

**RAPID PLASMA REAGIN
РПР
ЛАТЕКСОВ ТЕСТ****ЗА КАЧЕСТВЕНО И ПОЛУ-КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА РЕАГЕННИ
АНТИТЕЛА В ЧОВЕШКИ СЕРУМ ИЛИ ПЛАЗМА.****ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

Трепонема палидум произвежда поне два вида антитела в заразените със сифилис: трепонемни антитела (които се откриват с FTA-ABS тест) и нетрепонемни антитела (които се изследват с RPR тест)
Ако пробата съдържа реагени, се получава коагулация на въглеродните частици, които се съдържат в антигенната суспензия, видимо изразена в черни бучици. Отрицателните проби изглеждат като равномерна бледо сива хомогенна суспензия.

РЕАГЕНТИ И МАТЕРИАЛИ

1. RPR въглеродна антигенна суспензия: суспензия: 0.003% cardiolipin, 0.020-0.022% lecithin, 0.09% cholesterol, 0.0125 M EDTA, 0.01M Na₂HPO₄, 0.1% thimerosal, 0.0188% charcoal, 10% choline chloride
 2. RPR положителен контролен серум: човешки серум, съдържащ 0.1 натриев азид като консервант.
 3. RPR отрицателен контролен серум: човешки серум, съдържащ 0.1 натриев азид като консервант.
- Стабилизиран течен контрол, нереактивен към RPR антигени.
4. Система за накапване на антигена: 3 ml шише и игла.
 5. Пръчици за разбъркване и пипетиране
 6. Картонени плаки за еднократна употреба.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

Тестът е предназначен само за "ин-витро" диагностична употреба. Спазвайте обичайните предпазни мерки за работа с лабораторни реагенти.
Положителния и отрицателен контролен материал са изследвани като отрицателни за хепатит В повърхностен антиген (HbsAg) и HIV. Въпреки това третирайте контролите като потенциално заразни.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА ТЕСТА

Реагентите са стабилни до изтичане на срока на годност, отбелязан на опаковката, ако се съхраняват при 2-8 °C. Не поставяйте на ярка слънчева светлина.

НЕ ЗАМРАЗЯВАЙТЕ.

Ако се е получило замразяване при транспортирането, е допустимо да възстановите реагента веднъж като го поставите на стайна температура до затопляне.

След като антигенът се прехвърли в пластмасовото шишенце, стабилността му е приблизително три месеца (ако оставащият срок на годност не е по-кратък).

При поява на признаци на микробно замърсяване, прекратете употребата.

ПОДГОТОВКА

Преди да отворите шишето с антигенната суспензия, го разклатете 10-15 секунди. Прикрепете иглата към празното пластмасово шише и изтеглете цялото количество на шишето със суспензията посредством засмукване. Разклащайте антигена в пластмасовото шише преди всяка серия накапвания. Поставете етикетче на пластмасовото шишенце с партидният номер на антигенната суспензия и датата на прехвърляне на суспензията в него. Иглата и шишенцето с капкомера трябва да се изхвърлят, когато цялото количество тестове се използва. Проверете накапването с иглата като я поставите на 1 ml пипета. Напълнете пипетата с RPR антигенна суспензия и я задръжте във вертикално положение. Отбройте с колко капки се накапва 0.5 ml. Правилният брой е 30±1 капки.

СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

Могат да се използват загрят или незагрят серум или плазма, взети с EDTA като антикоагулант. Избягвайте хемолизата и бактериалното замърсяване. Липемията не интерферира с антигенната суспензия, но ако пробата е толкова силно липемична, че замъглява състоянието на антигенните частици, пробата не може да се използва.

Пресният незамърсен серум е стабилен според литературата 5 дни при 2-8°C. Плазмата взета с EDTA и съхранявана при 2-8°C трябва да се изследва до 48 часа.

КАЧЕСТВЕН ТЕСТ

1. Поставете реагентите и пробите при стайна температура преди употреба.
2. Като държите пръчицата за пипетиране и разбъркване във вертикално положение, капнете 1 капка серум или плазма върху едно от кръгчетата на плаката. Използвайте отделна пръчица за всяка проба.
3. С плоския край на пръчицата разпределете пробата върху цялото кръгче. Изхвърлете пръчицата. Повторете процедурата за всички проби.
4. Разклатете шишенцето с въглеродната антигенна суспензия. Поставете във вертикално положение и капнете няколко капки в капачката на пластмасовото шишенце, за да се уверите, че няма запушвания на иглата. Капнете една капка свободно падаща антигенна суспензия върху тестовото кръгче с пробата. НЕ РАЗМЕСВАЙТЕ ПРОБАТА И АНТИГЕНА.
5. Поставете така пригответената картонена плака върху автоматичен ротатор и въртете 8 минути при 100 оборота в минута.
6. Отчетете под силна лампа или на силна дневна светлина.

КАЧЕСТВЕНИ РЕЗУЛТАТИ

Само два резултата могат да се отчетат с този тест: наличие на реакция или липса на реакция.

Наличие на реакция: Големи или малки струпвания в центъра или периферията на тестовото кръгче.

Липса на реакция: Равномерна бледосива суспензия без видими струпвания.

Резултатите, за които има наличие на реакция трябва да се потвърдят като пробата се тества повторно по количествената процедура. Препоръчва се да се направи потвърждение и чрез друг тест – например ТРНА. Окончателната диагноза трябва да се базира на корелацията на тестовите резултати с други клинични факти.

ПОЛУ-КОЛИЧЕСТВЕН ТЕСТ

1. Поставете реагентите и пробите при стайна температура преди употреба.
2. Пипетирайте 0.05 ml от пробата върху тестово кръгче 1.
3. За всяка тествана проба пипетирайте 0.05 ml 0.9% физиологичен разтвор върху тестови кръгчета 2-5. Може да се използва калибрирана капилярна или серологична пипета от 1 ml или по-малка. Не разпростирайте физиологичния разтвор по цялата повърхност на кръгчетата.
4. Пипетирайте 0.05 ml проба върху кръгче 2. Размесете сместа нагоре-надолу по пипетата 8 пъти. Избягвайте образуването на мехурчета. Прехвърлете 0.05 ml от сместа от кръгче 2 на кръгче 3. Повторете серийното разреждане на кръгче 4 и след това 5. Изхвърлете 0.05 ml от получената на кръгче 5 смес.

Кръгчета 1 до 5 представляват следната серия на разреждане:

Кръгче	1	2	3	4	5
Разреждане	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16

5. Като използвате нова пръчица за пипетиране и разбъркване за всяка проба разпределете с плоския й край серума върху цялото кръгче. Започнете от кръгчето с най-високо разреждане - 5. След това преминете на кръгчета 4, 3, 2, 1.
6. Разклатете шишенцето с въглеродната антигенна суспензия. Поставете във вертикално положение и капнете няколко капки в капачката на пластмасовото шишенце, за да се уверите, че няма запушвания на иглата. Капнете една капка свободно падаща антигенна суспензия върху тестовото кръгче с пробата. НЕ РАЗМЕСВАЙТЕ ПРОБАТА И АНТИГЕНА.
7. Поставете така пригответената картонена плака върху автоматичен ротатор и въртете 8 минути при 100 оборота в минута.
8. Отчетете под силна лампа или на силна дневна светлина.
9. Ако пробата е положителна при разреждане 1:16, продължете серията на разреждане както следва:

а. Пригответе разтвор 1:50 на нереактивен серум в 0.9% физиологичен разтвор. Той се използва за разреждане на пробите 1:32 и по-високо. Пипетирайте 0.05 ml от този разтвор на кръгчета 2 до 5.

б. Пригответе разтвор 1:16 на тестовата проба като добавите 0.1 ml неразреден серум към 1.5 ml 0.9% физиологичен разтвор. Размесете добре. Пипетирайте 0.05 ml от разтвора 1:16 на кръгчета 1 и 2.

в. Вкарайте върха на автоматична пипета 0.05ml в получената смес на кръгче 2 и размесете допълнително като изтеглите сместа нагоре-надолу в пипетата приблизително 8 пъти. Избягвайте образуването на мехурчета. Прехвърлете 0.05 ml от смесената проба върху следващото кръгче. Повторете процедурата с размесването. Продължете с това серийно разреждане до кръгче 5 и изхвърлете 0.05 ml от сместа на последното кръгче.

Кръгчета 1 до 5 представляват следната серия на разреждане:

Кръгче	1	2	3	4	5
Разреждане	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256

г. Продължете с процедурата описана в стъпки 5, 6 и 7 на полуколичествения тест

д. Продължете с разреждането, докато не достигнете крайната точка на концентрацията.

ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕНИ РЕЗУЛТАТИ

Разреждане:	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16
Резултати:Р	Р	MP	Н	Н	

Р- реакция

MP- минимална реакция

Н – отрицателен резултат

Последната стъпка на разреждане, която съдържа струпвания показва концентрацията на пробата.

ОГРАНИЧЕНИЯ НА ТЕСТА

Диагнозата на сифилис не трябва да се основава единствено на наличие на реакция без подкрепата на други клинични доказателства. Фалшиви положителни резултати при този вид тест се получават понякога при употреба на наркотици или при заболявания като лупус еритематозус, мононуклеоза, проказа, вирусна пневмония и след ваксинация срещу дребна шарка. Серумните проби, които са дали реакция при качествения тест трябва да се изследват и чрез количествения, за да се установи границата, от която се наблюдават промени в концентрацията, особено при преценяване на лечението. Проби от плазма не са използвани за установяване на тази граница посредством количествения тест. Проби от плазма могат да дадат погрешни резултати, ако се тестват след повече от 48 часа. Проби, които не дават реакция, но изглеждат неравномерни, трябва да се тестват по количествения метод, за да се открие евентуално зонално наличие в пробата.

RE:10/01

Производител: Teco Diagnostics, 1268 N. Lakeview Avenue, Anaheim, CA 92807 USA Tel. 714 693 7788 Fax: 714 693 3838

Вносител: "ЕТГ" ЕООД, София 1504, ул. Тракия №15, офис 1