

NO RPR-REAGENS

TILTENKT BRUK

Beregnet til kvantitativ måling av konsentrasjonen av syfilitiske anti-lipidide antistoffer i serum eller plasma, på Hitachi 917 klinisk analysator, SK500/Biolis 50i klinisk analysator og flere andre automatiske kliniske analysatorer.

SAMMENDRAG

Syfilis er en kronisk infeksjon som er forårsaket av *Treponema pallidum* som kan smitte ved fødselen eller gjennom seksuell kontakt. Den kjennetegnes ved episoder med aktiv sykdom som er avbrutt av latensperioder¹.

Det finnes typer serologiske tester for syfilis, ikke-treponema antistofftest og treponema antistofftest. De mest brukte ikke-treponema antistofftestene for syfilis er hurtigtest for plasmareagin (RPR) og laboratorietester for veneriske sykdommer (venereal disease research laboratory – VDRL), begge måler antistoffer mot et kardiolipin-lecitin-kolesterol-antigenkompleks. Treponema-tester måler antistoffer mot native (Nichols strain) or rekombinant *T. pallidum* antigener.¹ Dette automatiske assayet er basert på et immunologisk lateks agglutinasjonstestprinsipp.

PRINSIPP

Polystyrenlateks som er belagt med lipid-antigener (kardiolipin og lecitin), eksponeres for testprøven under bestemte forhold, for å sette i gang dannelse av anti-lipidide antistoffer lateksaggregat. Økt turbiditet på grunn av dannelsen av dette aggregatet (endringen i turbiditeten), i forhold til nivået før eksponeringen, måles for å bestemme titer for anti-lipidide antistoffer i testprøven.

REAGENSER

Sammensetning

Komponent	Ingredienser	Konsentrasjon
Reagens 1	Bovint serumalbumin-buffer (pH 7,1 – 7,5) Natriumazid	1 % <0,1 %
Reagens 2	Latekspartikler belagt med kardiolipin-, lecitin- og kolesterol-antigener Natriumazid-buffer (pH 7,1 – 7,5)	≤ 4,0 mg/ml <0,1 %

Forholdsregler og advarsler

- For in vitro diagnostisk bruk.
- Ikke bruk reagensene etter utløpsdatoen trykket på etikettene.
- Advarsel** : Alle prøver som brukes i testen skal betraktes som potensielt smittsomme. Generelle forholdsregler som gjelder for institusjonen må anvendes ved håndtering og avhending av materiale under og etter testing.²
- RPR-reagenser skal bare brukes sammen med PRP-kalibreringssett.
- Advarsel** : Unngå å fryse reagenser.
- Advarsel** : Reagens 1 og 2 inneholder <0,1 % natriumazid som antimikrobisk stoff. Natriumazid kan reagere med bly- og kobberør, og føre til at potensielt eksplosive metallazider dannes. Skyll med rikelige mengder vann når du avhender materialet.
- Avhending av alle avfallsmaterialer må skje i samsvar med lokale forskrifter.

Klargjøring

Reagens 1: Flytende, klar til bruk

Reagens 2: Flytende, klar til bruk.

Vend på den daglig for å blande den før bruk. Unngå å danne skum.

Lagring og stabilitet

En uåpnet reagens er stabil fram til utløpsdatoen som vises på etiketten, når den oppbevares ved 2 – 8 °C.

Etter åpning, med hette på, er reagensen stabil i opptil 4 uker ved 2 – 8 °C.

IKKE FRYS.

Stabilitet innsatt

Reagensene er stabile åpne i Hitachi 917-analysatorene i 28 dager ved 2 – 8 °C.

Indikasjoner på forringing

Dersom man ser turbiditet eller mikrobiell vekst i noen av reagensene, kan dette indikere forringing.

Manglende evne til å gjenopprette kontrollverdiene.

PRØVETAKING OG PREPARERING

Serum natriumheparin-plasma er de anbefalte innsamlingsmediene. Bruk standard prøvetaking og prepareringsmetoder.³

Hvis de ikke analyseres umiddelbart, kan prøvene lagres som angitt under: Stabiliteten til serum⁸

- 7 dager ved 2 – 8 °C
- 1 dag ved 15 – 25 °C
- 4 uker ved (-15) – (-25) °C

Stabiliteten til plasma⁸

- 7 dager ved 2 – 8 °C
- 1 dag ved 15 – 25 °C
- 7 dager ved (-15) – (-25) °C

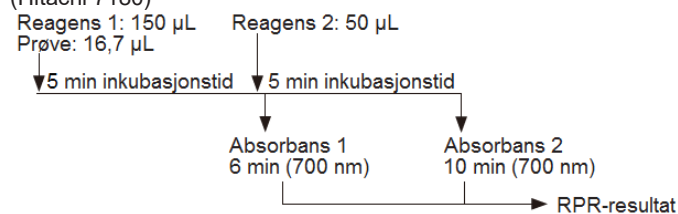
Hvis prøvene har vært nedfrosset, sentrifuger dem ved 15000xg i 10 minutter før måling. Prøvene kan fryses og tines opp en gang.⁴

PROSEDYRE

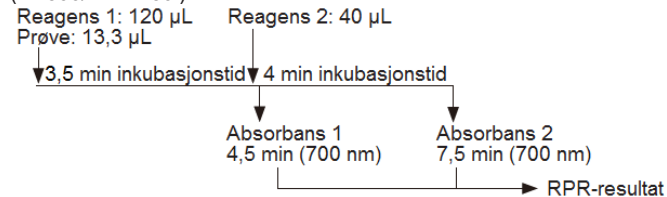
Assay

Nedenfor gis det to eksempler på prosedyren for RPR-assay for Hitachi 7180 automatisk klinisk analysator og SK500/Biolis 50i automatisk analysator. Alle analysatorens anvendelser skal valideres. Sekisui Diagnostics har anvendelser for flere automatiske analysatorer tilgjengelig på forespørsel. Ytelsen til anvendelser som ikke er validert av Sekisui, må defineres og valideres av brukeren.

(Hitachi 7180)



(SK500/ Biolis 50i)



Materialer som følger med

RPR-reagenser 1 og 2 kreves for å måle syfilitiske anti-lipidide antistoffer. RPR-reagensene er pakket og selges som sett.

Beskrivelse	Konfigurasjon	Katalognummer
RPR-reagens 1	1 x 60 ml	486616
RPR-reagens 2	1 x 20 ml	

Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med

Beskrivelse	Konfigurasjon	Katalognummer
RPR-kalibreringssett	5 nivåer x 1 ml	486623
RPR kontrollsett	Positiv 2 x 1 ml Negativ 2 x 1 ml	486630

* Analysator som er i stand til å kjøre to-reagenskjemi.

Kalibrering

Man skal bare bruke RPR-kalibratorene til å kalibrere RPR-assay. De tilordnede verdiene for RPR-kalibratorene kan spores tilbake til VHOs internasjonale standard (den internasjonale standarden for syfilitisk humant serum (1st International standard preparation – etablert i 1958).

Kalibreringsfrekvensen må bestemmes av brukeren.

Kvalitetskontrollverdiene skal være innenfor de forventede områdene.

Kvalitetskontroll

Påliteligheten til testresultatene bør overvåkes jevnlig ved bruk kvalitetskontrollløsninger eller serumbassenger som på rimelig måte representerer ytelsen man har med pasientprøver. Kontrolløsninger eller serumbassenger bør brukes for å overvåke at reagensene fungerer som de skal og at korrekte prosedyrer følges. Et akseptabelt område for hvert parti kontrolløsning skal fastsettes av laboratoriet. Hvis kontrollverdiene ikke ligger innenfor det forventede området, følg vanlige feilsøkningsprosedyrer. Hvis det skulle være nødvendig med hjelp, kontakt den lokale distributøren.

Kvalitetskontrollkravene bør etableres i samsvar med lokale, nasjonale og/eller internasjonale forskrifter eller krav.

RESULTATER

Resultatene uttrykkes i RPR-enheter (R.U.). Legg merke til at R.U. er basert på WHO IU (Den internasjonale standarden for syfilitisk humant serum). 1 R.U. = 0,4 IU. 1 R.U. tilsvarer en 1-gangers titer for RPR-korttest.

For å konvertere fra U.R. til IU, deles R.U.-enhetene på 2,5.

Begrensninger / interfererende stoffer

Kriterium: Gjenoppretting innen $\pm 20\%$ av utgangsverdien
Alle studiene ble utført på Hitachi 7180 automatiske kliniske analysator.

Lipemi: Ingen signifikant lipemisk interferens ble observert opptil 1 % (intra lipid). Hvis du har mistanke om at prøven er lipemisk, sentrifuger dem ved 15000xg i 10 minutter før måling.

Chyle (formazin-turbiditetseenhet): Ingen signifikant lipemisk interferens ble observert opptil 620 formazin-grad. Prøver som overstiger 620 formazin-grad skal sentrifuges ved 15000xg i 10 minutter før måling.

Hemoglobinkonsentrasjon på opptil 488 mg/dL (75,7 $\mu\text{mol/L}$) interfererte ikke i prøver med nivåer av syfilitiske anti-lipidide antistoffer på 3,2 R.U.

Konjugert bilirubinkonsentrasjon på opptil 21 mg/dL (359,1 $\mu\text{mol/L}$) interfererte ikke i prøver med nivåer av syfilitiske anti-lipidide antistoffer på 3,2 R.U.

Ukonjugert bilirubinkonsentrasjon på opptil 19,7 mg/dL (336,9 $\mu\text{mol/L}$) interfererte ikke i prøver med nivåer av syfilitiske anti-lipidide antistoffer på 3,2 R.U.

Revmatoid faktor ble testet opptil 450 mg/dL uten at signifikant interferens ble observert i prøver med nivåer av syfilitiske anti-lipidide antistoffer på 3,8 R.U.

Serum- og plasmaprøver fra pasienter i de tidlige stadiene av antistoffproduksjon, på grunn av svekket immunfunksjon, inneholder små mengder antistoff og kan teste negativt.

En uspesifikk immunrespons kan forekomme i serum- og plasmaprøver fra pasienter med autoimmune sykdommer. Testresultatene skal vurderes basert på andre testresultater og kliniske symptomer.

Serum- og plasmaprøver fra pasienter som får blodprodukter som inneholder immunoglobulin, kan teste positivt. Vurder testresultatet grundig

På grunn av det store spekteret av prøvekonsentrasjoner som er mulig, må vask av prøvesonden være tilstrekkelig til å forhindre prøveoverføring.

Forventede verdier

En måling på 1 R.U. eller høyere indikerer at prøven er positiv for antistoffer.

E positivt testresultat skal vurderes basert på følgende tester og bør evalueres sammen med andre testresultater og kliniske symptomer. En endelig syfilisdiagnose bør stilles av en lege. Resultater som ikke samsvarer med de kliniske symptomene, bør testes på nytt.

Hvert enkelt laboratorium må bekrefte referanseintervallene for den pasientpopulasjonen de betjener.

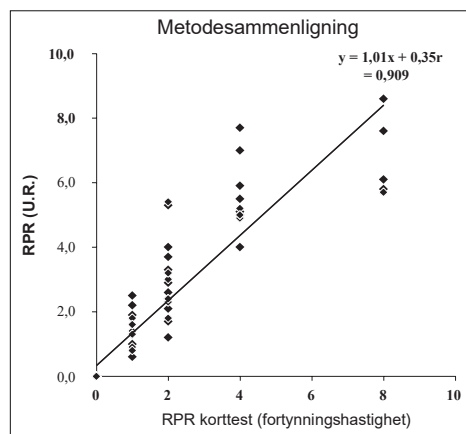
SPESIFIKKE YTELSESEGENSKAPER

Metodesammenligning

Sammenlignende ytelsesstudier ble utført ved bruk av RPR-reagens på Roche Hitachi 917-analysatoren og en kommersielt tilgjengelig RPR korttest. 83 serumprøver, med RPR-konsentrasjoner mellom 0,0 og 8,6 R.U. ble testet.

Regresjonsanalysen vises under:

Sekisui Diagnostics RPR vs. RPR korttest (n = 83)	
Stigningstall	1,01
Intercept (R.U.)	0,35
Korrelasjonskoeffisient (r)	0,909



Presisjon

Innen-seriepresisjonen i RPR-reagenset ble bestemt ved bruk av 3 nivåer av positive serumprøver og 1 negativ serumprøve i henhold til intern protokoll. Prøvene ble målt trippelt, 10 ganger ved bruk av 3 partier med reagenser på Hitachi 7180 klinisk analysator.

Den totale presisjonen til RPR-reagenset ble bestemt ved bruk av 1 negativ kontroll og 1 positiv kontrollprøve i henhold til intern protokoll, målt 3 ganger hver dag i 21 dager på Hitachi 7180 klinisk analysator.

Innen-seriepresisjon

Serumbasseng / kontrolløsninger	Gjennomsnittlig gjenoppretting (R.U.)	Standardavvik (R.U.)	%CV
Humant serum (negativt for syfilis)	0,0	0,0	—
Humant serum (positivt for syfilis)	1,7	0,1	4,3
Humant serum (positivt for syfilis)	2,9	0,1	1,6
Humant serum (positivt for syfilis)	6,9	0,1	1,6

Mellom-seriepresisjon

RPR-kontrolløsning	Gjennomsnittlig gjenoppretting (R.U.)	Standardavvik (R.U.)	%CV
RPR-kontrolløsning (negativ)	0,0	0,05	—
RPR-kontrolløsning (positiv)	2,1	0,11	5,1

Deteksjonsgrense (LoD)

Deteksjonsgrensen er den faktiske konsentrasjonen der et observert testresultat ligger 2 SD over resultatet for den laveste kalibratoren (kalibrator 1). Deteksjonsgrense ble etablert ved bruk av kalibratormålinger 1 og 10 med RPR-reagens på Roche Hitachi 7180 klinisk analysator
Deteksjonsgrensen er is 0,2 R.U.

Spesifisitet

For kvalitativ bruk av assayet, ble falske negative resultater (<1 R.U.) (ved High-Dose-Hook-Effect) ikke observert ved analyttkonsentrasjoner på opptil 100,5 R.U. syfilitiske anti-lipidantistoffer, på Hitachi 7180 klinisk analysator.

For kvantitativ anvendelse, bør prøver over 4,0 R.U. kjøres på nytt etter fortyning (1:10) på grunn av en mulig høydose-effekt (high-dose-hook-effect).

Et negativt resultat som ikke samsvarer med de kliniske tegnene, kan forekomme hos pasienter med hyperglobulinemi. I slike tilfeller kan prøven fortynnes med 0,9 % NaCl-løsning og kjøres på nytt for å muliggjøre korrekt måling.

Linearitet

RPR-metoden er lineær fra 0,2 til 8,0 R.U. på Hitachi 7180 automatiske kliniske analysator.

Prøver over 8,0 R.U. kan prøven fortynnes med 0,9 % NaCl-løsning. Multipliser resultatet med fortynningsfaktoren for å finne RPR-konsentrasjonen for prøven.

Andre ytelsesstudier

Kryssreaktivitet (analytisk spesifisitet)

Prøver som inneholder potensielt interfererende stoffer ble

analysert for kryssreaktivitet. Prøvene som ble testet med PRP-assay var:

- fra pasienter med kollagenose
- fra pasienter som gjennomgår dialyse
- fra gravide kvinner

Følgende resultater ble oppnådd.

Prøve	Antall	RPR-reaktiv	Takt
Kollagenose	28	1	4 %
Gravid	26	0	0 %
Dialyse	50	3	6 %

Klinisk sensitivitet^{5,6}

Totalt ble 187 utvalgte bekreftede syfilis-positive prøver i ulike stadier av sykdommen testet. Sensitiviteten for disse prøvene var 99,5 %.

Syfilis-positive prøver	Antall	RPR	
		Positiv	Negativ
	187	186	1

Klinisk spesifisitet⁷







Totalt 2639 syfilis-negative prøver ble testet. Spesifisiteten for disse prøvene var 99,5 %.

Syfilis-negative prøver	Antall	RPR	
		Positiv	Negativ
	2639	12	2627

Referanser

1. Longo, DL, Fauci, AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL og Loscalzo J. Eds Haarrison's Online-Harrison's Principles of Internal Medicine. 18e. Part 8. Infectious Diseases. McGraw-Hill
2. Richardson JH og Barkley WE, red. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, HHS Publication Nr. (CDC) 84-8395, Washington, DC: 1984.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens: Approved Guideline [Godkjente retningslinjer]. CLSI Document H18-A, Wayne, PA: 1990.
4. Shibazaki M et al. An Automated Measurement of Anti-Treponema Antibody Titer by MEDIACE TPLA, a Latex Agglutination Test using Hitachi 7170 Automatic Analyzer. The Journal of Clinical Laboratory Instruments and Reagents 1996; 19 (4):635-639.
5. Osato K et al. Clinical Evaluation of Latex Agglutination Test Kits for Detecting Anti-syphilitic Lipoidal Antibodies and Anti-treponemal Antibodies. Japanese Journal of Sexually Transmitted Diseases 2002; 13 (1): 124-130
6. Kawai K et al. The possibility of assessing the stage of infection by using Mediace TPLA and RPR. The Journal of Clinical Laboratory Instruments and Reagents 2003; 26 (4): 301-304.
7. Kinjo T et al. Laboratory-based evaluation of Latex Agglutination Turbidimetric Assay by Mediace RPR on P Module of Hitachi Auto analyzer 7600 to Quantitatively Determine Serum RPR Antibody. Japanese Journal of Clinical Laboratory Automation (JJCLA) 2005; 30 (3): 257-262.
8. Data lagret hos SEKISUI.

Symboldefinisjoner

REF Katalognummer	IVD For in vitro diagnostik
 Temperaturgrense	 Produsert av
 Skal brukes	 Se bruksanvisningen
LOT Batch-kode	
EC REP Autorisert representant i EU	
 Forsiktig. Les dokumentasjonen som følger med	 Biologisk risiko



SEKISUI MEDICAL CO., LTD.
1-3, Nihonbashi 2 -chome, Chuo-ku
Tokyo, 103-0027, Japan



Medical Device Safety Service GmbH (MDSS)
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany



Sep2022 KI486616.05

Navnet SEKURE og Sekure-logoen er registrerte varemerker som tilhører Sekisui Diagnostics, LLC.