VDRL estabilizado.Aglutinación en porta Ref.: KVDRL-250
Determinación cualitativa de reaginas plasmáticas
Solo para uso in vitro en el laboratorio clínico
Conservar a 2-8ºC
REF: KVDRL-250(250 tests): 5mL Antígeno VDR estabilizado + 1mL Control (+) + 1mL control (–)

VDRL

CE

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

SIGNIFICADO CLÍNICO
Las reaginas 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 reaginas, -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 0,3g/L, lecitina 2,1g/L y colesterol 9g/L, en tampón fosfato 1,5 mmol/L. Conservante, pH 7,0
Control + Tapón rojo	Suero artificial con un título de reaginas ≥ 1/8.
Control - Tapón azul	Suero animal. Conservante.

PRECAUCIONES
Control +: H319-Provoca irritación ocular grave.
Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

CALIBRACIÓN
La sensibilidad del reactivo está estandarizado frente el Estándar Internacional de Sífilis de OMS (WHO 1st Standard Human Syphilitic Serum, ref. HS).

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 2-8ºC, 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 µL.

MUESTRAS
Suero fresco o plasma. Estable 7 días a 2-8ºC 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 µL 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 µL) 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 ≥ a 1/64.
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 interferir[4].

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 resultados 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.

Bio-Science Medical S.L. C/ Velázquez,64-66, 7ºplta. 28001 MADRID (SPAIN)

VDRL. stabilized. Slide agglutination Ref.: KVDRL-250
Qualitative Determination of plasma reagins
Only for *in vitro* use in clinical laboratory
Store at 2-8ºC
REF: KVDRL-250(250 tests): 5mL VDR stabilized antigen + 1mL Control (+) + 1mL control (–)

VDRL

CE

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.

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 regains, -antibodies against these fragments-.

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 ≥ 1/8.
Control - Blue cap	Animal serum. Sodium azide 0.95 g/L.

PRECAUTIONS

Control +: H319- Causes serious eye irritation.
Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

CALIBRATION

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

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 2-8ºC and contaminations are prevented during their use. Mix reagents gently before use.
Do not freeze. The freezing of VDRL antigen may cause a lost of its functionality

ADDITIONAL EQUIPMENT

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

SAMPLES

Fresh serum or plasma. Stable 7 days at 2-8ºC or three months at -20ºC.The samples with presence of fibrin should be centrifuged before use. Do not use highly hemolized 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 µL 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 µL of this reagent onto each sample.
4. Place the slide on a mechanical rotator at 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 ≥1/64. **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 factors interfere (300 IU/mL), interferes. Other substances may interfere[4].

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

05/03/21

Bio-Science Medical S.L. C/ Velázquez,64-66, 7ºplta. 28001 MADRID (SPAIN)