

RPR CARD TEST FOR SYPHILIS

For in vitro diagnostic use		CPT Code: 86592
Catalog Number	Kit Size	
900025	25 Tests	
900100	100 Tests	
900500	500 Tests	
9005000	5000 Tests	
90010000	10000 Tests	

VERWENDUNGSZWECK

Der ASI RPR (Rapid Plasma Reagin) Card Test für Syphilis ist ein qualitativer und semiquantitativer nicht treponemischer Flockungstest für den Nachweis von Reagin-Antikörpern in Humanserum und -plasma als Screening-Test für den serologischen Nachweis von Syphilis. Der ASI-RPR Card Test für Syphilis ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Treponema pallidum, der ätiologische Erreger der Syphilis, induziert die Produktion von mindestens zwei Arten von Antikörpern bei Infektionen beim Menschen: Anti-Treponema-Antikörper, nachgewiesen mit FTA-ABS-Antigen¹ und Anti-Nicht-Treponema-Antikörper (Reagin), die mit RPR-Antigen nachgewiesen werden können.²

PRINZIP DES VERFAHRENS

Der ASI RPR Card Test ist makroskopischer nicht-treponemischer Flockungstest zum Nachweis von Reagin in 8 Minuten. Mikro-partikel Kohlenstoff-RPR-Antigen verbessert die visuelle Unterscheidung zwischen reaktiven und nicht-reaktiven Ergebnissen. Der Antikörper vom Reagin-Typ bindet an das Antigen, das aus einem Komplex aus Cardiolipin, Lecithin und Cholesterinpartikeln mit Aktivkohle besteht. Das Ergebnis dieser Antigen-Antikörper-Reaktion ist die makroskopische Ausflockung.

REAGENZIEN

CARBON ANTIGEN - 0,003% Cardiolipin, 0,020–0,022% Lecithin, 0,09% Cholesterin, Aktivkohle (aktiviert) als visueller Verstärker, Phosphat Puffer, 0,1% Natriumazid als Konservierungsmittel und Stabilisatoren.

KONTROLLE (REAKTIV, SCHWACH REAKTIV, NICHTREAKTIV) – Humanserum oder defibriniertes Plasma (flüssig), mit 0,1 % Natriumazid als Konservierungsmittel.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Für in-vitro Anwendungen.

- ASI RPR REAGENZIEN** enthalten Natriumazid. Azide, die mit Blei- und Kupferleitungen in Kontakt kommen, können hochexplosive Metallazide bilden. Beim Entsorgen azid-haltiger Reagenzien mit großen Mengen Wasser nachspülen, um Azidbildung zu vermeiden.
- ASI RPR CONTROLS** enthalten Humanserum oder -plasma, das auf HBsAg und auf HIV-1, HIV-2 und HCV-Antikörper negativ getestet wurde. Da kein bekannter Test die vollständige Sicherheit der Abwesenheit von Infektionserregern bietet, sollten die KONTROLLEN als potenziell infektiös behandelt und entsprechende Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden. Das CDC/NIH-Gesundheitshandbuch „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ beschreibt den Umgang mit diesen Materialien gemäß der guten Laborpraxis.
- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- In Bereichen, in denen Plasma-/Serumproben gehandhabt werden, nicht rauchen, essen, trinken oder Kosmetika auftragen.
- Alle Schnitte, Abschürfungen oder andere Hautläsionen sollten angemessen geschützt werden.

HANDHABUNGS- UND VERFAHRENSHINWEISE

- Um zuverlässige und konsistente Ergebnisse zu erhalten, müssen die Anweisungen in der Packungsbeilage strikt befolgt werden. Handhabungs- und Lagerbedingungen für Reagenzien oder Proben sollten nicht geändert werden.
- ASI RPR-Testkarten sind kunststoffbeschichtet und speziell für die Verwendung mit dem RPR-Antigen entwickelt. Achten Sie bei der Handhabung auf Fingerabdrücke im Kartenbereich, da dies zu Fettablagerung und einem falschen Testergebnis führen kann. Beim Verteilen der Probe innerhalb des Testbereichs vermeiden Sie die Karte mit den Rührpipetten zu zerkratzen. Wenn sich die Probe nicht im Testbereich verteilt oder ausläuft, verwenden Sie einen anderen Testbereich.
- Die Nadeleinheit muss nach jedem Lauf gründlich in destilliertem oder entionisiertem Wasser gewaschen und an der Luft getrocknet werden. **Wischen Sie die Nadel nicht trocken.** Setzen Sie die Nadel wieder in die Plastikhülle ein. Entfernen Sie beim Waschen der Nadeleinheit nicht die Flaschenspitze. Lassen Sie das Material lufttrocknen. Stellen Sie vor dem nächsten Gebrauch sicher, dass keine großen Wassertropfen in der Tropfflasche verbleiben, indem Sie die Flasche schütteln und quetschen.
- Die Dosiernadel sollte 60 ± 2 Tropfen Antigensuspension pro Milliliter abgeben, wenn sie in vertikaler Position gehalten wird. Zur Überprüfung der Genauigkeit befestigen Sie die Nadel an einer 1- oder 3-ml-Spritze. Füllen Sie die Spritze mit der Antigensuspension, halten Sie die Spritze in vertikaler Position und zählen Sie die Anzahl der abgegebenen Tropfen für 0,5 ml. Die Nadel gilt als präzise, wenn 30 ± 1 Tropfen 0,5 ml ergeben.
- Nicht nach dem auf dem Kit angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Tauschen Sie die Komponenten dieses Kits nicht mit denen eines anderen Herstellers aus. Entsorgen Sie die Dosiernadel und die Tropfflasche, wenn das Kohlenstoffantigen verbraucht ist.

LAGERUNGSANWEISUNGEN

Lagern Sie alle Reagenzien bei 2–8 °C in aufrechter Position, wenn sie nicht verwendet werden. Reagenzien nicht einfrieren. Pipetten und Karten benötigen keine Kühlung.

Kohlenstoff-Antigen kann bis zu einem Monat in der Tropfflasche bei 2–8 °C aufbewahrt werden; in diesem Fall muss die

Dosierendel am Ende jeder Lauf mit einer Spritze oder Pipette gereinigt werden.

ANZEICHEN FÜR VERFALL

1. Trübung oder Niederschlag in den Kontrollen weist auf Beeinträchtigung bzw. Verfall hin, die Komponente sollte nicht verwendet werden.
2. Bakterielle Kontamination von Reagenzien oder Proben kann zu falsch positiven Ergebnissen führen.

PROBENSAMMLUNG UND AUFBEWAHRUNG

1. Proben zur visuellen Beurteilung
Verwenden Sie erhitzte oder nicht erhitzte Serumproben sowie Plasmaproben, die EDTA³⁺, CPD, CPDA-1, Heparin oder Natriumcitrat³ als Antikoagulanzen enthalten. Plasmaproben sollten aus Röhrchen oder Bluteinheiten stammen, die mit einem ausreichenden Volumen entnommen wurden, um das geeignete Verhältnis von Probe zu Antikoagulanzen aufzuweisen.
2. Die Proben sollten frei von bakterieller Kontamination, starker Hämolyse oder Lipämie sein. Eine Probe ist zu hämolytisch, wenn Schriftsachen bei Betrachtung durch das Röhrchen nicht mehr gelesen werden können².
3. Serumproben sollten innerhalb von fünf (5) Tagen nach der Entnahme getestet werden. Die optimale Lagertemperatur für Proben beträgt 2-8°C. Proben, die eine Lagerung von mehr als fünf (5) Tagen erfordern, müssen die roten Blutkörperchen entfernt und die Probe bis zum Test bei -20 °C oder darunter gelagert werden².
4. Falls erforderlich, haben Studien gezeigt, dass Serumproben, die bis zu fünf (5) Tage bei 45 °C geronnen sind, verwendet werden können. Ist die Probe hämolytisch, siehe Punkt 3⁵.
5. Plasmaproben, die länger als fünf (5) Tage bei 2-8 °C gelagert wurden, sollten wegen der Möglichkeit falsch reaktiver Ergebnisse nicht für den Test verwendet werden.
6. Falls nötig sollten die Proben vor dem Testen zentrifugieren werden, um Zellbestandteile zu sedimentieren.
7. Proben, die zum Testen verschickt werden sollen, sollten auf Eis gelagert und wie alle anderen biologischen potentiell infektiösen Gefahrenstoffe verpackt werden.
8. Dieser Test sollte nicht zum Testen von Rückenmarksflüssigkeit verwendet werden.

TEST LEISTUNG

Lieferumfang Material

	25 Tests*	100 Tests	500 Tests	5000 Tests*	10000 Tests*
RPR Carbon Antigen	0.5 ml	2.0 ml	9.0 ml	10 x 9.0 ml	20 x 9.0 ml
Reactive Control	0.5 ml	1.0 ml	2.0 ml	5 x 2.0 ml	5.0 ml
Weak Reactive Control**	0.5 ml	1.0 ml	2.0 ml	5 x 2.0 ml	5.0 ml
Nonreactive Control	0.5 ml	1.0 ml	2.0 ml	5 x 2.0 ml	5.0 ml
3 ml Dropping bottle	1	1	1	10	10
20-ga Dispensing Needle (60 drops/ml)	1	1	1	10	10
RPR Test card (10-well)	3	10	50	500	n/a
RPR Test card (15-well)	n/a	n/a	35	350	675
RPR Test card (30-well)	n/a	n/a	n/a	175	350
0.05 ml Disposable Stirrer Pipets	25	100	500	5000	10000

*nicht verfügbar in Deutschland

Zusätzlich benötigtes Material

- Volumetrische Pipette zur Abgabe von 0,05 ml Saline (0.9% NaCl Solution)
- Kochsalzlösung (0,9 % NaCl-Lösung)
- Serum, das gegenüber Syphilis nicht reaktiv ist, in 0,9% Kochsalzlösung, zum Verdünnen von Proben, die bei einer Verdünnung von 1:16 im semiquantitativen Test reaktiv sind Timing device, minute and second capability
- Mechanischen Schüttler eingestellt auf 100 ± 5 U/min mit Feuchtigkeitsabdeckung
- Stoppuhr mit Minuten- und Sekundenangabe Disposable syringe, 1 or 3 ml, accuracy of ± 5 %
- Einmalspritze, 1 oder 3 ml mit Genauigkeit ± 5%

TESTVORBEREITUNG

1. Reagenzien und Proben vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20–30°C) erwärmen. Reagenzien aus den Schaumstoffhaltern nehmen. Reagenzien nicht im Wasserbad erhitzen.
2. Alle Reagenzien sind bei Lieferung gebrauchsfertig. Mischen Sie die Reagenzien vor Gebrauch vorsichtig; Schaumbildung vermeiden.
3. Schütteln Sie das CARBON ANTIGEN vor jedem Gebrauch 20-30 Sekunden lang kräftig, um die Homogenität sicherzustellen.

TESTPROTOKOLL - QUALITATIV

1. Geben Sie mit einer Rührpipette einen Tropfen (0,05 ml) Serum- oder Plasmaprobe auf jeweils einen separaten kreisförmigen Testbereich (Testkreis) auf der Testkarte. Verwenden Sie für jede Probe eine frische Rührpipette. Halten Sie die Rührpipette in einer vertikalen Position, um eine genaue Abgabe zu gewährleisten.
Geben Sie einen Tropfen Kontrolle (REACTIVE, WEAK REACTIVE oder NONREACTIVE CONTROL aus den mitgelieferten Tropfflaschen) auf einen separaten Testkreis auf der Testkarte.
Notieren Sie sich die Position jeder Probe, indem Sie die Zahlen unten und links neben jedem Testkreis vermerken.
2. Verteilen Sie mit dem flachen Ende der Rührpipette die Probe über die gesamte Fläche des Testkreises. Zerkratzen Sie nicht die Oberfläche des Testkreises.
3. Bringen Sie die Nadel an der Tropfflasche an. Mischen Sie die CARBON ANTIGEN-Suspension gründlich. Drücken Sie die Tropfflasche und ziehen Sie ein ausreichendes Volumen Antigen-suspension in die Flasche. Geben Sie mehrere Tropfen in den Tropfflaschenverschluss, um sicherzustellen, dass die Nadel durchgängig ist.
4. Schütteln Sie die Tropfflasche einige Sekunden lang, um die Homogenität des Reagenz zu gewährleisten. Halten Sie die Flasche vertikal und geben Sie je einen Tropfen der Antigen-suspension auf jede Probe. Probe und Antigen NICHT VERMISCHEN. Überschüssiges Antigen aus dem Flaschenverschluss entfernen.

- Legen Sie die Karte auf einen automatischen Schüttler und decken Sie sie zur Erhaltung der Feuchtigkeit ab. 8 Minuten (7 Minuten 50 Sekunden bis 8 Minuten 30 Sekunden) bei 100 ± 5 U/min schütteln. Nach dem Schütteln die Testkarte kurz (mindestens 3-4 mal) manuell schwenken und kippen, um die Unterscheidung nicht reaktiver von minimal reaktiven Ergebnissen zu unterstützen.
- Ergebnisse sofort makroskopisch im „nassen“ Zustand unter einer geeigneten Lichtquelle ablesen.
- Entfernen und waschen Sie die Nadel am Ende jeden Laufs.

TESTPROTOKOLL - SEMIQUANTITATIV

- Geben Sie mit einer Rührpipette (oder einer anderen genauen volumetrischen Pipette, die 0,05 ml abgibt) einen freifallenden Tropfen Kochsalzlösung auf Testkreis 2 bis 5. NICHT VERTEILEN.
- Geben Sie mit der Rührpipette (oder einer anderen genauen volumetrischen Pipette, die 0,05 ml abgibt) einen frei fallenden Tropfen Serum oder Plasmaprobe auf Testkreis 1 der Testkarte. NICHT VERTEILEN.
- Geben Sie mit einer genauen volumetrischen Pipette 0,05 ml der Testprobe auf den Testkreis 2. Mischen Sie Probe und Kochsalzlösung mit der Pipette, indem Sie die Mischung 5 oder 6 Mal vorsichtig in der Pipette auf- und abziehen. Vermeiden Sie jegliche Blasenbildung.
- Übertragen Sie 0,05 ml der Mischung aus Kreis 2 in Kreis 3 und mischen Sie. Wiederholen Sie dieses serielle Verdünnungsverfahren für Kreis 4 und Kreis 5; 0,05 ml aus dem letzten Kreis verwerfen. Die Kreise 1 bis 5 stellen nun eine Verdünnungsreihe wie folgt dar:

Testkreis	1	2	3	4	5
Verdünnung	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16

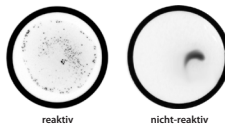
- Verteilen Sie die verdünnten Proben mit dem flachen Ende der Rührpipette über die gesamte Fläche der Testkreise, beginnend bei Kreis 5 (höchste Verdünnung). Wiederholen Sie diesen Vorgang in den Kreisen 4 bis 1.
- Bringen Sie die Nadel an der Tropfflasche an. Mischen Sie die CARBON ANTIGEN-Suspension gut. Drücken Sie die Tropfflasche und ziehen Sie ein ausreichendes Volumen der Antigensuspension in die Flasche. Geben Sie mehrere Tropfen in den Tropfflaschenverschluss, um sicherzustellen, dass die Nadel durchgängig ist.
- Schütteln Sie die Tropfflasche einige Sekunden lang, um die Homogenität der Reagenzien sicherzustellen. Halten Sie die Flasche vertikal und geben Sie einen Tropfen der Antigensuspension auf jede Probe. Probe und Antigen NICHT VERMISCHEN. Überschüssiges Antigen aus dem Flaschenverschluss entfernen.
- Legen Sie die Karte auf einen automatischen Schüttler und decken Sie sie zur Erhaltung der Feuchtigkeit ab. 8 Minuten (7 Minuten 50 Sekunden bis 8 Minuten 30 Sekunden) bei 100 ± 5 U/min schütteln. Nach dem Schütteln die Testkarte kurz (mindestens 3-4 mal) manuell schwenken und kippen, um die Unterscheidung nicht reaktiver von minimal reaktiven Ergebnissen zu unterstützen.
- Ergebnisse sofort makroskopisch im „nassen“ Zustand unter einer geeigneten Lichtquelle ablesen.
- Entfernen und waschen Sie die Nadel am Ende jeden Laufs.

QUALITÄTSKONTROLLE

Die Anforderungen an die Qualitätskontrolle müssen in Übereinstimmung mit den geltenden lokalen, staatlichen und/oder bundesstaatlichen Vorschriften, der Akkreditierung bzw. den Anforderungen und den Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors durchgeführt werden. Kontrollen mit abgestufter Reaktivität sollten mitgeführt werden. Zeigen die Kontrollen nicht die erwartete Reaktion, sollte der Test als ungültig betrachtet und der Assay wiederholt werden. Wenn der Wiederholungstest nicht die erwarteten Ergebnisse für die Kontrollen aufweist, stoppen Sie die Verwendung des Kits und kontaktieren den technischen Support Ihres lokalen Distributor.

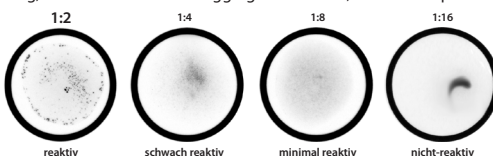
VISUELLE INTERPRETATION DER ERGEBNISSE – QUALITATIV

- Ein reaktives Ergebnis wird durch das Vorhandensein von Aggregaten in der Mitte oder am Rand des Testkreises angezeigt, die von leicht über deutlich bis intensiv reichen. Ein nicht reaktives Ergebnis ergibt ein gleichmäßige diffus-graue Färbung innerhalb des Testkreises oder die Ansammlung der nicht aggregierten Kohlenstoffpartikel in der Mitte des Kreises, es ist keine Verklumpung wie bei einem reaktiven Ergebnis sichtbar.
- Die Ergebnisse des ASI-RPR Card Test sollten unabhängig vom Grad der Reaktivität nur als reaktiv oder nicht reaktiv angegeben werden. Minimale bis mäßige Reaktivität sollte immer als reaktiv gemeldet werden.
- Leichte oder grob granuläre Reaktionen sollten mit einem alternativen Verfahren wiederholt werden. Für das Screening bei Blutspendern sollte ein entsprechendes Ergebnis als „grenzwertig“, weitere Untersuchung empfohlen, gemeldet werden. Siehe auch Abschnitt „Einschränkungen des Testverfahrens“.
- Bestätigen Sie gegebenenfalls die reaktiven Ergebnisse, indem Sie die Probe mit dem semiquantitativen Verfahren erneut testen.
- Es ist nicht nötig das quantitative Verfahren bei reaktiven Spenderproben durchzuführen.



VISUELLE INTERPRETATION DER ERGEBNISSE - SEMIQUANTITATIVE

- Die höchste Verdünnung, bei der eine sichtbare Aggregation auftritt, wird als Endpunkttiter angesehen.



PROBEN MIT TITERN GRÖßER 1:16

1. Bereiten Sie eine 1:50-Verdünnung von nichtreaktivem Serum in Kochsalzlösung vor. Diese Suspension dient der Herstellung von Verdünnungen 1:32 und höher mit der zu titrierenden Proben. Geben Sie 0,05 ml dieser Lösung auf die mit 2 bis 5 beschrifteten Testkreise. NICHT VERMISCHEN.
2. Bereiten Sie eine 1:16-Verdünnung der Testprobe vor, indem Sie 0,1 ml Serum und 1,5 ml Kochsalzlösung mischen. Tragen Sie 0,05 ml dieser Verdünnung auf die Testkreise 1 und 2 auf. NICHT VERMISCHEN.
3. Mischen Sie Probe und Kochsalzlösung mit einer Pipette, indem Sie die Mischung 5 oder 6 Mal vorsichtig in der Pipette auf- und abziehen. Vermeiden Sie jegliche Blasenbildung.
4. Fahren Sie mit dem Test fort, wie in den Schritten 5 bis 9 unter „TESTPROTOKOLL - SEMIQUANTITATIV“ beschrieben.

TESTKREIS	1	2	3	4	5
VERDÜNNUNG	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256

5. Führen Sie nach Bedarf weitere Verdünnungsansätze durch, bis ein Endpunkttiter erreicht ist.

EINSCHRÄNKUNGEN DES TESTVERFAHRENS

1. Bei Patienten mit sekundärer Syphilis kann der Prozoneneffekt (High Dose Hook Effect) auftreten⁶. Falsch negative nicht-treponemische Testergebnisse aufgrund des Prozoneneffekts werden auch bei inkubierter primärer und bei später Syphilis beobachtet.² Das nicht reaktive Muster ist leicht körnig oder „rauh“ bei Proben mit Prozoneneffekt. Wenn dieses Muster auftritt, sollte eine Verdünnung der Probe hergestellt werden. Titrieren Sie die verdünnte Probe bis zum Endpunkttiter, also bis keine Reaktivität mehr beobachtet wird. Alle Tests, die ein raues Aussehen aufweisen, sollten weiter untersucht werden.
2. Gelegentlich treten mit CARBON ANTIGEN biologisch bedingte falsch positive Reaktionen auf. Solche Reaktionen wurden bei Proben von Personen mit Drogenmissbrauch, Schwangerschaft oder Krankheiten wie Lupus erythematodes, Malaria, Vakzine, Mononukleose, Lepra, Viruspneumonie und auch nach Pockenimpfungen beobachtet.
3. Pinta, Yaws, Bejel und andere Treponema-Erkrankungen führen bei diesem Test zu positiven Reaktionen².
4. Kontaminierte, lipämische, ikterische oder stark hämolytische Seren sollten wegen der Möglichkeit unspezifischer Reaktionen nicht verwendet werden. Eine Probe ist zu hämolytisch, wenn Schriftsachen bei Betrachtung durch das Röhrchen nicht mehr gelesen werden können².
5. Längere Reaktionszeiten als angegeben können zur Austrocknung und damit zu falsch positiven Ergebnissen führen.
6. Reaktive RPR-Testproben sollten durch einen Bestätigungstest überprüft werden, wie im Handbuch für Syphilis Tests^{2,7} empfohlen.
7. Die Temperatur der Reagenzien und Proben ist entscheidend für das Testergebnis; sie sollte zwischen 20-30°C liegen.
8. Wie bei allen diagnostischen Methoden sollte eine endgültige Diagnose nicht auf dem Ergebnis einer einzelnen Untersuchung gestellt werden, sondern unter Berücksichtigung der Testergebnisse im Einklang mit anderen klinischen Befunden.

LEISTUNGSMERKMALE

1. Der ASI-RPR Card Test wurde hinsichtlich seiner Reaktivität im Vergleich mit einer Referenz-RPR-Karten-Antigensuspension bewertet. Insgesamt 1209 Proben wurden mit dem ASI RPR Card Test im Vergleich mit dem Produkt von Hynson, Westcott and Dunning (HWD)8 getestet. Die Ergebnisse sind nachfolgend dargestellt. Die Gesamtübereinstimmung lag bei 99,2 % zwischen beiden Tests. Unter den 9 Proben, die sich im ASI-Test nicht reaktiv zeigten, wurden 7 auch im FTA-ABS-Test negativ bestätigt.

ASI RPR TEST			
		Reaktiv	Nicht-reaktiv
HWD RPR TEST	Reaktiv	462	9
	Nicht-reaktiv	1	737

REFERENCES

1. Hunter EF, Deacon WE, Myer PE. 1964. *Public Health Reports*, **79**:410-412.
2. Larsen SA, Hunter EF, Kraus SJ (ed.). 1990. *Manual of Tests for Syphilis*, Public Health Service, Washington, D.C.
3. Larsen SA, Pettit DE, Perryman MW, Hambie EA, Mullally R, Whittington W. 1983. *J Clin Microbiol*, **17**:341-345.
4. Dyckman JD and Wende RD. 1980. *J Clin Microbiol*, **11**:16-18.
5. Data on file and available on request.
6. Jurado RL, Campbell J, Martin PD. 1993. *Arch Intern Med*, **153**:1496-1498.
7. Cable RG. 1996. *Transfusion Med Rev*, **X**:296-302.
8. Fischer GS, Colavita MT, Sweimler WI, Kleger B. 1989. *J Clin Microbiol*, **27**:188-189.

TECHNISCHE INFORMATION: Kontaktieren Sie Ihren lokalen Distributor.



ARLINGTON
SCIENTIFIC

800-654-0146 801-489-8911

1840 N Technology Drive, Springville, UT 84663 USA

Fax 801-489-5552, info@arlingtonscientific.com

www.arlingtonscientific.com



MedEnvoy Global B.V.

Prinses Margrietplantsoen 33 - Suite 123

2595 AM The Hague

The Netherlands

