

**Determinación cualitativa de reagentes plasmáticos
IVD**

Conservar a 2 - 8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La prueba de VDRL es una técnica no treponémica de aglutinación en porta para la detección cualitativa y semicuantitativa de reagentes plasmáticos. La suspensión antigénica, una mezcla de lípidos complejos, es aglutinada en presencia de reagentes presentes en la muestra del paciente afectado por sífilis.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Los reagentes son un grupo de anticuerpos dirigidos contra componentes del propio organismo, 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 fragmentos de estos órganos no reconocidos por el propio individuo. El sistema inmunológico del paciente reacciona dando lugar a la formación de reagentes, anticuerpos frente a estos fragmentos.

El ensayo es útil para seguir la respuesta a la terapia antibiótica.

REACTIVOS

Antígeno VDRL estabilizado	Solución que contiene cardiolipina 0,3 g/L, lecitina 2,1 g/L y colesterol 9 g/L, en tampón fosfato 1,5 mmol/L. Conservante, pH 7,0.
Control + Tapón rojo	Suero artificial con un título de reagentes $\geq 1/8$.
Control - Tapón azul	Suero animal. Conservante.

PRECAUCIONES

Control +/-: H317-Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Contiene 2-Metilisotiazol-3(2H)-ona (Proclín 950). Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto. 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.

CALIBRACIÓN

La sensibilidad del reactivo está estandarizado frente el Estándar Internacional de Sífilis de OMS (WHO 1st standard Human Syphilitic Serum, ref. 05/132).

PREPARACIÓN

Los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit 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. Mezclar los reactivos suavemente antes de usar. No congelar. La congelación del antígeno VDRL podría alterar su funcionalidad.

MATERIAL ADICIONAL

- Agitador mecánico rotatorio de velocidad regulable a 180 r.p.m.
- Portas de vidrio.
- Microscopio óptico (objetivo 10x).
- Pipetas de 50 μ L.

MUESTRAS

Suero fresco o plasma. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20 C. Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes del ensayo. No utilizar muestras hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO
Método cualitativo

1. Atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente. La sensibilidad del ensayo disminuye a temperaturas bajas.
2. Depositar 50 μ L de la muestra a ensayar y una gota de cada uno de los controles Positivo y Negativo, sobre círculos distintos de un porta de vidrio.

3. Homogeneizar suavemente la suspensión de antígeno VDRL antes de usar y dispensar una gota (20 μ L) sobre cada una de las gotas anteriores.
4. Situar el porta sobre un agitador rotatorio a 160-180 r.p.m. durante 4 minutos. El exceso de tiempo de agitación puede originar la aparición de falsos positivos.

Método semicuantitativo

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 mediante microscopio óptico (objetivo 10x) la presencia o ausencia de aglutinación inmediatamente después de la agitación.

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

En el método semicuantitativo, se define el título como la dilución mayor que da resultado positivo.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar el control positivo y negativo para controlar la funcionalidad del reactivo, así como modelo de comparación para la interpretación de los resultados. Todo resultado distinto al resultado que da el control negativo, se considerará positivo.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

1. **Sensibilidad analítica:** Correcta determinación del título del Material de Referencia en las condiciones descritas en el ensayo (ver Calibración).
2. **Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta títulos $\geq 1/128$.
3. **Sensibilidad diagnóstica:** 100 %
4. **Especificidad diagnóstica:** 100 %

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (20 mg/dL), hemoglobina (2 g/dL) y lípidos (1000 mg/dL), no interfieren. Los factores reumatoides (300 UI/mL), interfieren. Otras sustancias pueden interferir⁴.

LIMITACIONES DEL MÉTODO

- La prueba VDRL no es específica para el diagnóstico de sífilis. Se recomienda el ensayo de todas las muestras Reactivas con métodos treponémicos tales como el TPHA y FTA-Abs para la confirmación de resultados.
- Un resultado negativo no excluye el diagnóstico de la sífilis.
- Pueden aparecer falsos resultado positivos en otras enfermedades tales como la mononucleosis infecciosa, neumonía viral, toxoplasmosis, embarazo y enfermedades autoinmunes.

BIBLIOGRAFÍA

1. George P. Schimid. 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 4. Association 1990: 1-192.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

PRESENTACIÓN

Ref.: 1200405 1500 tests	Ref.: 1200406 250 tests
30 mL Antígeno VDRL estabilizado	5 mL Antígeno VDRL estabilizado
1 mL Control +	1 mL Control +
1 mL Control -	1 mL Control -

**Qualitative determination of plasma reagins
IVD**

Store at 2 - 8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The VDRL test is a non-treponemal slide agglutination test for the qualitative and semi-quantitative detection of plasma reagins. The antigen suspension, a lipid complex, is agglutinated when mixed with samples containing reagins of patient affected by syphilis.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Reagins are a group of antibodies against some components produced in the damage tissues from patients infected by *Treponema palladium*, the agent which causes the syphilis. This microorganism produces some damage to the liver and heart, releasing some tissue fragments. Immunological patient system reacts producing reagins, antibodies against these fragments. The assay is useful to follow the antibiotic therapy answer.

REAGENTS

VDRL antigen stabilized	Solution containing cardiolipin 0,3 g/L, lecithin 2,1 g/L and cholesterol 9 g/L in phosphate buffer 1,5 mmol/L. Preservative, pH 7,0.
Control + Red cap	Artificial serum with a reagin titer $\geq 1/8$.
Control - Blue cap	Animal serum. Preservative.

PRECAUTIONS

Control +/-: H317-May cause an allergic skin reaction. Contains 2-Methylisothiazol-3(2H)-one (Proclin 950). Follow the precautionary advice indicated on the SDS and product label. Components from human origin have been tested and found to be negative for the presence of HBsAg, HCV, and antibody to HIV (1/2). However, handle cautiously as potentially infectious.

CALIBRATION

The sensitivity is calibrated against the International Reference WHO (1st Standard Human Syphilitic Serum, ref. 05/132).

PREPARATION

The reagents are ready to use.

STORAGE AND STABILITY

All the kit components will remain stable until the expiration date printed on the label, when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use.

Mix reagents gently before use.

Do not freeze. The freezing of VDRL antigen may cause a loss of its functionality.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Mechanical rotator with adjustable speed at 180 r.p.m.
- Glass slides.
- Light microscope (10x objective lens).
- Pipettes 50 μ L.

SAMPLES

Fresh serum or plasma. Stable 7 days at 2-8°C or three months at -20°C. The samples with presence of fibrin should be centrifuged before use. Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

PROCEDURE
Qualitative method

1. Allow the reagents and samples to reach room temperature. The sensitivity of the test may be reduced at low temperatures.
2. Place 50 μ L of the sample and one drop of each Positive and Negative controls into separate circles on the slide test.
3. Swirl the VDRL suspension gently before using and add 20 μ L of this reagent onto each sample.

4. Place the slide on a mechanical rotator at 160-180 r.p.m. for 4 minutes. False positive results could appear if the test is read later than 4 minutes.

Semi-quantitative method

1. Make serial two fold dilutions of the sample en 9 g/L saline solution.
2. Proceed for each dilution as in the qualitative method.

READING AND INTERPRETATION

Examine the presence or absence of agglutination immediately after rotation using the light microscope (10x objective lens).

Interpretation

Agglutination	Reading	Report
Medium or large clumps	R	Reactive
Small clumps	W	Weakly reactive
No clumping or very slight "roughness"	N	Non Reactive

In the semi-quantitative method, the titer is defined as the highest dilution showing a positive result.

QUALITY CONTROL

Positive and Negative controls are recommended to monitor the performance of the procedure, as well as a comparative pattern for a better result interpretation.

All result different from the negative control result, will be considered as a positive.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. **Analytical sensitivity:** Accurate titer determination of the Reference Material, under the described assay conditions (see, Calibration).
2. **Prozone effect:** No prozone effect was detected up to titers $\geq 1/128$.
3. **Diagnostic sensitivity:** 100%
4. **Diagnostic specificity:** 100%

INTERFERENCES

Bilirubin (20 mg/dL), haemoglobin (2 g/dL) and lipids (1000 mg/dL), do not interfere. Rheumatoid factor (300 IU/mL) interferes. Other substances may interfere[†].

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- VDRL test is non-specific for syphilis. All Reactive samples should be retested with treponemic methods such as TPHA and FTA-Abs to confirm the results.
- A Non Reactive result by itself does not exclude a diagnosis of syphilis.
- False positive results have been reported in diseases such as infectious mononucleosis, viral pneumonia, toxoplasmosis, pregnancy and autoimmune diseases.

BIBLIOGRAPHY

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 4. Association 1990: 1-192.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

PACKAGING

Ref.: 1200405 1500 tests	Ref.: 1200406 250 tests
30 mL VDRL stabilized Antigen	5 mL VDRL stabilized Antigen
1 mL Control +	1 mL Control +
1 mL Control -	1 mL Control -

Détermination qualitative de réagines plasmatiques IVD

Conserver à 2 - 8°C.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

L'épreuve VDRL est une technique non tréponémique d'agglutination sur lame visant à la détection qualitative et semi-quantitative de réagines plasmatiques. La suspension antigénique, un mélange de lipides complexes, est agglutinée en présence de réagines présentes dans l'échantillon du patient affecté par la syphilis.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Les réagines sont un groupe d'anticorps dirigés contre des composants de l'organisme lui-même, chez des patients qui souffrent d'une infection par *Treponema pallidum*, l'agent causal de la syphilis. Ce micro-organisme produit des lésions au foie et au cœur, en libérant dans le torrent circulatoire de petits fragments de ces organes non reconnus par l'individu lui-même. Le système immunologique du patient réagit en formant des réagines – des anticorps contre ces fragments –. L'épreuve sert à poursuivre la réponse à la thérapie antibiotique.

RÉACTIFS

Antigène VDRL stabilisé	Solution qui contient de la cardiolipine 0,3 g/L, de la lécithine 2,1 g/L et du cholestérol 9 g/L, dans tampon phosphate 1,5 mmol/L. Conservateur pH 7,0.
Contrôle + Bouchon rouge	Sérum artificiel avec un titre de réagines $\geq 1/8$.
Contrôle - Bouchon bleu	Sérum animal. Conservateur.

PRÉCAUTIONS

Contrôle +/- : H317-Peut provoquer une réaction allergique cutanée. Contient du 2-méthylisothiazol-3(2H)-one (ProClin 950). Suivre les conseils de prudence indiqués sur la FDS et l'étiquette du produit. Tous les composants d'origine humaine ont été révélés négatifs par l'antigène HBs, HCV et par l'anti-HIV (1/2). Toutefois, ils doivent être considérés avec prudence, car ils sont potentiellement infectieux.

ÉTALONNAGE

La sensibilité du réactif est standardisée par rapport à l'International Syphilis Standard de l'OMS (WHO 1st Standard Human Syphilitic Serum, réf. 05/132).

PRÉPARATION

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon, si les flacons bien fermés sont conservés à 2-8°C, et que la contamination est évitée pendant leur utilisation.

Mélangez doucement les réactifs avant utilisation.

Ne pas congeler. La congélation de l'antigène VDRL pourrait altérer sa fonctionnalité.

MATÉRIEL ADDITIONNEL

- Agitateur mécanique rotatif, à vitesse réglable à 180 r.p.m.
- Lames de verre.
- Microscope optique (objectif 10x).
- Pipettes de 50 μ L

ÉCHANTILLONS

Sérum frais ou plasma. Stable 7 jours à 2-8°C ou 3 mois à -20°C. Les échantillons avec des résidus de fibrine doivent être centrifugés avant l'épreuve. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés ou lipémiques.

PROCÉDURE

Méthode qualitative

1. Mettre les réactifs et les échantillons à température ambiante. La sensibilité de l'épreuve diminue à basses températures.
2. Déposer 50 μ L de l'échantillon à tester et une goutte de chaque contrôle Positif et Négatif, sur les cercles distincts d'une lame de verre.
3. Homogénéiser doucement la suspension d'antigène VDRL avant utilisation, puis déposer une goutte (20 μ L) sur chacune des gouttes précédentes.

4. Placer la lame sur un agitateur rotatif à 160-180 r.p.m. pendant 4 minutes. L'excès de temps d'agitation peut causer l'apparition de faux positifs.

Méthode semi-quantitative

1. Réaliser des dilutions doubles de l'échantillon dans une solution saline 9 g/L.
2. Procéder pour chaque dilution, comme dans l'épreuve qualitative.

LECTURE ET INTERPRÉTATION

Examiner avec un microscope optique (objectif 10 x) la présence ou absence d'agglutination immédiatement après l'agitation.

Interprétation

Type d'agglutination	Lecture	Résultat
Grands ou moyens agrégats	R	Réactif
Petits agrégats	W	Réactif faible
Aucun agrégat ou légère rugosité	N	Non réactif

Dans la méthode semi-quantitative, le titre est défini comme la plus grande dilution donnant un résultat positif.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il est recommandé d'utiliser le contrôle positif et négatif pour contrôler la fonctionnalité du réactif, et en tant que modèle de comparaison pour l'interprétation des résultats.

Tout résultat autre que le résultat qui donne le contrôle négatif est considéré comme positif.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

1. **Sensibilité analytique** : Bonne détermination du titre du Matériel de Référence dans les conditions décrites dans l'essai (cf. Étalonnage).
2. **Effet prozone** : On n'observe pas d'effet prozone jusqu'à des titres $\geq 1/128$.
3. **Sensibilité diagnostique** : 100 %
4. **Spécificité diagnostique** : 100 %

INTERFÉRENCES

Pas d'interférence avec la Bilirubine (20 mg/dL), hémoglobine (2 g/dL) et lipides (1000 mg/dL). Les facteurs rhumatoïdes (300 UI/mL) interfèrent. D'autres substances peuvent interférer⁴.

LIMITES DE LA MÉTHODE

- L'épreuve VDRL n'est pas spécifique au diagnostic de la syphilis. Il est recommandé de réaliser l'épreuve sur tous les échantillons Réactifs avec des méthodes tréponémiques, telles que le TPHA et FTA-Abs afin de confirmer les résultats.
- Un résultat négatif n'exclut pas le diagnostic de la syphilis.
- De faux résultats positifs peuvent apparaître dans d'autres maladies telles que la mononucléose infectieuse, la pneumonie virale, la toxoplasmose, les maladies auto-immunes, ainsi que dans les cas de grossesse.

BIBLIOGRAPHIE

1. George P. Schimid. 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 4. Association 1990: 1-192.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

PRÉSENTATION

Réf. : 1200405	1 500 tests	Réf. : 1200406	250 tests
30 mL Antigène VDRL stabilisé		5 mL Antigène VDRL stabilisé	
1 mL Contrôle +		1 mL Contrôle +	
1 mL Contrôle -		1 mL Contrôle -	

VDRL estabilizado

Aglutinação em lâmina escavada

Determinação qualitativa de reaginas plasmáticas IVD

Conservar entre 2-8 °C

PRINCÍPIO DO MÉTODO

O teste de VDRL é uma técnica não treponémica de aglutinação em lâmina escavada para a detecção qualitativa e semiquantitativa de reaginas plasmáticas. A suspensão antigénica, uma mistura de lípidos complexos, é aglutinada na presença de reaginas presentes na amostra do doente com sífilis.

SIGNIFICADO CLÍNICO

As reaginas são um grupo de anticorpos direccionados contra componentes do próprio organismo, em doentes que sofrem de infecção por *Treponema pallidum*, agente causal da sífilis. Este microorganismo produz lesões no fígado e coração, libertando para a corrente sanguínea pequenos fragmentos destes órgãos não reconhecidos pelo próprio indivíduo. O sistema imunológico do doente reage dando lugar à formação de reaginas, anticorpos contra estes fragmentos.

O teste é útil para seguir a resposta à terapia antibiótica.

REAGENTES

Antigénio VDRL estabilizado	Solução que contém cardiolipina 0,3 g/l, lecitina 2,1 g/l e colesterol 9 g/l, em tampão fosfato 1,5 mmol/l. Conservante, pH 7,0.
Controlo + Tampão vermelho	Soro artificial com uma titulação de reaginas $\geq 1/8$.
Controlo - Tampão azul	Soro animal. Conservante.

PRECAUÇÕES

Controlo +/-: H317-Pode causar uma reacção alérgica na pele. Contém 2-metilisotiazol-3(2H)-ona (Proclin 950).

Todos os componentes de origem humana deram resultado negativo para o antigénio HBs, HCV e para o anti-HIV (1/2). No entanto, devem ser manuseados como material potencialmente infecciosos.

CALIBRAÇÃO

A sensibilidade do reagente é padronizada contra o Padrão Internacional de Sífilis da OMS (WHO 1st Standard Human Syphilitic Serum, ref. 05/132).

PREPARAÇÃO

Os reagentes estão prontos a ser utilizados.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até ao prazo de validade indicado na etiqueta do vial, quando os vials são mantidos bem fechados, a uma temperatura entre 2-8 °C, e se evita a sua contaminação.

Misture os reagentes suavemente antes de usar.

Não congelar. O congelamento do antigénio VDRL pode alterar a sua funcionalidade.

EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Agitador mecânico rotativo de velocidade regulável a 180 r.p.m.
- Lâminas escavadas de vidro.
- Microscópio óptico (objetivo 10x).
- Pipetas de 50 μ L.

AMOSTRAS

Soro fresco ou plasma. Estável durante 7 dias a uma temperatura entre 2-8 °C ou 3 meses a -20 °C. As amostras com restos de fibrina devem ser centrifugadas antes do teste. Não utilizar amostras hemolizadas ou lipémicas.

PROCEDIMENTO

Método qualitativo

1. Deixar os reagentes e as amostras atingir a temperatura ambiente. A sensibilidade do teste diminui a baixas temperaturas.
2. Colocar 50 μ l da amostra a testar e uma gota de cada um dos controlos Positivo E Negativo, sobre círculos diferentes de uma lâmina escavada de vidro.

3. Homogenizar suavemente a suspensão de antigénio VDRL antes de utilizar e dispensar uma gota (20 μ l) sobre cada uma das gotas anteriores.

4. Colocar a lâmina escavada sobre um agitador rotativo a 160-180 r.p.m. durante 4 minutos. Um tempo de agitação excessivo pode originar o aparecimento de falsos positivos.

Método semiquantitativo

1. Realizar diluições duplas da amostra em solução salina 9 g/l.
2. Proceder para cada diluição, como no teste qualitativo.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO

Examinar através de microscópio óptico (objetivo 10x) a presença ou ausência de aglutinação, imediatamente após a agitação.

Interpretação

Tipo de aglutinação	Leitura	Resultado
Agregados grandes ou médios	R	Reactivo
Agregados pequenos	W	Reactivo fraco
Nenhum agregado ou ligeira rugosidade	N	Não Reactivo

No método semiquantitativo, define-se a titulação como a maior diluição que dá um resultado positivo.

CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se a utilização do controlo positivo e negativo para controlar a funcionalidade do reagente, assim um como modelo de comparação para interpretação dos resultados.

Qualquer resultado distinto do controlo negativo será considerado como positivo.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

1. **Sensibilidade analítica:** Correcta determinação da titulação do Material de Referência nas condições descritas no teste (ver Calibração).
2. **Efeito prozona:** Não se observa efeito prozona até titulações $\geq 1/128$.
3. **Sensibilidade diagnóstica:** 100 %
4. **Especificidade diagnóstica:** 100 %

INTERFERÊNCIAS

Bilirrubina (20 mg/dL), hemoglobina (2 g/dL) e lípidos (1000 mg/dL), não interferem. Os factores reumatóides (300 UI/ml), interferem. Podem interferir outras substâncias⁴.

LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- O teste VDRL não é específico para o diagnóstico de sífilis. Recomenda-se testar todas as amostras Reactivas com métodos treponémicos tais como o TPHA e FTA-Abs para confirmação de resultados.
- Um resultado negativo não exclui o diagnóstico de sífilis.
- Podem surgir falsos resultado positivos noutras doenças tais como a mononucleose infecciosa, pneumonia viral, toxoplasmose, gravidez e doenças autoimunes.

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 4. Association 1990: 1-192.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

APRESENTAÇÃO

Ref.: 1200405	1500 testes	Ref.: 1200406	250 testes
30 ml Antigénio VDRL estabilizado		5 ml Antigénio VDRL estabilizado	
1 ml Controlo +		1 ml Controlo +	
1 ml Controlo -		1 ml Controlo -	