea de referencia a partir de la cual puedan determinarse cambios de título no se ha evaluado.

Pueden ocurrir resultados negativos falsos debido a una falla en el reconocimiento de las reacciones de prozona. Las reacciones de prozona ocurren en 1 a 2% de los pacientes que sufren de sífilis secundaria. Estas muestras pueden presentar un patrón no reactivo que es levemente granular o "rugoso". Durante la dilución, la reactividad aumentará inicialmente y luego decrecerá al aproximarse al punto final de la titulación. Todas las pruebas que presenten un aspecto rugoso deberán seguir evaluándose. Los resultados negativos falsos de las pruebas no treponémicas también pueden observarse durante la incubación de la sífilis primaria y tardía.¹

No es necesario realizar el procedimiento cuantitativo en muestras reactivas de donante.

Las pruebas de RPR en tarjeta no pueden usarse para analizar líquidos cefalorraquídeos.

La muestra ideal para el análisis neonatal es el suero del infante que se obtiene mediante el procedimiento de punción del talón. Sin embargo, la sangre del cordón umbilical se puede usar para el análisis básico cuando no hay disponible ninguna otra muestra.¹

Con los antígenos tipo cardioliopina se han informado reacciones positivas falsas en enfermedades tales como la mononucleosis infecciosa, lepra, malaria, lupus eritematoso, vacinia y neumonía viral. En la lepra, Portnoy³ no informó resultados positivos falsos; Achimastos¹⁹ informó que 14 de 50 casos de lepra resultaron reactivos y Scotti²⁰ informó que 1 de 208 casos resultó reactivo con la tarjeta RPR que no eran reactivos con las pruebas FTA-ABS y TPI. Dorwart²¹ estudió la incidencia de reacciones BFP crónicas en varias afecciones del tejido conectivo. Seis de 41 casos de lupus eritematoso sistémico resultaron reactivos en la prueba en tarjeta, mientras que sólo 5 resultaron reactivos con la prueba de preparación microscópica VDRL. Solamente 1 de 23 casos de artritis reumatoidea resultó reactivo con la prueba de RPR en tarjeta y la prueba de preparación microscópica VDRL. Durante el embarazo, varios informes indicaron la ocurrencia de reacciones positivas falsas.^{11,22} La adición a los narcóticos y las enfermedades del sistema autoinmune también podrían dar reacciones positivas falsas.²³ La pinta, la frambesía, el bejel y otras enfermedades treponémicas producen reacciones positivas en esta prueba.¹

La lipemia no interferirá con las pruebas en tarjeta; sin embargo, si el grado de lipemia es tan severo que oculta el estado de las partículas de antígeno, la muestra no debe considerarse apta para el análisis.

No analice muestras que están muy hemolizadas, contaminadas o extremadamente turbias; considérelas como "muestra no apta para ser analizada".¹

VALORES PREVISTOS Y CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

La suspensión de antígeno de RPR se analiza para verificar la configuración establecida de reactividad con respecto a suspensiones de antígeno de referencia y cumple con las especificaciones de productos de los U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (Centros de Control y Prevención de Enfermedades) para realizar las pruebas en tarjeta de círculo de 18 mm. Estas características de rendimiento se establecieron a partir de un gran número de artículos de publicaciones científicas, en base a los rendimientos de pruebas diarias rutinarias en laboratorios de pruebas serológicas de la sífilis y cumplen con las especificaciones de los CDC.

Los estudios existentes indican que las pruebas de RPR tienen la sensibilidad y especificidad adecuadas en relación con el diagnóstico clínico y un nivel de reactividad similar al de la prueba de preparación microscópica VDRL.^{6-10,24,25}

El calentamiento de muestras de suero a 56° C durante 30 minutos no ha demostrado tener ningún efecto sobre la reactividad.¹³

Se efectuó una comparación cualitativa de 1104 muestras de suero y plasma EDTA tomadas simultáneamente, usando la prueba Macro-Vue RPR en tarjeta de círculo de 18 mm. Hubo una concordancia completa en los resultados de las pruebas, que incluyeron 134 pares reactivos y 970 no reactivos. En otros estudios se encontraron resultados comparables entre los pares de plasma y suero (306 muestras) con las pruebas de RPR en tarjeta en procedimientos cualitativos y cuantitativos.^{14,26}

DISPONIBILIDAD

N.º ref. Descripción

Pruebas Macro-Vue RPR en tarjeta:

274449	Equipo N° 104: (300 pruebas cualitativas), contiene: dos ampollas de 3 mL de antígeno, aguja de calibre 20, frasco dispensador, 300 dispositivos Dispenstirs , 30 tarjetas con diez círculos de 18 mm cada una y 300 tubos capilares de 0,05 mL.
275005	Equipo N° 110: (500 pruebas cualitativas), contiene: tres ampollas de 3 mL de antígeno, aguja de calibre 20, frasco dispensador, 50 tarjetas con diez círculos de 18 mm cada una y 500 dispositivos Dispenstirs de 0,05 mL.
275239	Equipo N° 112: (150 pruebas cuantitativas), contiene: cinco ampollas de 3 mL de antígeno, aguja de calibre 20, frasco dispensador, 150 dispositivos Dispenstirs , 50 tarjetas con quince círculos de 18 mm cada una y 150 tubos capilares de 0,05 mL.
275539	Equipo N° 115: (150 pruebas cualitativas), contiene: una ampolla de 3 mL de antígeno, aguja de calibre 20, frasco dispensador, 15 tarjetas con diez círculos de 18 mm cada una y 150 dispositivos Dispenstirs de 0,05 mL.
275110	Equipo en gran cantidad N° 510: (5.000 pruebas cualitativas).
275692	Equipo en gran cantidad N° 532: (10.000 pruebas cualitativas).
276709	Tarjetas de control de la prueba Macro-Vue RPR que contienen muestras de reactividad graduada, (círculos de 18 mm R, RM y N), caja de 10 unidades.
272905	Dispenstirs (pipetas de plástico de uso único), 0,05 mL, caja de 500 unidades.
275115	Equipo en gran cantidad N° 515: (5.000 pruebas cualitativas), contiene treinta ampollas de 3 mL de antígeno, 5.000 dispositivos Dispenstirs , 340 tarjetas con quince círculos de 18 mm cada una, material desechable y accesorios para la prueba.
275130	Equipo en gran cantidad N° 530: (5.000 pruebas cualitativas), contiene treinta ampollas de 3 mL de antígeno, 5.000 dispositivos Dispenstirs , 170 tarjetas con treinta círculos de 18 mm cada una, material desechable y accesorios para la prueba.

BIBLIOGRAFIA: Vea "Referencias" en el texto en inglés.



Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare / Производител / Producător / Üretici / Proizvođač / Производител / Атқарушы



Use by / Spotřebuje do / Anvendes før / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes før / Stosować do / Utilizar em / Použite do / Usar antes de / Använd före / Използвайте до / A se utiliza până la / Son kullanna tarihi / Upotrebiti do / Использовать до / дейін пайдалануға / Upotrijebiti do /
 YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutning af måned) /
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) /
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) /
 VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) /
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) /
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) /
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) /
 ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) /
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) /
 MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mēnesio pabaiga) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutten av måneden) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) /
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiacu) /
 aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet på månaden) /
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца) /
 AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii) /
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu) /
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca) /
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца) /
 ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА (АА = айдың соңы) /
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)



Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalogusnummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalógové číslo / Número de catálogo / Каталоген номер / Număr de catalog / Katalog numeras / Kataloški broj / Номер по каталогу / Каталог номері



Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Voliatudat esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Jgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autorisiert repræsentant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Representante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU / Оторизирован представитель в EU / Repræsentant autorizat în Uniunea Europeană / Avrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi / Ovlaščený predstavnik v Evropskej zajednici / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / Autorizuirani predstavnik v EU



In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiinaparatuur / Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinsches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστικό ιατρικό συσκευή / In vitro diagnostikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietaisais / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicínska pomôcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik / Медицински уред за диагностика ин витро / Aparatură medicală de diagnosticare in vitro / In Vitro Diagnostik Tibbi Cihaz / Medicínski uređaj za in vitro dijagnostiku / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Жасанды жағдайда жүргізілетін медициналық диагностика аспабы / Medicínska pomagala za In Vitro Dijagnostiku



Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturlimit / Temperaturi piiirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturenbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenie teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning / Температурни ограничения / Limitare de temperatură / Sıcaklık sınırlaması / Ograničenje temperature / Ограничение температуры / Температураны шектеу / Dozvoljena temperatura



Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch kode (Lot) / Chargennummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti) / Код (Партида) / Număr lot (Lotul) / Parti Kodu (Lot) / Код серије / Код партии (лот) / Топтама коды / Lot (kod)



Contains sufficient for <n> tests / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> test / Voldoende voor <n> tests / Küllaldane <n> testide jaoks / Sisältöön riittävä <n> testejä varten / Contenu suffisant pour <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα <n> εξετάσεις / <n> teszthez elegendő / Contenido suficiente per <n> test / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Innholder tilstrekkelig for <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Contém suficiente para <n> testes / Obsah vystačí na <n> testov / Contenido suficiente para <n> pruebas / Räckertill <n> antal tester / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Conține suficient pentru <n> teste / <n> testleri için yeterli miktarda içerir / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Достаточно для <n> тестов(a) / <n> тесттери үшін жеткілікті / Sadržaj za (n) testova



Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen / Направете справка в инструкциите за употреба / Consultați instrucțiunile de utilizare / Kullanım Talimatları'nı başvurun / Pogledajte uputstvo za upotrebu / См. руководство по эксплуатации / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Koristi upute za upotrebu



Becton, Dickinson and Company
 7 Loveton Circle
 Sparks, Maryland 21152 USA
 800-638-8663
 www.bd.com/ds



Benex Limited
 Rineanna House
 Shannon Free Zone
 Shannon, County Clare, Ireland