

**RPR-CARBON (AGLUTINACION EN PORTA)** Ref.: KRPR-250

Reactivos para la determinación de RPR  
Solo para uso in vitro en el laboratorio clínico  
Conservar a 2-8°C

250 determinaciones

**RPR-CARBON****PRINCIPIO DEL METODO**

RPR-carbón es una técnica no treponémica de aglutinación en porta para la detección cualitativa y semicuantitativa de reagentas plasmáticas en suero humano. Las partículas de carbón sensibilizadas con una mezcla de lípidos, son aglutinadas en presencia de reagentas presentes en la muestra del paciente.

**SIGNIFICADO CLINICO**

Las reagentas son un grupo de anticuerpos dirigidos contra componentes del propio organismo, originadas en pacientes que sufren infección por *Treponema pallidum*, agente causal de la sífilis. Este microorganismo produce lesiones en el hígado y corazón, liberando al torrente circulatorio pequeños componentes de estos órganos no reconocidos por el propio individuo. El sistema inmunológico del paciente reacciona dando lugar a la formación de reagentas, -anticuerpos frente a estos fragmentos<sup>1-5</sup>. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

**R** Partículas de carbón sensibilizadas con una mezcla de lípidos, tampón fosfato 20 mmol/L, NaN<sub>3</sub> 0,95 g/L, pH, 7,0.

**Control +** Suero humano con título de reagentas  $\geq 1/8$ . NaN<sub>3</sub> 0,95 g/L.

**Control -** Suero animal. NaN<sub>3</sub> 0,95 g/L.

Precauciones: Todos los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBs, HCV y para el anti-HIV (1/2). Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

**PREPARACIÓN**

R: Homogeneizar el reactivo con suavidad antes de su uso. Abrir el vial de RPR-carbón y acoplar la micropipeta al vial dispensador de plástico y aspirar por succión la cantidad de reactivo necesaria. Una vez terminado el ensayo, devolver la cantidad sobrante a su envase original y lavar la micropipeta y vial con agua destilada.

**CONSERVACION Y ESTABILIDAD**

Todos los reactivos del kit están listos para su uso, y son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No congelar: la congelación de los reactivos altera irreversiblemente la funcionalidad de éstos. Indicadores de deterioro de los reactivos: presencia de turbidez.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Agitador rotatorio de velocidad regulable a 80-100 r.p.m.
- Cámara húmeda.

**MUESTRAS**

Suero fresco. Estable 5 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C. Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de usar.

**PROCEDIMIENTO****Método cualitativo**

1. Atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente (Nota 1).
2. Depositar 50 µL de la muestra a ensayar y una gota de cada uno de los controles Positivo y Negativo, sobre círculos distintos de un porta.
3. Homogeneizar suavemente el reactivo de RPR-carbón antes de usar. Invertir el vial dispensador y presionar ligeramente para eliminar las burbujas de aire.
4. Situar la micropipeta en posición vertical y perpendicular al porta, y dispensar una gota (20 µL) de este reactivo junto a cada una de las gotas anteriores.
5. Mezclar las gotas con un palillo, procurando extender la mezcla por toda la superficie interior del círculo. Emplear palillos distintos para cada muestra.
6. Situar el porta sobre un agitador rotatorio a 80 – 100 r.p.m. durante 8 minutos (Nota 2).

**Método semicuantitativo**

Las muestras positivas pueden ser tituladas. El título se define como la dilución mayor que da resultado positivo.

1. Realizar diluciones dobles de la muestra en solución salina 9 g/L.
2. Proceder para cada dilución, como en la prueba cualitativa.

**LECTURA E INTERPRETACIÓN**

Examinar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación inmediatamente después de retirar el porta del agitador. Agitar el porta manualmente un par de veces antes de realizar la lectura.

**Interpretación**

Tipo de aglutinación	Lectura	Resultado
Agregados grandes o medianos	R	Reactivo
Agregados pequeños	W	Reactivo débil
Ningún agregado o ligera rugosidad	N	No Reactivo

**CONTROL DE CALIDAD**

Se recomienda utilizar el control positivo y negativo para controlar la funcionalidad del reactivo de carbón, así como modelo de comparación para la interpretación de los resultados.

**CARACTERISTICAS DEL METODO**

*Sensibilidad analítica:* se corresponde a la observada utilizando el "Human Reactive Serum" de la CDC (Centre for Disease Control)

*Efecto prozona:* No se observa efecto prozona hasta títulos  $\geq$  a 1/128.

*Sensibilidad diagnóstica:* 86 % (en sífilis primaria) y 100 % (en sífilis secundaria). *Especificidad diagnóstica:* 98 %.

*Interferencias:* Bilirrubina (20 mg/dL), hemoglobina (10 g/L) y lípidos (10 g/L), no interfieren. Los factores reumatoideos (300 UI/mL), interfieren. Otras sustancias pueden interferir<sup>5</sup>.

**NOTAS**

1. La sensibilidad del ensayo disminuye a temperaturas bajas.
2. El exceso de tiempo puede originar la aparición de falsos positivos.
3. Temperaturas elevadas del medio ambiente pueden provocar la desecación de la mezcla de reacción sobre el porta, dando lugar a un aspecto de "aglutinación" que puede confundirse con un falso positivo. Se recomienda realizar la prueba dentro de una cámara húmeda.
4. La prueba RPR-carbón no es específica para el diagnóstico de sífilis. Se recomienda el ensayo de todas las muestras Reactivas con métodos treponémicos como el TPHA y FTA-Abs para la confirmación de resultados.
5. Un resultado negativo no excluye el diagnóstico de la sífilis. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.
6. La mononucleosis infecciosa, neumonía viral, toxoplasmosis, embarazo y enfermedades autoinmunes pueden causar falsos resultados positivos.

**BIBLIOGRAFIA**

1. George P. Schmid. Current Opinion in Infectious Diseases 1994; 7: 34-40.
2. Sandra A Larsen et al. Clinical Microbiology Reviews 1995; 8 (1): 1-21.
3. Sandra Larsen et al. A manual of Test for Syphilis American Public Health Association 1990: 1-192.
4. Joseph Earle Moore et al. Gastrointestinal Haemorrhage 1952; 150(5): 467-473.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory test, 3th ed. AACC Press, 1997.
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.