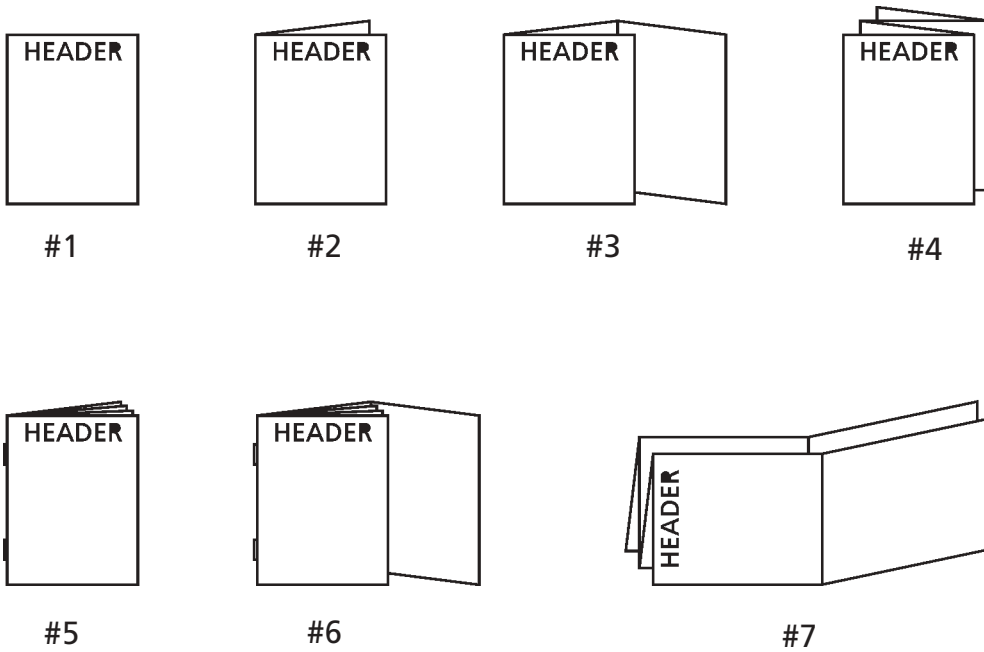


Revisions

Rev from	Rev to	ECO #
1003	0804	3022-04

Notes:

1. BD Cat. Number 235201, 240764, 240765
2. Blank (Sheet) Size : Length: 14" Width: 35"
 Number of Pages: 14 Number of Sheets: 1
 Page Size: Length 14" Width 5" Final Folded Size: 3.5" x 2.5"
3. Style (see illustrations below): #4



4. See Specification Control Number L000135 for Material Information
5. Ink Colors: Printed two sides Yes No
 No. of Colors: 1 PMS #2755 Blue
6. Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level

Label Design	Date	<p style="font-size: small;">COMPANY CONFIDENTIAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION</p> <p style="font-weight: bold; font-size: large;">BD</p> <p>Becton, Dickinson and Company 7 Loveton Circle Sparks, MD 21152 USA</p>	<p style="font-weight: bold; font-size: x-large;">A</p>	
Proofer	Date			
Checked By	Date			
Part Number: L000135		Category and Description Package Insert VDRL Antigen	Sheet: 1 of 15	
			Scale: 1 : 1	

BD VDRL Antigen with Buffered Saline VDRL Test Control Serum Set

English: pages 1 – 3 Italiano: pagina 9 – 11
Français: page 3 – 6 Español: página 11 – 14
Deutsch: Seite 6 – 9



L000135
2004/08

See symbol glossary at end of insert. / Viz popis symbolů na konci příbalového letáku. / Se symbolglossaret i slutningen af indlægssedlen. / Zie lijst met symbolen aan het einde van de bijsluiter. / Vaadake sümboleite seletust infolehe lõpus. / Katso pakkausteosten lopussa olevaa kuvamerkkien sanastoa. / Voir le glossaire des symboles à la fin de la notice. / Siehe Symbol-Erklärungen am Ende der Packungsbeilage. / Δείτε το γλωσσάριο των συμβόλων στο τέλος του ένθετου. / A jelmagyarazát a használati utasítás végén található. / Vedere il glossario dei simboli alla fine del foglio illustrativo. / Zr. informacinio lapelio pabaigoje pateikiama simbolių glosarijų. / Se i symbolforklaringen på slutten av produktvedlegget. / Zobacz objaśnienie symboli na końcu ulotki. / Consulte o glossário de símbolos no fim do folheto informativo. / Pozri slovník symbolov na konci letáku. / Consulte el glosario de símbolos al final del prospecto. / Se symbolförteckningen vid slutet av bipacksedeln.

Pokyny vám poskytne miestni zástupce spoločnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőjétől. / Naudojimo instrukcijų teiraukities vietos BD įgaliotojo atstovo. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielem BD. / Contacte o seu representante local da BD para obter instruções. / Instrukcje ziskate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Kontakta lokal Becton Dickinson-representant för anvisningar.

INTENDED USE

VDRL Antigen with Buffered Saline is recommended for use in the Venereal Disease Research Laboratory (VDRL)¹ test for the detection of reagin, an antibody-like substance, by the qualitative and quantitative slide flocculation tests.

VDRL Test Control Serum Set is recommended for use in the quality control testing of VDRL Antigen by the slide flocculation test.

SUMMARY AND EXPLANATION

Treponema pallidum is the causative agent of syphilis. Syphilis is a chronic infection with many clinical manifestations which occur in distinct stages. Specific laboratory tests are recommended for the detection of each stage of the disease.²⁻⁴

The VDRL Antigen is a nontreponemal antigen composed of cardiolipin cholesterol and lecithin. The nontreponemal tests measure anti-lipid antibodies, which are formed by the host in response to lipids released from damaged host cells early in infection with *T. pallidum*, and lipid-like material from the treponemal cell surface.⁵ During syphilis infection, an antibody-like substance called reagin can be detected in the patient's serum. In syphilis infection of the central nervous system, reagin can be detected in the cerebrospinal fluid (CSF).

Reactive nontreponemal tests confirm the diagnosis in the presence of early or late lesion syphilis. They offer a clue in latent subclinical syphilis, and are effective tools for detecting cases in epidemiologic investigations. Nontreponemal tests are superior to the treponemal test for following the response to therapy.²

Nontreponemal antigen tests are not entirely specific for syphilis, nor do they have satisfactory sensitivity in all stages of syphilis. Whenever the results of a nontreponemal antigen test disagree with the clinical impression, a treponemal antigen test such as the FTA-ABS^{2,3} should be performed. Nontreponemal tests such as the VDRL are used to screen patient serum, while treponemal tests such as the FTA-ABS are used for confirmation. The likelihood of obtaining a reactive VDRL test result in various stages of untreated syphilis has been reported as follows.³

Stages of Untreated Syphilis	% Reactive VDRL Test
Primary	78
Secondary	100
Latent	96
Late	71

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

In the VDRL Test procedures, the patient's serum is heat-inactivated and mixed with a buffered saline suspension of VDRL Antigen containing cardiolipin, lecithin and cholesterol. The combination of reagin and VDRL Antigen forms microscopic clumping called flocculation. With modification, the serum procedure can be used for testing CSF.¹

REAGENTS

VDRL Antigen is 0.03% cardiolipin and 0.9% cholesterol dissolved in absolute alcohol with sufficient lecithin (approximately 0.18 - 0.20%) to produce standard reactivity. It is prepared with modifications according to the directions given by Harris, Rosenberg and Riedel.⁶ Cardiolipin and lecithin are prepared according to directions given by Pangborn.^{7,8,9}

VDRL Buffered Saline is a 1% sodium chloride solution, pH 6.0 ± 0.1, with 0.5% formaldehyde as a preservative.

Nontreponemal Antigen Reactive Serum is a lyophilized human serum with 0.02% thimerosal as a preservative which is standardized to provide a reactive reading when tested according to the USR or VDRL test procedure.

VDRL Weakly Reactive Serum is a lyophilized human serum with 0.02% thimerosal as a preservative which is standardized to provide a weakly reactive reading when tested according to the VDRL test procedure.

Nontreponemal Antigen Nonreactive Serum is a lyophilized human serum with 0.02% thimerosal as a preservative which is standardized to provide a nonreactive reading when tested according to the USR or VDRL test procedure.

Precautions:

- For *in vitro* Diagnostic Use.
- WARNING: POTENTIAL BIOHAZARDOUS REAGENTS.** Each donor unit used in preparation of VDRL Test Control Serum Set was tested by an FDA licensed method for the presence of the antibody to human immunodeficiency virus (HIV) as well as for hepatitis B surface antigen (HbsAg) and found to be negative (were not repeatedly reactive). Because no test method can offer complete assurance that HIV, hepatitis B virus or other infectious agents are absent, these reagents should be handled at the Biosafety Level 2 as recommended for any potentially infectious human serum or blood specimen in the Centers for Disease Control/National Institutes of Health Manual *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 1999.
- Pathogenic microorganisms, including hepatitis viruses and Human Immunodeficiency Virus, may be present in clinical specimens. "Standard Precautions"¹⁰⁻¹³ and institutional guidelines should be followed in handling all items contaminated with blood and other body fluids.
- VDRL Antigen
HIGHLY FLAMMABLE. IRRITATING TO EYES, RESPIRATORY SYSTEM AND SKIN (US) POSSIBLE RISK OF IRREVERSIBLE EFFECTS (US), POSSIBLE RISK OF HARM TO THE UNBORN CHILD (US) TARGET ORGANS; Blood, Intestines, Liver, Muscle, Nerves.
Avoid contact with skin and eyes. Do not breathe mist. Wear suitable protective clothing. Keep container tightly closed. Keep away from sources of ignition. No smoking.
- VDRL Test Control Serum Set
This Product Contains Dry Natural Rubber

Storage Instructions:

Store VDRL Antigen at room temperature (15 – 30°C) in the dark.

Store VDRL Buffered Saline at 15 – 30°C. After bottle is opened, store at 2 – 8°C.

Store lyophilized control sera in the VDRL Test Control Serum Set at 2 – 8°C.

Upon re-hydration of the control sera, store at 2 – 8°C if contents will be consumed within one day. Alternatively, divide the control sera into aliquots sufficient for one day of testing and store at ≤ -20°C.

Do not use if reagents show signs of contamination, evaporation, precipitation or other signs of deterioration.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- Collect 5 – 8 mL of blood by aseptic venipuncture into clean, dry tube without an anticoagulant.
- Allow blood to clot at room temperature, and centrifuge to obtain serum.
- Store serum specimens at room temperature for up to 4 h; after 4 h, store at 2 – 8°C. Serum specimens may be refrigerated for up to 5 days, then frozen at < -20°C. Avoid repeat freezing – thawing of specimens.
- Serum specimens must be clear, free of hemolysis and show no visible evidence of bacterial contamination (turbidity, hemolysis or particulate matter). Refer to appropriate references for more information on collection of specimens.^{1,3,14}
- Before testing, heat the test sera at 56°C for 30 min. Specimens that are not tested within 4 h must be reheated for 10 min at 56°C.
- Specimens must be at 23 – 29°C when tested.

PROCEDURE

Materials Provided: VDRL Antigen with Buffered Saline, VDRL Test Control Serum Set.

Materials Required But Not Provided:

0.9% Saline

Nondisposable syringe, 1cc

Nondisposable calibrated needles without bevel:

Serum test: 18 gauge

CSF test: 21 or 22 gauge

Bottles, 30 mL, round, narrow-mouthed, 35 mm in diameter with glass stoppers and a flat inner bottom surface

NOTE: Properly washed 25 mL glass-stoppered Erlenmeyer flasks may be substituted if 30 mL bottles are not available.

Micropipettor, 50 µL

Pipettes, serologic, graduated to tip:

1.0 mL graduated in 1/100 mL,

5.0 mL, graduated in 1/10 mL,

10.0 mL graduated in 1/10 mL;

Slides:

Serum test: 2 x 3 inches with paraffin or ceramic rings approximately 14 mm in diameter and high enough to prevent spillage during rotation.

CSF test: Kline concavity slides, 3 x 2 inches x 3 mm thick, 12 concavities measuring 16 mm in diameter and 1.75 mm in depth.

Slide holder for 2 x 4 inch slides

Mechanical rotator adjustable to 180 ± 2 rpm, circumscribing a circle 19 mm in diameter on a horizontal plane

Water bath, 56°C

Light microscope with 10x ocular and 10x objective

Sterile distilled or deionized water

Absolute alcohol

Acetone

Timer

Reagent Preparation

- To rehydrate control sera in the VDRL Test Control Serum Set, add 3 mL sterile purified water and rotate gently to completely dissolve the contents.
- VDRL Antigen and VDRL Buffered Saline are ready to use in preparing VDRL Antigen suspension.

Preparation of Specific Glassware

Wash syringes with needles and suspension bottles by hand in the following manner:

- Rinse with tap water.
- Soak and wash thoroughly in a glassware detergent solution.
- Rinse with tap water 6 – 8 times.
- Rinse with unused distilled or deionized water.
- Rinse with absolute alcohol.
- Rinse with acetone.
- Air dry until acetone odor is completely eliminated.
- Remove needles from syringes for storage.

Ceramic-ringed slides:

- Rinse with tap water.
- Wash with a glassware detergent solution.
- Rinse with tap water 3 – 4 times.
- Rinse with unused distilled or deionized water.
- Wipe dry with lint-free cloth. If, after cleaning, the slide does not allow serum to spread evenly within the inner surface of the circle, treat the slide as follows.

- Scrub the slides with a nonabrasive cleanser.
- Rinse, dry and polish with clean lint-free cloth.

Avoid prolonged soaking of ceramic-ringed slides in detergent solution because the ceramic rings will become brittle and flake off.

Test Procedure

Prepare the Antigen Suspension

Check the pH of VDRL Buffered Saline before preparing VDRL antigen suspension. Discard if outside the range of pH 6.0 ± 0.1. Allow VDRL Antigen and VDRL Buffered Saline to reach 23 – 29°C before preparing VDRL antigen suspension.

Use only suspension bottle with flat inner-bottom surfaces that allow the initial VDRL buffered saline to evenly cover the inner-bottom surface of the bottle. If the VDRL buffered saline beads or does not spread evenly to cover the bottom of the bottle, rewash the bottle as described above. (See NOTE above regarding use of 25 mL glass stoppered flasks).

For reproducible results, the VDRL Antigen suspension must be checked daily for proper reactivity with VDRL Test Control Serum Set. Only those VDRL suspensions producing the established reactivity pattern of the control serum should be used.

- Prepare a fresh VDRL antigen suspension each testing day. The temperature of the buffered saline, antigen and equipment should be between 23 – 29°C at the time the antigen suspension is prepared.
- Pipette 0.4 mL of VDRL Buffered Saline to the bottom of a round, 30 mL glass-stoppered bottle with a flat inner-bottom surface. Gently tilt bottle so that VDRL buffered saline will cover the entire inner-bottom surface of the bottle.
- Add 0.5 mL of VDRL Antigen (from the lower half of a 1.0 mL pipette graduated to the tip) directly into the saline while continuously but gently rotating the bottle on a flat surface. Add antigen drop by drop at a rate allowing approximately 6 s for 0.5 mL of antigen. Keep the pipette tip in the upper third of the bottle. Do not splash saline onto the pipette. The proper speed of rotation is obtained when the center of the bottle circumscribes a 5 cm diameter circle approximately 3 times per s.
- Expel the last drop of antigen from the pipette without touching the pipette to the saline and continue rotation of the bottle for 10 s.
- Add 4.1 mL of buffered saline from a 5 mL pipette. Do not drop the saline directly onto the antigen; allow it to flow down the side of the bottle.
- Cap the bottle and shake it from bottom to top and back approximately 30 times in 10 s. The antigen suspension is ready for use and may be used during that day (8 h).
- Mix the VDRL Antigen suspension by gently swirling it each time it is used. Do not mix the suspension by forcing it back and forth through the syringe and needle, since this may cause breakdown of particles and loss of reactivity.

Test Accuracy of Antigen Suspension Needle for Serum Test

- The accuracy of the test depends on the amount of antigen suspension used. Check the calibration needle periodically to ensure delivery of the correct volume of VDRL antigen suspension.
- For the qualitative and quantitative tests on serum, dispense antigen suspension from a syringe fitted with an 18 gauge needle without bevel, which will deliver 60 ± 2 drops for antigen suspension per mL when held vertically.
- Place the needle on a 1 mL syringe. Fill the syringe with VDRL Antigen suspension. Holding the syringe in a vertical position, count the number of drops delivered in 0.5 mL. The needle is correctly calibrated if 30 ± 1 drops are delivered in 0.5 mL.
- Replace the needle if it does not meet this specification. Repeat calibration on the new needle.

VDRL Qualitative Slide Test on Serum

- Slide flocculation tests for syphilis are affected by the room temperature. For reliable and reproducible test results, the VDRL Antigen suspensions, controls and test specimens must be at room temperature, 23 – 29°C, when tests are performed.
- Pipette 50 µL of serum into one ring of paraffin or ceramic-ringed slide using a safety pipetting device. Do not use a glass slide with concavities, wells or glass rings. Spread the serum with a circular motion of the pipette tip so that the serum covers the entire inner surface of the paraffin or ceramic ring.
- Gently resuspend the VDRL Antigen suspension.
- Holding the VDRL Antigen suspension dispensing needle and syringe in a vertical position, dispense several drops to clear the needle of air. Then add exactly 1 free-falling drop (17 µL) of antigen suspension to each circle containing serum. Do not allow the needle to touch the serum.
- Place the slide on the mechanical rotator. Rotate the slide for 4 min at 180 ± 2 rpm. When performing the test in a dry climate, cover the slides with a moist, humidifying cover during rotation to prevent excessive evaporation.
- Immediately after rotating the slide, remove it from the rotator and read the test results microscopically using 100x magnification.

VDRL Quantitative Test on Serum

- To quantitate serum samples to endpoint titer, prepare serum dilutions on the slide at 1:1, 1:2, 1:4, and 1:8.
- Dispense 50 µL of 0.9% saline in circles numbered 2 – 4. Do not spread the saline.
- Dispense 50 µL of serum in circle 1 and 50 µL of serum in circle 2.
- Mix the saline and the serum in circle 2 by drawing the mixture up and down in the pipette approximately 8 times. Avoid forming bubbles.
- Transfer 50 µL from circle 2 (1:2) to circle 3 (1:4) and mix.
- Transfer 50 µL from circle 3 (1:4) to circle 4 (1:8), mix and then discard the last 50 µL.
- Gently resuspend the antigen suspension.
- Holding the antigen suspension dispensing needle and syringe in a vertical position dispense several drops to clear the needle of air. Then add exactly 1 free-falling drop (17 µL) of antigen suspension to each circle.
- Place the slide on the mechanical rotator. Rotate the slide for 4 min at 180 ± 2 rpm. When performing the test in a dry climate, place the slide under a moist, humidifying cover during rotation to prevent excessive evaporation.
- Immediately after rotation, read the test microscopically using 100x magnification.
- If the highest dilution tested (1:8) is reactive:
 - Prepare a 1:8 dilution of the test specimen by adding 0.1 mL of serum to 0.7 mL of 0.9% saline. Mix thoroughly.
 - Place 50 µL of 0.9% saline into the second, third and fourth paraffin rings in a row on the slide. Prepare additional serial dilutions for strongly reactive specimens.
 - Add 50 µL of the 1:8 dilution of the test specimen to paraffin rings 1 and 2.
 - Prepare serial twofold dilutions beginning with ring 2 and complete the test described above.

User Quality Control of VDRL Antigen Suspension

- Prepare a fresh antigen suspension each testing day. Once prepared, it should be used within 8 h.
- Store the prepared antigen suspension at 23 – 29°C.
- Test antigen suspension reactivity with control sera (Reactive, Weakly Reactive and Nonreactive). Test serum dilutions within 1 h after heat inactivation.
- Use the antigen suspension only if it produces the expected reactivity with the control sera (Reactive, Weakly Reactive and Nonreactive) comparable to results obtained with the reference antigen.

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent NCCLS guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

RESULTS

Qualitative

- Read and record results as follows:
Medium to large clumps-Reactive (R)
Small clumps-Weakly Reactive (WR)
NO clumping or very slight roughness - Nonreactive (NR)
- Verify that the control sera results are as expected (Reactive, Weakly Reactive, Nonreactive). If reactions are not expected, the test is invalid and results cannot be reported.
- Perform a quantitative test to endpoint on all serum specimens that produce Reactive, Weakly Reactive or "rough" Nonreactive results in the qualitative slide test.

Quantitative

Report the titer as the highest dilution that produces a Reactive (not Weakly Reactive) result. For example:

Undiluted (1:1)	Serum Dilutions					Report
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	
R	W	N	N	N	N	Reactive, undiluted
R	R	W	N	N	N	Reactive, 1:2 dilution
R	R	R	W	N	N	Reactive, 1:4 dilution
W	W	R	R	W	N	Reactive, 1:8 dilution
N (rough)	W	R	R	R	N	Reactive, 1:16 dilution
W	N	N	N	N	N	Weakly Reactive, undiluted

If reactive results are obtained through dilution 1:32, prepare further twofold serial dilutions in 0.9% saline (1:64, 1:128 and 1:256) and retest using the quantitative test procedure.

Interpretation

- The results of the serum VDRL Test must be confirmed by a treponemal test.
- The diagnosis of syphilis depends upon the results of the VDRL, treponemal confirmatory test, clinical signs and symptoms and risk factors.
- A reactive VDRL Test may indicate past or present infection with a pathogenic treponeme. However, it may be a false positive reaction. A false positive is determined if the confirmatory treponemal test is negative.
- A nonreactive VDRL Test with clinical evidence of syphilis may indicate early primary syphilis, a prozone reaction in secondary syphilis, or late syphilis.
- A nonreactive VDRL Test with no clinical evidence of syphilis indicates no current infection or an effectively treated infection.
- A quantitative VDRL Test detects changes in reagent titer. Therefore, a serum specimen showing a fourfold increase in titer on a repeat specimen may indicate an infection, a reinfection or a treatment failure. Likewise, a fourfold decrease during treatment indicates adequate syphilis therapy.

VDRL Test on Cerebrospinal Fluid

Refer to the appropriate reference for the procedure when testing cerebrospinal fluids with the VDRL Test.¹

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

A prozone reaction may occur in which reactivity with undiluted serum is inhibited. The prozone phenomenon often gives Weakly Reactive or "rough" Nonreactive results in the qualitative test. Therefore, all specimens with these results must be tested in the quantitative test.

Biological false positive reactions can occur with nontreponemal tests in persons who abuse drugs, have diseases such as lupus erythematosus, mononucleosis, malaria, leprosy or viral pneumonia, or have recently been immunized.¹

Cross reactions may occur with other treponemal infections, such as yaws, pinta, bejel, or siti.

In manufacturing, VDRL Antigen with Buffered Saline is tested only with serum. For a modification of the serum test products and procedures for CSF testing, consult the appropriate reference.¹ The user is responsible for modifying the products and procedures and for the required quality control standards.

If the temperature of the testing area, specimens or reagents is less than 23°C, test reactivity is decreased; if the temperature is greater than 29°C, test reactivity is increased.¹

Test results are unpredictable when testing hemolyzed, contaminated or extremely turbid serum specimens. Plasma is not an acceptable specimen.

For correct test results, strictly adhere to correct speed and length of time for rotating the specimens and antigen.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS^{15,16}

The performance of the VDRL slide test was compared to two rapid plasma reagin (RPR) card tests and a fluorescent treponemal antibody absorption (FTA-ABS) test for the diagnosis of syphilis in a study by Perryman, Larsen, Hambie, Pettit, Mullally and Whittington.¹⁵ Fresh serum samples obtained from 505 individuals were tested using these four test procedures.

Of the 505 fresh serum samples, 57 sera were reactive in at least one of the nontreponemal tests. The three sera giving borderline FTA-ABS test results were not entered into the tabulation. See Table 1 for distribution of reactive sera among the three nontreponemal tests and the FTA-ABS test.¹⁵

Table 1

Nontreponemal test pattern of reactivity ^a			No. of sera with pattern	No. of sera with following result by FTA-ABS test ^a		
RPR Card Test		VDRL Slide		R		
RPR Test #1	Standard RPR Test #2			R	B	N
R	R	R	43	38	2	3
N	R	R	1	1		
N	N	R	4	2		2
N	R	N	1	1		
R	R	N	5	5		
R	N	N	1	1		
R	N	R	2	1	1	

^aR, Reactive; B, borderline; N, nonreactive

Table 2 shows the diagnoses associated with reactive nontreponemal tests.¹⁵

Table 2

Stage of Syphilis	No. of sera with indicated reaction by following test ^a									
	RPR card test				VDRL slide test			FTA-ABS Test		
	Test #1		Standard Test #2							
	R	N	R	N	R	W	N	R	B	N
Primary										
Untreated	5	1	6		4	2		6		
Treated	7	1	7	1	5	1	2	8		
Secondary										
Untreated	6		6		6			6		
Treated	5		5		5			5		
Latent										
Untreated	9		8	1	8		1	8	1	
Treated	15	1	15	1	10	3	3	14		2
Past history of syphilis										
	1	1	1	1		2		2		
Other sexually transmitted diseases										
	3	2	2	3	3	2			2	3

^aR, Reactive; N, nonreactive; W, weakly reactive (considered reactive in tabulation); B, borderline

The sensitivity of all three nontreponemal tests, based on the 21 untreated cases of syphilis was 95.2% (20 out of 21 results in agreement). With the 31 sera from individuals with treated syphilis, the sensitivity of the VDRL slide test was 83.9% (26 out of 31 results in agreement). The overall sensitivity (treated and untreated) was 88.5% for the VDRL slide test, as compared to 92.3% for both RPR card tests.

The specificities of the three nontreponemal tests based on the 453 sera drawn from individuals presumed not to have syphilis were 99.3% for RPR Test #1, 99.6% for the standard RPR Test #2 and 98.9% for the VDRL slide test.¹⁵

In another study conducted by Pope, Hunter and Feeley¹⁶ at the Centers for Disease Control in Atlanta, Georgia, 297 sera were tested by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), VDRL slide test, FTA-ABS test and the microhemagglutination assay for *T. pallidum* antibodies (MHA-TP). Table 3 below lists the sensitivities and specificities of each method published in this study.¹⁶

Table 3

Test	Sensitivity	Specificity
ELISA	89.3%	98.5%
VDRL	93.3%	92.7%
FTA-ABS	100 %	97.8%
MHA-TP	76 %	98.2%

AVAILABILITY

Cat. No.	Description
240764	VDRL Antigen with Buffered Saline; 1 x 5 mL Ampules with 1 x 60 mL Saline
240765	VDRL Antigen with Buffered Saline; 10 x 0.5 mL Ampules with 1 x 60 mL Saline
235201	VDRL Test Control Serum Set, 1 set of 3 vials: Nontreponemal Antigen Reactive Serum, one 3 mL vial VDRL Weakly Reactive Serum, one 3 mL vial Nontreponemal Antigen Nonreactive Serum, one 3 mL vial

REFERENCES

- Larsen, S.A., V. Pope, R. Johnson, and E.J. Kennedy, Jr. (ed.). 1998. A manual of tests for syphilis, 9th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Creighton, E.T. 1990. Darkfield microscopy for the detection and identification of *Treponema pallidum*, p. 49-61. In S. A. Larsen, E. F. Hunter, and S. J. Kraus (ed.), Manual of tests for syphilis, 8th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Janda, W.M. (ed.). 1994. Immunology, p. 9.7.1-9.7.20. In H. D. Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures handbook, vol. 2. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Norris, S.J., V. Pope, R.E. Johnson and S.A. Larsen. 2003. *Treponema* and other human host-associated spirochetes, p. 955-971. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Matthews, H.M., T.K. Yang, and H.M. Jenkin. 1979. Unique lipid composition of *Treponema pallidum* (Nichols virulent strain). Infect. Immun. 24:713-719.
- Harris, A., A.A. Rosenberg, and L.M. Riedel. 1946. A microflocculation test for syphilis using cardioliipin antigen. J. Ven. Dis. Infor 27:169-174.
- Pangborn, M.C. 1941. A new serologically active phospholipid from beef heart. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48:484-486.
- Pangborn, M.C. 1944. Acid cardioliipin and an improved method for the preparation of cardioliipin from beef heart. J. Biol. Chem. 153:343-348.
- Pangborn, M.C. 1945. A simplified preparation of cardioliipin, with a note on purification of lecithin for serologic use. J. Biol. Chem. 161:71-82.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, PA.
- Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80
- U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC) 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
- Thomson, R.B. and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport and processing: bacteriology, p. 286-330. In Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Perryman, M.W., S.A. Larsen, E.A. Hambie, D.E. Pettit, R.L. Mullally and W. Whittington. 1982. Evaluation of a new rapid plasma reagin card test as a screening test for syphilis. J. Clin. Microbiol. 16:286-290.
- Pope, V., E.F. Hunter and J.C. Feeley. 1982. Evaluation of the microenzyme-linked immunosorbent assay with *Treponema pallidum* antigen. J. Clin. Microbiol. 15:630-634.

BD VDRL Antigen avec serum physiologique tamponné VDRL Test Control Serum Set

Français

APPLICATION

Le VDRL Antigen avec sérum physiologique tamponné est recommandé pour réaliser le test VDRL¹ du *Venereal Disease Research Laboratory* servant à détecter la réagine, une substance apparentée à un anticorps, par des tests qualitatifs et quantitatifs de flocculation sur lame.

Le VDRL Test Control Set (jeu de contrôles de test VDRL) est recommandé pour réaliser les tests de contrôle de qualité du VDRL Antigen par le test de flocculation sur lame.

RESUME ET EXPLICATION

Treponema pallidum est l'agent pathogène de la syphilis. La syphilis est une infection chronique aux nombreuses manifestations cliniques qui évolue en trois phases distinctes. Des tests de dépistage spécifiques sont recommandés à chacun des stades de la maladie.²⁻⁴

Le VDRL Antigen est un antigène non tréponémique composé de cardioliipine, cholestérol et lécithine. Les tests non tréponémiques dosent les anticorps anti-lipidiques qui sont sécrétés par l'hôte en réponse aux lipides libérés des cellules hôtes endommagées au stade précoce de l'infection par *T. pallidum* et par des substances apparentées aux lipides présentes en surface du tréponème.⁵ Une substance apparentée à un anticorps, appelée réagine, peut être détectée dans le sérum d'un patient syphilitique. Lorsque la syphilis s'étend au système nerveux central, la réagine peut être détectée dans le liquide céphalo-rachidien (LCR).

Les tests non tréponémiques sensibles confirment le diagnostic en présence d'une lésion syphilitique précoce ou tardive. Ils facilitent le diagnostic de la syphilis infraclinique latente et constituent des outils de dépistage efficaces lors d'études épidémiologiques. Les tests non tréponémiques sont supérieurs aux tests tréponémiques en ce qui concerne le suivi de la réponse au traitement.³

Les tests d'antigène non tréponémique ne sont pas totalement spécifiques de la syphilis et ne présentent pas une sensibilité satisfaisante à tous les stades de la syphilis. Lorsque les résultats d'un test d'antigène non tréponémique ne concordent pas avec le tableau clinique, un test d'antigène tréponémique, comme le test FTA-ABS^{2,3} doit être effectué. Les tests non tréponémiques comme le VDRL servent de tests de dépistage sur des échantillons sériques, alors que les tests tréponémiques comme le FTA-ABS servent de tests de confirmation. La possibilité d'obtenir un résultat de test VDRL positif (sérum réactif) aux différents stades d'une syphilis non traitée est la suivante.³

Stades de la syphilis non traitée	% de test VDRL positif (sérum réactif)
Primaire	78
Secondaire	100
Latente	96
Tardive	71

PRINCIPES DE LA METHODE

Pour réaliser le test VDRL, le sérum du patient est inactivé à la chaleur, puis mélangé à une suspension de VDRL Antigen dans du sérum physiologique tamponné contenant de la cardioline, de la lécithine et du cholestérol. Le VDRL Antigen conjugué à la réagine forme des agrégats microscopiques que l'on nomme floculation. La méthode utilisée pour le sérum peut être adaptée au test du LCR après modification.¹

REACTIFS

Le VDRL Antigen est composé de 0,03 % de cardioline et 0,9 % de cholestérol dissous dans de l'alcool absolu avec une quantité suffisante de lécithine (environ 0,18 à 0,20 %) pour présenter une réactivité standard. Il est préparé selon les modifications proposées par Harris, Rosenberg et Riedel.⁶ La cardioline et la lécithine sont préparées conformément aux instructions données par Pangborn.^{7,8,9}

Le VDRL Buffered Saline est une solution de chlorure de sodium à 1 %, pH 6,0 ± 0,1, contenant 0,5 % de formol (conservateur).

Le Nonrepreneal Antigen Reactive Serum est un sérum humain lyophilisé contenant 0,02 % de thimérosal (conservateur), qui est standardisé pour être réactif lorsqu'il est testé conformément au mode opératoire du test USR ou VDRL.

Le VDRL Weakly Reactive Serum est un sérum humain lyophilisé contenant 0,02 % de thimérosal (conservateur), qui est standardisé pour être faiblement réactif lorsqu'il est testé conformément au mode opératoire du test VDRL.

Le Nonrepreneal Antigen Nonreactive Serum est un sérum humain lyophilisé contenant 0,02 % de thimérosal (conservateur), qui est standardisé pour être non réactif lorsqu'il est testé conformément au mode opératoire du test USR ou VDRL.

Precautions:

- Réserver au diagnostic *in vitro*.
- AVERTISSEMENT : REACTIFS A RISQUE BIOLOGIQUE. Chaque unité de donneur utilisée pour la préparation du VDRL Test Control Serum Set a été testée par des méthodes sous licence FDA de dépistage d'anticorps spécifiques du virus d'immunodéficience humaine (VIH) et de l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs) et s'est avérée négative (n'était pas réactive à plusieurs reprises).

Aucune méthode de test ne pouvant garantir avec certitude l'absence du VIH, du virus de l'hépatite B ou d'autres agents infectieux, il convient de manipuler ces réactifs en respectant des pratiques de sécurité biologique de niveau 2, comme pour tout sérum ou échantillon sanguin humain capable de transmettre une maladie infectieuse (voir le manuel *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 1999, publié par les *Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health* des Etats-Unis).

- Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « Précautions standard »¹⁰⁻¹³ et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques.
- VDRL Antigen HAUTEMENT INFLAMMABLE. IRRITANT POUR LES YEUX, LES VOIES RESPIRATOIRES ET LA PEAU (ETATS-UNIS), POSSIBILITE D'EFFETS IRREVERSIBLES (ETATS-UNIS), RISQUES POUR LE FŒTUS (ETATS-UNIS) ; ORGANES CIBLES : sang, intestins, muscles, nerfs.

Eviter tout contact avec la peau et les yeux. Ne pas respirer les vapeurs. Porter un vêtement de protection adapté. Bien boucher le récipient. Tenir à l'écart des sources d'inflammation. Ne pas fumer.

- VDRL Test Control Serum Set
Ce produit contient du caoutchouc naturel sec

Instructions pour la conservation :

Conservé le VDRL Antigen dans l'obscurité à température ambiante (15 à 30 °C).

Conservé le VDRL Buffered Saline entre 15 et 30 °C. Conservé les flacons entamés entre 2 et 8 °C.

Conservé les sérums de contrôle lyophilisés du VDRL Test Control Serum Set entre 2 et 8 °C.

Conservé les sérums de contrôle reconstitués entre 2 et 8 °C s'ils sont utilisés dans les 24 h. Ou aliquoter les sérums de contrôle en volumes suffisants pour une journée de test et conserver les aliquotes à une température ≤ -20 °C.

Ne pas utiliser les réactifs s'il présentent des signes de contamination, d'évaporation, de précipitation ou d'autres signes de détérioration.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

- Dans un tube propre et ne contenant pas d'anticoagulant, recueillir 5 à 8 mL de sang par ponction veineuse en conditions aseptiques.
- Laisser le sang coaguler à température ambiante et centrifuger afin de séparer le sérum.
- Les échantillons sériques se conservent jusqu'à 4 h à température ambiante ; au-delà, conserver entre 2 et 8 °C. Les échantillons sériques peuvent être conservés jusqu'à 5 jours au réfrigérateur ; au-delà, congeler à une température inférieure à -20 °C. Eviter de multiplier les cycles de congélation et décongélation des échantillons.
- Les échantillons sériques doivent être limpides, non hémolysés et dépourvus de traces de contamination bactérienne (turbidité, hémolyse ou matières particulaires visibles). Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur le prélèvement des échantillons.^{1,3,14}
- Avant l'analyse, chauffer les sérums à tester à 56 °C pendant 30 min. Les échantillons n'ayant pas été testés dans les 4 h doivent être réchauffés pendant 10 min à 56 °C.
- Les échantillons doivent se trouver une température comprise entre 23 et 29 °C au moment du test.

METHODE

Matériaux fournis : VDRL Antigen avec sérum physiologique tamponné, VDRL Test Control Serum Set.

Matériaux requis mais non fournis :

Sérum physiologique (0,9 % NaCl)

Seringue lavable de 1 mL

Aiguilles calibrées lavables à pointe non biseautée :

Test sérique : 18 G
Test LCR : 21 ou 22 G

Flacons de 30 mL, ronds, à col étroit, de 35 mm de diamètre avec bouchons de verre et fond plat

REMARQUE : Des fioles d'Ehrlemeyer de 25 mL à bouchon de verre soigneusement lavées peuvent remplacer les flacons de 30 mL.

Micropipette de 50 µL

Pipettes sérologiques graduées jusqu'à la pointe :

1,0 mL, graduées en centièmes de mL

5,0 mL, graduées en dixièmes de mL

10,0 mL, graduées en dixièmes de mL

Lames :

Test sérique : Lames de 50,8 x 76,2 mm environ avec anneaux de paraffine ou de céramique de 14 mm de diamètre environ et de hauteur suffisante pour empêcher un débordement en cours de rotation (test du LCR). Lames à concavités (Kline), 50,8 x 76,2 mm environ, épaisseur 3 mm, comptant 12 concavités de 16 mm de diamètre et 1,75 mm de profondeur

Porte-lames pour lames de 50,8 x 101,6 mm

Agitateur rotatif réglable à 180 ± 2 tr/min, décrivant un cercle de 19 mm de diamètre dans le plan horizontal.

Bain-marie (56 °C)

Microscope optique avec oculaire 10X et objectif 10X

Eau distillée ou désionisée stérile

Alcool absolu

Acétone

Minuterie

Preparation des reactifs

- Pour reconstituer les sérums de contrôle, ajouter 3 mL de VDRL Test Control Serum Set et faire tourner doucement pour dissoudre entièrement le contenu.
- Le VDRL Antigen et le VDRL Buffered Saline sont prêts à l'emploi pour préparer la suspension de VDRL Antigen.

Preparation de la verrerie spécifique

Procéder comme suit pour laver à la main les seringues (sans démonter les aiguilles) et les flacons à suspension :

- Rincer à l'eau courante.
- Faire tremper la verrerie dans une solution détergente et laver soigneusement.
- Rincer 6 à 8 fois à l'eau courante.
- Rincer à l'eau distillée ou désionisée non usagée.
- Rincer à l'alcool absolu.
- Rincer à l'acétone.
- Sécher à l'air jusqu'à disparition de l'odeur d'acétone.
- Retirer les aiguilles des seringues avant de les ranger.

Lames a anneaux de ceramique :

- Rincer à l'eau courante.
- Laver avec une solution détergente adaptée à la verrerie.
- Rincer 3 à 4 fois à l'eau courante.
- Rincer à l'eau distillée ou désionisée non usagée.
- Sécher avec un chiffon non pelucheux. Si le sérum ne s'étale pas uniformément sur la surface intérieure de l'anneau des lames nettoyées, traiter la lame comme suit.
- Frotter les lames avec un nettoyant non récurant.
- Rincer, sécher et lustrer avec un chiffon non pelucheux propre.

Eviter un trempage prolongé des lames à anneaux de céramique dans une solution détergente car les anneaux de céramique risquent de se fragiliser et de s'effriter.

Mode operatoire du test

Preparer la suspension d'antigene

Contrôler le pH du VDRL Buffered Saline avant de préparer la suspension de VDRL Antigen. Jeter le tampon si le pH diffère de 6,0 ± 0,1.

Laisser la température du VDRL Antigen et du VDRL Buffered Saline s'équilibrer entre 23 et 29 °C avant de préparer la suspension de VDRL Antigen.

Utiliser uniquement un flacon de suspension à fond plat pour permettre au VDRL Buffered Saline initial de couvrir uniformément le fond du flacon. Si le VDRL Buffered Saline perle ou ne s'étale pas uniformément au fond du flacon, laver à nouveau le flacon comme indiqué ci-dessus. (Voir la REMARQUE ci-dessus concernant l'utilisation des fioles de 25 mL à bouchon de verre).

Pour garantir la reproductibilité des résultats, contrôler quotidiennement la réactivité de la suspension de VDRL Antigen avec le VDRL Test Control Serum Set. Seules les suspensions de VDRL donnant le profil de réactivité attendu pour le sérum de contrôle doivent être utilisées.

- Préparer une nouvelle suspension de VDRL Antigen chaque jour où le test est réalisé. La température du sérum physiologique tamponné, de l'antigène et du matériel doit être comprise entre 23 et 29 °C lors de la préparation de la suspension d'antigène.
- Déposer à la pipette 0,4 mL de VDRL Buffered Saline au fond d'un flacon rond à fond plat et bouchon de verre de 30 mL. Incliner légèrement le flacon afin que le VDRL Buffered Saline en recouvre entièrement le fond.
- Ajouter 0,5 mL de VDRL Antigen (à partir de la moitié inférieure d'une pipette de 1,0 mL graduée jusqu'à la pointe) directement dans le sérum physiologique en faisant tourner doucement, mais en continu, le flacon sur une surface plane. Ajouter l'antigène goutte-à-goutte à raison de 0,5 mL de solution d'antigène en 6 s. Maintenir la pointe de la pipette dans le tiers supérieur du flacon. Ne pas élabousser la pipette de sérum physiologique. La vitesse de rotation appropriée s'obtient en faisant décrire au centre du flacon un cercle de 5 cm de diamètre environ trois fois par s.
- Faire tomber la dernière goutte de solution d'antigène sans toucher le sérum physiologique avec la pointe de la pipette et poursuivre la rotation du flacon pendant 10 s.

- Ajouter 4,1 mL de sérum physiologique tamponné à l'aide d'une pipette de 5 mL. Ne pas déposer le sérum physiologique directement dans la suspension d'antigène ; le faire s'écouler le long de la paroi du flacon.
- Boucher le flacon et l'agiter en le retournant environ 30 fois en 10 sec. La suspension d'antigène est prête à l'emploi et doit être utilisée pendant la journée (8 h).
- Mélanger la suspension de VDRL Antigène en la faisant tourner doucement avant chaque utilisation. Ne pas mélanger la suspension par aspiration et dépose à la seringue munie d'une aiguille, car cela risque de provoquer la rupture des particules et une perte de réactivité.

Tester la précision de l'aiguille servant à déposer la suspension d'antigène pour le test serique

- La précision du test dépend de la quantité de suspension d'antigène utilisée. Contrôler périodiquement l'étalement de l'aiguille pour s'assurer que le volume de suspension de VDRL Antigène distribué est conforme.
- Pour effectuer des tests qualitatifs et quantitatifs sur le sérum, distribuer la suspension d'antigène avec une seringue munie d'une aiguille 18 G à pointe non biseautée pouvant distribuer 60 ± 2 gouttes de suspension d'antigène par mL en position verticale.
- Monter l'aiguille sur une seringue de 1 mL. Remplir la seringue avec 0,5 mL de suspension de VDRL Antigène. En tenant la seringue verticalement, compter le nombre de gouttes distribuées à partir de 0,5 mL. L'aiguille est étalonnée correctement lorsque 0,5 mL permettent de distribuer 30 ± 1 gouttes.
- Dans le cas contraire, remplacer l'aiguille. Etalonner l'aiguille neuve.

Test VDRL sur lame qualitatif sur le serum

- Les tests de flocculation sur lame pour le dépistage de la syphilis sont influencés par la température ambiante. Pour obtenir des résultats de test fiables et reproductibles, la suspension de VDRL Antigène, les contrôles et les échantillons à tester doivent se trouver à une température comprise entre 23 à 29 °C au moment des tests.
- Déposer 50 µL de sérum sur une lame à anneau de paraffine ou de céramique à l'aide d'un pipetteur étalonné. Ne pas utiliser de lame de verre présentant des concavités, puis ou anneaux de verre. Etaler le sérum d'un mouvement circulaire de l'extrémité de la pipette de sorte que le sérum couvre en totalité la surface interne de l'anneau de paraffine ou de céramique.
- Remettre en suspension délicatement la suspension de VDRL Antigène.
- Tenir verticalement la seringue munie d'une aiguille contenant la suspension de VDRL Antigène et distribuer plusieurs gouttes pour purger l'aiguille de l'air. Puis, ajouter exactement 1 goutte entièrement formée (17 µL) de suspension d'antigène à chaque cercle rempli de sérum. Ne pas toucher le sérum avec l'aiguille.
- Placer la lame sur l'agitateur rotatif mécanique. Faire tourner la lame pendant 4 min à 180 ± 2 tr/min. Si l'air ambiant est sec, couvrir les lames d'un couvercle d'humidification humide pendant la rotation pour éviter une évaporation excessive.
- Sortir la lame de l'agitateur rotatif dès la fin de l'agitation et lire les résultats du test au microscope optique avec un grossissement de 100x.

Test VDRL quantitatif sur le serum

- Pour doser des échantillons sériques par détermination du point de fin de titrage, préparer des dilutions sériques sur la lame au 1/1, 1/2, 1/4 et 1/8.
- Distribuer 50 µL de sérum physiologique à 0,9 % dans les cercles numérotés de 2 à 4. Ne pas étaler le sérum physiologique.
- Distribuer 50 µL de sérum dans le cercle 1 et 50 µL de sérum dans le cercle 2.
- Mélanger le sérum physiologique et le sérum dans le cercle 2 par aspiration et dépose à la pipette 8 fois de suite environ. Eviter de former des bulles.
- Transférer 50 µL du cercle 2 (1/2) dans le cercle 3 (1/4) et mélanger.
- Transférer 50 µL du cercle 3 (1/4) dans le cercle 4 (1/8), mélanger, puis jeter les 50 µL restants.
- Remettre en suspension délicatement la suspension d'antigène.
- Tenir à la verticale la seringue munie d'une aiguille contenant la suspension d'antigène et distribuer plusieurs gouttes pour purger l'aiguille de l'air. Puis, ajouter exactement 1 goutte entièrement formée (17 µL) de suspension d'antigène à chaque cercle.
- Placer la lame sur l'agitateur rotatif mécanique. Faire tourner la lame pendant 4 min à 180 ± 2 tr/min. Si l'air ambiant est sec, couvrir les lames d'un couvercle d'humidification humide pendant la rotation pour éviter une évaporation excessive.
- Dès la fin de l'agitation, lire les résultats du test au microscope optique avec un grossissement de 100x.
- Si la dilution la plus élevée testée (1/8) est réactive :
 - Préparer une dilution au 1/8 de l'échantillon testé en ajoutant 0,1 mL de sérum à 0,7 mL de sérum physiologique à 0,9 %.
Bien mélanger.
 - Déposer 50 µL de sérum physiologique à 0,9 % dans les second, troisième et quatrième anneaux de paraffine d'une rangée de la lame.
Préparer des dilutions sériées supplémentaires pour les échantillons fortement réactifs.
 - Déposer 50 µL de dilution au 1/8 de l'échantillon à tester dans les anneaux de paraffine 1 et 2.
 - Préparer des dilutions sériées au demi en commençant à l'anneau 2 et terminer le test comme décrit ci-dessus.

Contrôle de qualité par l'utilisateur de la suspension de VDRL Antigène

- Préparer une nouvelle suspension d'antigène chaque jour où le test est réalisé. Une fois préparée, la suspension doit être utilisée dans les 8 h.
- Conservé la suspension d'antigène préparée entre 23 et 29 °C.
- Tester la réactivité de la suspension d'antigène avec les sérums de contrôle (réactif, faiblement réactif et non réactif). Tester les dilutions sériques dans l'heure qui suit l'inactivation à la chaleur.
- N'utiliser la suspension d'antigène que si la réactivité attendue pour les sérums de contrôle (réactif, faiblement réactif et non réactif) est conforme aux résultats obtenus avec l'antigène de référence.

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives NCCLS et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

RESULTATS

Qualitatifs

- Lire et reporter les résultats comme suit :
Agrégats de taille moyenne à grande - Réactif (R)
Agrégats de petite taille - Faiblement réactif (WR)
ABSENCE d'agrégats ou très légères impuretés - Non réactif (NR)
- S'assurer que les sérums de contrôle donnent les résultats attendus (réactif, faiblement réactif et non réactif). Si les réactions ne sont pas conformes, le test n'est pas valide et les résultats ne doivent pas être pris en compte.
- Effectuer un test quantitatif jusqu'au point de fin de titrage sur tous les échantillons sériques réactifs, faiblement réactifs ou non réactifs (« estimés »).

Quantitatifs

Rapporter le titre comme la dilution la plus élevée donnant un résultat de test positif (et non un résultat faiblement positif). Par exemple :

Non dilué (1:1)	Dilutions sériques :					Rapport
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	
R	W	N	N	N	N	Réactif, non dilué
R	R	W	N	N	N	Réactif, dilution à 1/2
R	R	R	W	N	N	Réactif, dilution à 1/4
W	W	R	R	W	N	Réactif, dilution à 1/8
N (estimé)	W	R	R	R	N	Réactif, dilution à 1/16
W	N	N	N	N	N	Faiblement positif, non dilué

Si la dilution au 1/32 est réactive, diluer plus encore par dilution sériée au demi avec du sérum physiologique à 0,9 % (1/64, 1/128 et 1/256) et tester de nouveau selon la méthode d'analyse quantitative.

Interpretation

- Les résultats du test VDRL sur le sérum doivent être confirmés par un test tréponémique.
- Le diagnostic de syphilis dépend des résultats du test VDRL, du test de confirmation tréponémique, des signes et des symptômes cliniques, ainsi que des facteurs de risque.
- Un test VDRL positif (sérum réactif) peut indiquer une infection passée ou présente par un tréponème pathogène. Cependant, il peut s'agir d'un faux positif. Un faux positif est révélé par un test de confirmation tréponémique négatif.
- Un test VDRL négatif (sérum non réactif) associé à un tableau clinique de syphilis peut indiquer une syphilis primaire précoce, un effet prozone d'une syphilis en phase secondaire ou une syphilis tardive.
- Un test VDRL négatif sans tableau clinique évocateur de syphilis indique une absence d'infection ou une infection traitée avec succès.
- Un test VDRL quantitatif est sensible aux variations de titre de réagine. Par conséquent, un titre sérique multiplié par quatre peut indiquer une infection, une réinfection ou l'échec d'un traitement. De même, un titre sérique divisé par quatre en cours de traitement indique un traitement adéquat de la syphilis.

Test VDRL sur liquide céphalorachidien

Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur la méthode de test VDRL sur le liquide céphalorachidien.¹

LIMITES DE LA PROCEDURE

Un effet prozone peut expliquer la non réactivité d'un sérum non dilué. L'effet prozone aboutit souvent à des résultats faiblement positifs (sérum faiblement réactif) ou négatifs « estimés ». Par conséquent, les échantillons qui présentent de tels résultats doivent être analysés quantitativement.

Des faux positifs peuvent être obtenus avec des tests non tréponémiques chez les toxicomanes et en cas de lupus érythémateux, mononucléose, malaria, lèpre ou pneumonie virale, ou chez les individus récemment vaccinés.

Des réactions croisées sont possibles avec d'autres infections tréponémiques, comme le pian, la caraté, le bejel ou le siti.

Lors de la production, le VDRL Antigène avec sérum physiologique tamponné est testé uniquement sur du sérum. Consulter les publications citées en référence pour adapter les produits et les méthodes de test du sérum au test du LCR.¹ L'utilisateur assume la responsabilité des modifications apportées aux produits et aux méthodes et des procédures de contrôle de qualité nécessaires.

La sensibilité du test décroît si la température de la zone de test, des échantillons ou des réactifs est inférieure à 23 °C ; si la température est supérieure à 29 °C, la sensibilité du test est accrue.¹

Les résultats du test sont imprévisibles avec des échantillons hémolysés, contaminés ou présentant une turbidité très importante. Le plasma n'est pas un échantillon acceptable.

Pour garantir des résultats de test corrects, respecter scrupuleusement la vitesse et la durée de rotation des échantillons et de l'antigène.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES^{15,16}

Les performances du test sur lame VDRL ont été comparées à celles de deux tests à la réagine plasmatique rapide (RPR) sur carte et du test FTA-ABS d'immunofluorescence absorbée du tréponème dans une étude du diagnostic de la syphilis menée par Perryman, Larsen, Hamble, Pettit, Mullally et Whittington.¹⁵ Des échantillons sériques frais obtenus auprès de 505 individus ont été testés selon ces quatre méthodes de test.

Parmi les 505 échantillons sériques frais, 57 sérums étaient réactifs avec au moins l'un des tests non tréponémiques. Les trois sérums donnant des résultats de test FTA-ABS limites n'ont pas été pris en compte dans le tableau. Le tableau 1 récapitule la distribution des sérums réactifs entre les trois tests non tréponémiques et le test FTA-ABS.¹⁵

Tableau 1

Profil de réactivité des tests non tréponémiques ^a			Nombre de sérums ayant ce profil	Nombre de sérums ayant la réactivité indiquée avec le test FTA-ABS ^a		
Test sur carte RPR		Lame VDRL		R	B	N
Test RPR n° 1	Test RPR standard n° 2					
R	R	R	43	38	2	3
N	R	R	1	1		
N	N	R	4	2		2
N	R	N	1	1		
R	R	N	5	5		
R	N	N	1	1		
R	N	R	2	1	1	

^aR, réactif ; B, limite ; N, non réactif

Le tableau 2 récapitule les diagnostics associés aux tests non tréponémiques réactifs.¹⁵

Tableau 2

Stade de la syphilis	Nombre de sérums ayant la réactivité indiquée avec le test suivant ^a									
	Test sur carte RPR				Test sur lame VDRL			Test FTA-ABS		
	Test n° 1		Test standard n° 2		R	W	N	R	B	N
	R	N	R	N						
Primaire										
Non traitée	5	1	6		4	2		6		
Traitée	7	1	7	1	5	1	2	8		
Secondaire										
Non traitée	6		6		6			6		
Traitée	5		5		5			5		
Latente										
Non traitée	9		8	1	8		1	8	1	
Traitée	15	1	15	1	10	3	3	14		2
Antécédents de syphilis										
	1	1	1	1		2		2		
Autres MST										
	3	2	2	3	3	2			2	3

^aR, réactif ; N, non réactif ; W, faiblement réactif (considéré réactif dans le tableau) ; B, limite

La sensibilité des trois tests non tréponémiques, calculée d'après les 21 cas de syphilis non traitée, était de 95,2 % (résultats concordants pour 20 tests sur 21). La sensibilité du test sur lame VDRL, calculé d'après les tests réalisés sur le sérum de 31 patients syphilitiques traités, était de 83,9 % (résultats concordants pour 26 tests sur 31). La sensibilité globale (syphilis non traitée et traitée) était de 88,5 % pour le test sur lame VDRL, contre 92,3 % pour les deux tests sur carte RPR.

La spécificité des trois tests non tréponémiques calculée d'après les 453 sérums recueillis sur des patients présumés non syphilitiques était de 99,3 % pour le test RPR no 1, 99,6 % pour le test RPR standard n° 2 et 98,9 % pour le test sur lame VDRL.¹⁵

Dans une autre étude réalisée Pope, Hunter et Feeley¹⁶ au centre épidémiologique d'Atlanta aux Etats-Unis, 297 sérums ont été testés par méthode immunoenzymatique ELISA, test VDRL sur lame, test FTA-ABS et test de micro-hémagglutination des anticorps spécifiques de *T. pallidum* (MHA-TP). Le tableau 3 ci-dessous récapitule les sensibilités et spécificités de chacune des méthodes publiées dans cette étude.¹⁶

Tableau 3

Test	Sensibilité	Spécificité
ELISA	89.3%	98.5%
VDRL	93.3%	92.7%
FTA-ABS	100 %	97.8%
MHA-TP	76 %	98.2%

CONDITIONNEMENT

N° ref.	Description
240764	VDRL Antigen avec sérum physiologique tamponné ; 1 ampoule de 5 mL et 60 mL de sérum physiologique
240765	VDRL Antigen avec sérum physiologique tamponné ; 10 ampoules de 0,5 mL et 60 mL de sérum physiologique
235201	VDRL Test Control Serum Set, 1 jeu de 3 flacons : Nontreponemal Antigen Reactive Serum, un flacon de 3 mL VDRL Weakly Reactive Serum, un flacon de 3 mL Nontreponemal Antigen Nonreactive Serum, un flacon de 3 mL

REFERENCES : voir la rubrique "References" du texte anglais.

BD VDRL-Antigen mit Puffer-Kochsalzlösung VDRL Test Control Serum Set

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

VDRL Antigen mit Puffer-Kochsalzlösung wird empfohlen zur Verwendung beim VDRL-Test (Venereal Disease Research Laboratory Test)¹ zum Nachweis von Reagin (einer antikörperähnliche Substanz) mittels qualitativer und quantitativer Objektträger-Flockungstests.

Der VDRL Test Control Serum Set (VDRL-Test-Kontrollserum-Satz) wird für die Verwendung bei der VDRL Antigen-Qualitätskontrolle mittels Objektträger-Flockungstest empfohlen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Treponema pallidum ist der Erreger von Syphilis. Syphilis ist eine chronische Infektionskrankheit mit zahlreichen klinischen Manifestationen, die in verschiedenen Stadien auftreten. Für den Nachweis der Erkrankung in den einzelnen Stadien werden spezifische Labortests empfohlen.²⁻⁴

VDRL Antigen ist ein Nicht-Treponema-Antigen und besteht aus Cardioliolipin, Cholesterin und Lecithin. Nicht-Treponema-Tests dienen zur Messung von Anti-Lipid-Antikörpern, die der Wirt zu Beginn einer *T. pallidum*-Infektion als Reaktion auf die Lipidfreisetzung aus geschädigten Wirtszellen sowie auf von der Treponemen-Zelloberfläche stammendes lipidähnliches Material bildet.⁵ Bei einer Syphilis-Infektion ist im Serum des Patienten eine als Reagin bezeichnete antikörperähnliche Substanz nachweisbar. Bei Neurosyphilis ist Reagin im Liquor nachweisbar.

Reaktive Nicht-Treponema-Tests bestätigen die Diagnose bei Vorliegen einer Frühsyphilis oder Spätsyphilis mit Läsionen. Sie liefern einen Hinweis bei subklinischer latenter Syphilis und sind wirksame Hilfsmittel für den Fallnachweis im Rahmen epidemiologischer Untersuchungen. Im Hinblick auf die Beobachtung des Ansprechens der Therapie sind Nicht-Treponema-Tests den Treponema-Tests überlegen.³

Nicht-Treponema-Antigentests sind nicht vollkommen syphilis-spezifisch und zeigen auch nicht in allen Stadien der Syphilis eine zufriedenstellende Empfindlichkeit. Wenn die Ergebnisse eines Nicht-Treponema-Antigentests nicht mit dem klinischen Erscheinungsbild übereinstimmen, ist ein Treponema-Antigentest, wie bspw. der FTA-ABS-Test,^{2,3} durchzuführen. Nicht-Treponema-Tests, wie bspw. der VDRL-Test, werden für das Screening von Patientenseren eingesetzt, während Treponema-Tests, wie der FTA-ABS-Test, zur Bestätigung herangezogen werden. Die Wahrscheinlichkeit eines reaktiven VDRL-Testergebnisses in den verschiedenen Stadien einer unbehandelten Syphilis wird folgendermaßen angegeben:³

Stadien der unbehandelten Syphilis	Reaktiver VDRL-Test (%)
Primärstadium	78
Sekundärstadium	100
Latenzphase	96
Spätsyphilis	71

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Beim VDRL-Test wird das Patientenserum durch Wärmeeinwirkung inaktiviert und mit einer VDRL Antigen-Puffer-Kochsalzlösungssuspension vermischt, die Cardioliolipin, Lecithin und Cholesterin enthält. Beim Kombinieren von Reagin und VDRL Antigen bilden sich mikroskopische Klümpchen, was als Flockenbildung bezeichnet wird. In abgewandelter Form kann das Serumverfahren auch für das Testen von Liquor angewandt werden.¹

REAGENZILIEN

VDRL Antigen besteht aus 0,03 % Cardioliolipin und 0,9 % Cholesterin, in absolutem Alkohol gelöst, mit einer ausreichenden Menge Lecithin (ca. 0,18 - 0,20 %) zur Erzielung einer standardmäßigen Reaktivität. Seine Herstellung erfolgt unter Abwandlung der Anweisungen von Harris, Rosenberg und Riedel.⁶ Cardioliolipin und Lecithin werden gemäß den Anweisungen von Pangborn hergestellt.^{7,8,9}

VDRL Puffer-Kochsalzlösung ist eine 1%ige Natriumchlorid-Lösung (pH 6,0 ± 0,1) mit 0,5 % Formaldehyd als Konservierungsmittel.

Nontreponemal Antigen Reactive Serum (auf Nicht-Treponema-Antigen reaktives Serum) ist ein lyophilisiertes Humanserum mit 0,02 % Thimerosal als Konservierungsmittel und erbringt auf Grund seiner Standardisierung beim Testen mit dem USR- oder VDRL-Testverfahren ein reaktives Ergebnis.

VDRL Weakly Reactive Serum (bei VDRL schwach reaktives Serum) ist ein lyophilisiertes Humanserum mit 0,02 % Thimerosal als Konservierungsmittel und erbringt auf Grund seiner Standardisierung beim Testen mit dem USR- oder VDRL-Testverfahren ein schwach reaktives Ergebnis.

Nontreponemal Antigen Nonreactive Serum (auf Nicht-Treponema-Antigen nicht reaktives Serum) ist ein lyophilisiertes Humanserum mit 0,02 % Thimerosal als Konservierungsmittel und erbringt auf Grund seiner Standardisierung beim Testen mit dem USR- oder VDRL-Testverfahren ein nicht reaktives Ergebnis.

Sicherheitshinweise:

- In-vitro*-Diagnostikum.
- WARNUNG: POTENZIELL BIOGEFÄHRLICHE REAGENZILIEN.** Alle zur Herstellung des VDRL Test Control Serum Set herangezogenen Spenderseinheiten wurden mit einer von der US-amerikanischen Gesundheitsbehörde FDA zugelassenen Methode auf das Vorliegen von Antikörpern gegen das HI-Virus (HIV) und das Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HsAg) getestet und für negativ befunden (nicht wiederholt reaktiv). Da keine Testmethode das Vorliegen von HIV, Hepatitis-B-Virus oder anderer infektiöser Substanzen vollständig ausschließen kann, sind diese Reagenzien gemäß den Auflagen der Biosicherheitsstufe 2 (Biosafety Level 2) zu handhaben, wie sie in der folgenden Veröffentlichung der US-amerikanischen Gesundheitsbehörden für alle potenziell infektiösen Humansenen oder -blutproben empfohlen werden: Centers for Disease Control/National Institutes of Health Manual *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 1999.
- Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z.B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die "Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen"¹⁰⁻¹³ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten.
- VDRL Antigen HOCHENTZÜNDLICH. REIZT DIE AUGEN, ATMUNGSORGANE UND DIE HAUT. (USA) IRREVERSIBLER SCHADEN MÖGLICH. (USA) KANN DAS KIND IM MUTTERLEIB MÖGLICHERWEISE SCHÄDIGEN. (USA) ZIELORGANE: Blut, Eingeweide, Leber, Muskeln, Nerven.

Berührung mit Haut und Augen vermeiden. Sprühnebel nicht einatmen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen.

- VDRL Test Control Serum Set
Dieses Produkt enthält Naturkautschuk (getrocknet).

Aufbewahrung:

VDRL Antigen bei Raumtemperatur (15 - 30 °C) im Dunkeln lagern.

VDRL Buffered Saline bei 15 - 30 °C lagern. Nach dem Anbruch der Flasche bei 2 - 8 °C lagern.

Lyophilisierte Kontrollserien im VDRL Test Control Serum Set bei 2 - 8 °C lagern.

Die Kontrollserien nach dem Rehydrieren bei 2 - 8 °C lagern, sofern der Inhalt innerhalb eines Tages aufgebraucht wird. Andernfalls können die Kontrollserien auch in ausreichend große Teilmengen für jeweils einen Testtag aufgeteilt und bei ≤ -20 °C gelagert werden.

Die Reagenzien bei Anzeichen von Kontamination, Verdunstung, Niederschlag oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

PROBENTNAHME UND -VORBEREITUNG

- Mit aseptischer Venenpunktionstechnik 5 - 8 mL Blut in ein sauberes, trockenes Röhrchen ohne Antikoagulans entnehmen.
- Das Blut bei Raumtemperatur gerinnen lassen und zur Serumgewinnung zentrifugieren.
- Serumproben können bei Raumtemperatur bis zu 4 h lang gelagert werden. Nach Ablauf von 4 h bei 2 - 8 °C lagern. Serumproben können bis zu 5 Tage lang gekühlt und anschließend bei < -20 °C gefroren gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben vermeiden.
- Serumproben müssen klar und hämolysefrei sein und dürfen keine sichtbaren Anzeichen von Bakterienkontamination, wie Trübung, Hämolyse oder Partikel, aufweisen. Weitere Informationen zur Probenentnahme sind der einschlägigen Literatur zu entnehmen.^{1,3,14}
- Die Testseren vor der Testdurchführung 30 min lang bei 56 °C erwärmen. Proben, die nicht innerhalb von 4 h getestet werden, sind 10 min lang bei 56 °C aufzuwärmen.
- Bei der Testdurchführung müssen die Proben eine Temperatur von 23 - 29 °C haben.

VERFAHREN

Mitgelieferte Materialien: VDRL Antigen mit Puffer-Kochsalzlösung, VDRL Test Control Serum Set.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial:

0,9 % Kochsalzlösung

Wiederverwendbare Spritze (1 mL)

Wiederverwendbare kalibrierte Kanülen ohne Ansträgung:

Serumtest: 18 G

Liquortest: 21 oder 22 G

Flaschen (30 mL), rund, mit enger Öffnung, 35 mm Durchmesser, mit Glasstopfen und flacher innerer Bodenfläche.

HINWEIS: Sollten keine 30-mL-Flaschen verfügbar sein, können stattdessen auch gut gereinigte, mit Glasstopfen versehene 25-mL-Erlenmeyerkolben verwendet werden.

Mikropipette (50 µL)

bis zur Spitze skalierte Serologiepipetten:

1,0 mL mit 1/100-mL-Skalierung;

5,0 mL mit 1/10-mL-Skalierung;

10,0 mL mit 1/10-mL-Skalierung;

Objektträger:

Serumtest: 50,8 mm x 76,2 mm, mit Paraffin- oder Keramikringen von ca. 14 mm Durchmesser und ausreichender Höhe zur Verhütung von Flüssigkeitsaustritt während des Rotierens beim Liquortest: Kline-Objektträger mit Kavitäten, 76,2 mm x 50,8 mm x 3 mm Dicke, 12 Kavitäten (16 mm Durchmesser und 1,75 mm Tiefe).

Objektträger-Halter für Objektträger von 50,8 x 101,6 mm.

Auf 180 ± 2 U/min einstellbarer mechanischer Rotationsarm, der einen horizontalen Kreis von 19 mm Durchmesser beschreibt.

Wasserbad (56 °C)

Lichtmikroskop mit 10x-Okular und 10x-Objektiv

Steriles destilliertes oder deionisiertes Wasser

Absoluter Alkohol

Aceton

Zeitgeber

Vorbereitung der Reagenzien

- Zum Rehydrieren der Kontrollserien im VDRL Test Control Serum Set 3 mL steriles destilliertes Wasser zugeben und behutsam rotieren, bis der Inhalt vollständig gelöst ist.
- VDRL Antigen und VDRL Buffered Saline sind unmittelbar für die Herstellung von VDRL Antigen-Suspension gebrauchsfertig.

Vorbereitung spezifischer Glasutensilien

Spritzen mit Kanülen und Suspensionsflaschen folgendermaßen von Hand waschen:

- Mit Leitungswasser spülen.
- In einer Reinigungslösung für Glasutensilien einweichen und gründlich waschen.
- Mit Leitungswasser 6 - 8 Mal spülen.
- Mit frischem destilliertem oder deionisiertem Wasser spülen.
- Mit absolutem Alkohol spülen.
- Mit Azeton spülen.
- An der Luft trocknen lassen, bis der Azetongeruch vollständig verschwunden ist.
- Vor dem Verwenden die Kanülen von den Spritzen entfernen.

Objektträger mit Keramikringen:

- Mit Leitungswasser spülen.
- Mit einer Reinigungslösung für Glasutensilien waschen.
- Mit Leitungswasser 3 - 4 Mal spülen.
- Mit frischem destilliertem oder deionisiertem Wasser spülen.
- Mit einem fusselfreien Tuch abtrocknen. Lässt sich das Serum auf einem gereinigten Objektträger nicht gleichmäßig im Inneren des Kreises verteilen, wie im Folgenden beschrieben vorgehen.
- Objektträger mit einem nicht scheuernden Reinigungsmittel schrubben.
- Abspülen und mit einem sauberen fusselfreien Tuch abtrocknen und polieren.

Objektträger mit Keramikringen nicht längere Zeit in der Reinigungslösung einweichen, da dies zum Brüchigwerden und Abspalten der Keramikringe führt.

Testverfahren

Herstellung der AntigenSuspension

Vor dem Herstellen der VDRL Antigen-Suspension den pH-Wert der VDRL Buffered Saline prüfen. Bei pH-Werten außerhalb des Bereichs von 6,0 ± 0,1 entsorgen.

VDRL Antigen und VDRL Buffered Saline vor dem Herstellen der VDRL Antigen-Suspension 23 - 29 °C erreichen lassen.

Nur Suspensionsflaschen mit flacher innerer Bodenfläche verwenden, damit die anfängliche VDRL Buffered Saline den Flascheninnenboden gleichmäßig bedecken kann. Sollte die VDRL Buffered Saline Perlen bilden oder den Flaschenboden nicht gleichmäßig bedecken, die Flasche erneut waschen, wie oben beschrieben. (Siehe den obigen HINWEIS bezüglich der Verwendung von 25-mL-Kolben mit Glasstopfen.)

Zur Erzielung reproduzierbarer Ergebnisse muss die VDRL Antigen-Suspension täglich im Hinblick auf einwandfreie Reaktivität mit dem VDRL Test Control Serum Set geprüft werden. Es sollten ausschließlich VDRL-Suspensionen verwendet werden, welche die festgelegten Kontrollserum-Reaktivitätsmuster erbringen.

- Die VDRL Antigen-Suspension an jedem Testtag frisch herstellen. Die Temperatur von Puffer-Kochsalzlösung, Antigen und Gerätschaften sollte zum Zeitpunkt der Herstellung der Antigen suspension zwischen 23 und 29 °C betragen.
- Auf den Boden einer runden 30-mL-Flasche mit Glasstopfen und flacher innerer Bodenfläche 0,4 mL VDRL Buffered Saline pipettieren. Die Flasche behutsam kippen, so dass die VDRL Buffered Saline die gesamte innere Bodenfläche der Flasche bedeckt.
- Unter ständigem, jedoch behutsamem Drehen der Flasche auf einer ebenen Fläche aus der unteren Hälfte einer bis zur Spitze skalierten 1,0-mL-Pipette 0,5 mL VDRL Antigen direkt in die Kochsalzlösung geben. Das Antigen tropfenweise zugeben (mit einer Rate von ca. 0,5 mL Antigen pro 6 sec). Die Pipettenspitze im oberen Flaschendrittel halten. Keine Kochsalzlösung auf die Pipette spritzen. Die korrekte Rotationsgeschwindigkeit ist dann erreicht, wenn der Flaschenmittelpunkt ca. 3 Mal pro sec einen Kreis von 5 cm Durchmesser beschreibt.
- Den letzten Tropfen Antigen aus der Pipette abgeben, ohne die Kochsalzlösung mit der Pipette zu berühren, und die Flasche weitere 10 sec lang rotieren.
- Aus einer 5-mL-Pipette 4,1 mL Puffer-Kochsalzlösung hinzugeben. Die Kochsalzlösung nicht direkt auf das Antigen tropfen lassen, sondern an den Seiten der Flasche herunterfließen lassen.
- Die Flasche verschließen und ca. 30 Mal in 10 sec von oben nach unten schütteln. Damit ist die Antigen suspension gebrauchsfertig und für diesen Tag (8 h) einsatzbereit.
- Die VDRL Antigen-Suspension bei jeder Verwendung durch behutsames Schwenken mischen. Die Suspension nicht durch Aufnehmen und Abgeben mit Spritze und Kanüle mischen, da dies zum Zerfall von Partikeln und zu Reaktivitätsverlusten führen kann.

Prüfung der Genauigkeit der AntigenSuspensionskanüle für den SerumTest

- Die Genauigkeit des Tests ist abhängig von der verwendeten Menge Antigen suspension. Die Kalibrierung der Kanüle ist in regelmäßigen Abständen zu überprüfen, um sicherzustellen, dass das korrekte Volumen an VDRL Antigen-Suspension abgegeben wird.
- Für qualitative und quantitative Serumtests die Antigen suspension aus einer Spritze mit 18-G-Kanüle ohne Ansträgung abgeben, die 60 ± 2 Tropfen Antigen suspension pro mL dispensiert, wenn sie senkrecht gehalten wird.
- Die Kanüle an einer 1-mL-Spritze montieren. Die Spritze mit VDRL Antigen-Suspension füllen. Die Spritze senkrecht halten und die Anzahl der abgegebenen Tropfen in 0,5 mL zählen. Die Kanüle ist dann korrekt kalibriert, wenn 0,5 mL in 30 ± 1 Tropfen abgegeben werden.
- Die Kanüle ersetzen, falls diese Spezifikation nicht eingehalten wird. Die Kalibrierung für die neue Kanüle wiederholen.

Qualitativer VDRL-Objektträger-Serumtest

- Objektträger-Flockungstests auf Syphilis werden von der Raumtemperatur beeinflusst. Zur Erzielung zuverlässiger und reproduzierbarer Testergebnisse müssen die VDRL Antigen-Suspensionen, Kontrollen und Testproben bei der Testdurchführung Raumtemperatur (23 - 29 °C) aufweisen.
- Unter Zuhilfenahme einer Sicherheitspipette 50 µL Serum in einen Ring eines Objektträgers mit Paraffin- oder Keramikringen pipettieren. Keine gläsernen Objektträger mit Kavitäten, Vertiefungen oder Glasringen verwenden. Das Serum mit einer kreisförmigen Bewegung der Pipettenspitze verteilen, so dass das Serum die gesamte Innenfläche des Paraffin- oder Keramikrings bedeckt.
- Die VDRL Antigen-Suspension behutsam erneut suspendieren.
- Die Spritze und Kanüle mit der VDRL Antigen-Suspension senkrecht halten und mehrere Tropfen abgeben, um die Luft aus der Kanüle zu entfernen. Anschließend exakt 1 frei fallenden Tropfen (17 µL) Antigen suspension in jeden Kreis mit Serum hinzugeben. Die Kanüle darf das Serum nicht berühren.
- Den Objektträger auf dem mechanischen Rotationsarm platzieren. Den Objektträger 4 min lang bei 180 ± 2 U/min rotieren lassen. Wird dieser Test in trockenem Klima durchgeführt, die Objektträger während des Rotierens mit einer feuchten und feuchtigkeitspendenden Abdeckung versehen, um übermäßiges Verdunsten zu vermeiden.
- Den Objektträger unmittelbar nach dem Rotieren vom Rotationsarm nehmen, und die Testergebnisse bei 100facher Vergrößerung mikroskopisch ablesen.

Quantitativer VDRL-Serumtest

- Zur quantitativen Bestimmung eines Endtiters für Serumproben auf dem Objektträger Serumverdünnungen von 1:1, 1:2, 1:4 und 1:8 herstellen.
- In die Kreise Nr. 2 - 4 jeweils 50 µL 0,9%ige Kochsalzlösung abgeben. Die Kochsalzlösung nicht verteilen.
- In Kreis Nr. 1 50 µL Serum geben, und in Kreis Nr. 2 50 µL Serum geben.

- Die Kochsalzlösung und das Serum in Kreis Nr. 2 vermischen; dazu das Gemisch ca. 8 Mal mit der Pipette aufnehmen und wieder abgeben. Blasenbildung vermeiden.
- Aus Kreis Nr. 2 (1:2) 50 µL in Kreis Nr. 3 (1:4) transferieren und mischen.
- Aus Kreis Nr. 3 (1:4) 50 µL in Kreis Nr. 4 (1:8) transferieren, vermischen, und anschließend die letzten 50 µL entsorgen.
- Die Antigen suspension behutsam erneut suspendieren.
- Die Spritze und Kanüle mit der Antigen-Suspension senkrecht halten und mehrere Tropfen abgeben, um die Luft aus der Kanüle zu entfernen. Anschließend exakt 1 frei fallenden Tropfen (17 µL) Antigen suspension in jeden Kreis hinzugeben.
- Den Objektträger auf dem mechanischen Rotationsarm platzieren. Den Objektträger 4 min lang bei 180 ± 2 U/min rotieren lassen. Wird dieser Test in trockenem Klima durchgeführt, den Objektträger während des Rotierens mit einer feuchten und feuchtigkeitsspendenden Abdeckung versehen, um übermäßiges Verdunsten zu vermeiden.
- Unmittelbar nach dem Rotieren die Testergebnisse bei 100facher Vergrößerung mikroskopisch ablesen.
- Ist die stärkste getestete Verdünnung (1:8) reaktiv:
 - Eine 1:8-Verdünnung der Testprobe herstellen; dazu 0,1 mL Serum zu 0,7 mL 0,9%iger Kochsalzlösung geben. Gut durchmischen.
 - In den zweiten, dritten und vierten aufeinander folgenden Paraffinring des Objektträgers 50 µL 0,9%ige Kochsalzlösung geben. Für stark reaktive Proben zusätzliche Reihenverdünnungen herstellen.
 - In die Paraffinringe Nr. 1 und 2 jeweils 50 µL der im Verhältnis 1:8 verdünnten Testprobe geben.
 - Beginnend mit Ring Nr. 2 doppelte Reihenverdünnungen herstellen, und den oben beschriebenen Test durchführen.

Qualitätskontrolle Durch den Anwender - VDRL Antigen-Suspension

- Die Antigen suspension an jedem Testtag frisch herstellen. Nach der Zubereitung innerhalb von 8 h verbrauchen.
- Die zubereitete Antigen suspension bei 23 - 29 °C lagern.
- Die Reaktivität der Antigen suspension mit Kontrollseren prüfen (reaktiv, schwach reaktiv und nicht reaktiv). Serumverdünnungen innerhalb von 1 h nach Wärmeinaktivierung testen.
- Die Antigen suspension nur dann verwenden, wenn sie die erwartete Reaktivität mit den Kontrollseren zeigt (reaktiv, schwach reaktiv und nicht reaktiv), vergleichbar den mit dem Referenz-Antigen erzielten Ergebnissen.

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Benutzer sollten die relevanten NCCLS-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

ERGEBNISSE

Qualitatives Verfahren

- Die Ergebnisse werden folgendermaßen abgelesen und dokumentiert:
Mittelgroße bis große Klümpchen - reaktiv (R)
Kleine Klümpchen - schwach reaktiv (SR)
KEINE Klümpchen oder sehr geringfügig grobe Beschaffenheit - nicht reaktiv (NR)
- Sicherstellen, dass die Kontrollserenergebnisse erwartungsgemäß ausfallen (reaktiv, schwach reaktiv, nicht reaktiv). Fallen die Reaktionen nicht erwartungsgemäß aus, ist der Test ungültig und die Ergebnisse sind nicht berichtbar.
- Für alle Serumproben, die beim qualitativen Objektträger-Test die Ergebnisse "reaktiv", "schwach reaktiv" oder "grob" (nicht reaktiv) zeigen, einen quantitativen Endpunkt-Test durchführen.

Quantitatives Verfahren

Den Titer als die höchste Verdünnung berichten, die ein reaktives (und kein schwach reaktives) Ergebnis ergibt. Beispiel:

Serumverdünnungen						Bericht
Unverdünt (1:1)	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	
R	SR	N	N	N	N	Reaktiv, unverdünnt
R	R	SR	N	N	N	Reaktiv, 1:2-Verdünnung
R	R	R	SR	N	N	Reaktiv, 1:4-Verdünnung
SR	SR	R	R	SR	N	Reaktiv, 1:8-Verdünnung
N (grob)	SR	R	R	R	N	Reaktiv, 1:16-Verdünnung
SR	N	N	N	N	N	Schwach reaktiv, unverdünnt

Ergibt die 1:32-Verdünnung reaktive Ergebnisse, weitere doppelte Reihenverdünnungen in 0,9%iger Kochsalzlösung herstellen (1:64, 1:128 und 1:256) und unter Anwendung des quantitativen Testverfahrens erneut testen.

Interpretation

- Die Ergebnisse des VDRL-Serumtests sind mittels eines Treponema-Tests zu bestätigen.
- Die Diagnostizierung von Syphilis ist abhängig von den Ergebnissen des VDRL-Tests und eines Treponema-Bestätigungstests, klinischen Anzeichen und Symptomen und Risikofaktoren.
- Ein reaktiver VDRL-Test kann auf eine frühere oder aktuelle Infektion mit einem Treponem-Erreger hindeuten. Es kann sich jedoch auch um eine falsch positive Reaktion handeln. Von einem falsch positiven Ergebnis ist dann auszugehen, wenn der Treponema-Bestätigungstest negativ ausfällt.
- Ein nicht reaktiver VDRL-Test bei klinischen Anzeichen von Syphilis kann eine Früh syphilis im Primärstadium anzeigen, eine Prozone Reaktion im Syphilis-Sekundärstadium oder eine Spätsyphilis.
- Ein nicht reaktiver VDRL-Test ohne klinische Anzeichen von Syphilis bedeutet, dass keine aktuelle Infektion vorliegt oder aber eine wirksam behandelte Infektion.
- Ein quantitativer VDRL-Test dient zur Feststellung von Reagin-Titerveränderungen. Daher kann eine Serumprobe, welche bei Wiederholungsproben einen vierfachen Titeranstieg zeigt, auf eine Infektion, eine erneute Infektion oder ein Fehlschlagen der Therapie hindeuten. Desgleichen deutet eine vierfache Abnahme im Verlauf der Therapie auf die Angemessenheit der Syphilis-Therapie hin.

VDRL-LiquorTest

Bezüglich des Vorgehens beim Testen von Liquorproben mit dem VDRL-Test bitte die entsprechende Fachliteratur einsehen.¹

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Es kann zu einer Prozone Reaktion kommen, bei der die Reaktivität unverdünnten Serums gehemmt ist. Das Prozonephänomen führt beim qualitativen Testverfahren häufig zum Ergebnis „schwach reaktiv“ oder „grob“. Daher sind alle Proben mit derartigen Ergebnissen mit dem quantitativen Test zu untersuchen.

Zu falsch positiven biologischen Reaktionen kann es kommen, wenn Nicht-Treponema-Tests bei Personen durchgeführt werden, die Substanzen missbrauchen, an Erkrankungen wie Lupus erythematodes, Mononukleose, Malaria, Lepra oder Virus Pneumonie leiden oder unlängst geimpft wurden.¹

Es kann zu Kreuzreaktionen mit anderen Treponemen-Infektionen, wie Frambösie, Pinta, Bejel oder Siti (Ghana, Gambia), kommen.

Bei der Produktion wird VDRL Antigen mit Puffer-Kochsalzlösung nur mit Serum getestet. Bezüglich Abwandlungen der Serumtestprodukte und Liquor-Testverfahren die entsprechende Fachliteratur einsehen.¹ Der Anwender trägt die Verantwortung hinsichtlich Abwandlungen der Produkte und Verfahren sowie für die erforderlichen Qualitätskontrollstandards.

Beträgt die Temperatur von Testumfeld, Proben oder Reagenzien weniger als 23 °C, ist die Reaktivität des Tests reduziert; beträgt die Temperatur mehr als 29 °C, ist die Reaktivität des Tests erhöht.¹

Werden hämolytische, kontaminierte oder extrem getrübbte Serumproben getestet, sind die Ergebnisse unvorhersehbar. Plasma eignet sich nicht als Probe.

Die Erzielung korrekter Testergebnisse erfordert die strikte Einhaltung der korrekten Geschwindigkeit und Zeitdauer beim Rotieren von Proben und Antigen.

LEISTUNGSMERKMALE^{15,16}

Im Rahmen einer Studie von Perryman, Larsen, Hambie, Pettit, Mullally und Whittington wurde die Leistung des VDRL-Objektträger tests mit der zweier RPR-Kartentests (RPR = Rapid Plasma Reagin) und der eines Fluoreszenz-Treponema-Antikörper-Absorptionstests (FTA-ABS-Test) für die Diagnostizierung von Syphilis verglichen.¹⁵ Mit diesen vier Testverfahren wurden frische Serumproben von 505 Personen getestet.

Von den 505 frischen Serumproben erwiesen sich 57 Seren bei mindestens einem der Nicht-Treponema-Tests als reaktiv. Die drei Seren mit grenzwertigen FTA-ABS-Testergebnissen gingen nicht in die Aufstellung ein. Tabelle 1 enthält die Verteilung der reaktiven Seren auf die drei Nicht-Treponema-Tests und den FTA-ABS-Test.¹⁵

Tabelle 1

Reaktivitätsmuster der Nicht-Treponema-Tests			Anzahl der Seren mit Muster	Anzahl der Seren mit folgendem Ergebnis beim FTA-ABS-Test ^a		
RPR-Kartentest		VDRL-Objektträger		R	B	N
RPR-Test Nr. 1	Standard-mäßiger RPR-Test Nr. 2					
R	R	R	43	38	2	3
N	R	R	1	1		
N	N	R	4	2		2
N	R	N	1	1		
R	R	N	5	5		
R	N	N	1	1		
R	N	R	2	1	1	

^aR = reaktiv; G = grenzwertig; N = nicht reaktiv

Tabelle 2 enthält die mit reaktiven Nicht-Treponema-Tests assoziierten Diagnosen.¹⁵

Tabelle 2

Stadium der Syphilis	Anzahl der Seren mit angegebener Reaktion bei folgendem Test ^a									
	RPR-Kartentest				VDRL-Objektträger test			FTA-ABS-Test		
	Test Nr. 1		Standard-Test Nr. 2							
	R	N	R	N	R	S	N	R	B	N
Primärstadium										
Unbehandelt	5	1	6		4	2		6		
Behandelt	7	1	7	1	5	1	2	8		
Sekundär-stadium										
Unbehandelt	6		6		6			6		
Behandelt	5		5		5			5		
Latenzphase										
Unbehandelt	9		8	1	8		1	8	1	
Behandelt	15	1	15	1	10	3	3	14		2
Syphilis in der Anamnese										
	1	1	1	1				2		
Sonstige Geschlechts-krankheiten										
	3	2	2	3	3	2			2	3

^aR = reaktiv; N = nicht reaktiv; S = schwach reaktiv (in der Aufstellung als reaktiv eingestuft); G = grenzwertig

Die Empfindlichkeit aller drei Nicht-Treponema-Tests, ermittelt auf der Grundlage der 21 unbehandelten Fälle von Syphilis, betrug 95,2 % (20 von 21 Ergebnissen stimmten überein). Bei den 31 Seren von Personen mit behandelter Syphilis betrug die Empfindlichkeit des VDRL-Objektträgertests 83,9 % (26 von 31 Ergebnissen stimmten überein). Die Gesamt-Empfindlichkeit (behandelt und unbehandelt) betrug 88,5 % beim VDRL-Objektträgerstest im Vergleich zu 92,3 % bei beiden RPR-Kartentests.

Die Spezifitäten der drei Nicht-Treponema-Tests, auf der Grundlage der 453 Seren von vermutlich nicht an Syphilis erkrankten Personen, betrug 99,3 % beim RPR-Test Nr. 1, 99,6 % beim standardmäßigen RPR-Test Nr. 2 und 98,9 % beim VDRL-Objektträgerstest.¹⁵

Bei einer anderen, von Pope, Hunter und Feeley¹⁶ im US-amerikanischen Seuchenschutzamt Centers for Disease Control in Atlanta (im Bundesstaat Georgia) durchgeführten Studie wurden 297 Seren getestet, wobei ein enzymgebundener Immunosorbensassay (ELISA), ein VDRL-Objektträgerstest, ein FTA-ABS-Test und der Mikro-Hämagglutinationsassay auf *T. pallidum*-Antikörper (MHA-TP) zum Einsatz kamen. In Tabelle 3 im Folgenden sind die Empfindlichkeiten und Spezifitäten jeder im Rahmen dieser Studie veröffentlichten Methode aufgeführt.¹⁶

Tabelle 3

Test	Sensibilità	Spécificité
ELISA	89.3%	98.5%
VDRL	93.3%	92.7%
FTA-ABS	100 %	97.8%
MHA-TP	76 %	98.2%

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
240764	VDRL Antigen mit Puffer-Kochsalzlösung, eine (1) 5-mL-Ampulle mit 1 x 60 mL Kochsalzlösung
240765	VDRL Antigen mit Puffer-Kochsalzlösung, zehn (10) 0,5-mL-Ampullen mit 1 x 60 mL Kochsalzlösung
235201	VDRL Test Control Serum Set, 1 Satz von 3 Fläschchen: Nontreponemal Antigen Reactive Serum, ein 3-mL-Fläschchen VDRL Weakly Reactive Serum, ein 3-mL-Fläschchen Nontreponemal Antigen Nonreactive Serum, ein 3-mL-Fläschchen

LITERATUR: S. "References" im englischen Text.

BD VDRL Antigen con soluzione fisiologica tamponata VDRL Test Control Serum Set

Italiano

USO PREVISTO

L'uso di VDRL Antigen con soluzione fisiologica tamponata è raccomandato nel test Venereal Disease Research Laboratory (VDRL)¹ per la rilevazione della reagina, una sostanza anticorpo-simile, mediante test qualitativi e quantitativi di flocculazione su vetrino.

L'uso di VDRL Test Control Set (set di controllo del test VDRL) è raccomandato nei test di controllo di qualità di VDRL Antigen mediante test di flocculazione su vetrino.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Treponema pallidum è l'agente eziologico della sifilide, una infezione cronica con numerose manifestazioni cliniche che si verificano in stadi distinti. Per la rilevazione di ogni stadio della malattia, si raccomandano test di laboratorio specifici.²⁻⁴ VDRL Antigen è un antigene non treponemico costituito da cardioliolina, colesterolo e lecitina. I test non treponemici rilevano anticorpi anti-lipidi formati dall'ospite in risposta sia al rilascio di lipidi da parte delle cellule danneggiate nella fase iniziale di infezione da *T. pallidum* sia a materiale lipido-simile dalla superficie cellulare treponemica.⁵ Durante l'infezione luetica, nel siero del paziente è possibile rilevare una sostanza anticorpo-simile chiamata reagina. Nella neurosifilide, la reagina può essere rilevata nel liquor cerebrospinale (LCS).

I test non treponemici reattivi confermano la diagnosi in presenza di sifilide con manifestazioni iniziali o tardive, offrono importanti indicazioni nella sifilide subclinica latente e sono strumenti efficaci per la rilevazione dei casi in ricerche epidemiologiche. I test non treponemici sono superiori ai treponemici ai fini del monitoraggio della risposta alla terapia.³ I test antigenici non treponemici non sono del tutto specifici per la sifilide e non hanno una sensibilità soddisfacente in tutti gli stadi dell'infezione. Qualora i risultati di un test antigenico non treponemico non concordino con la valutazione clinica, eseguire un test antigenico treponemico, come per esempio il Fluorescent Treponemal Antibody-Absorption (FTA-ABS), ossia test di assorbimento anticorpale treponemico in fluorescenza.^{2,3} I test non treponemici, come per esempio VDRL, sono usati per lo screening del siero dei pazienti, mentre quelli treponemici, quali il test FTA-ABS, vengono usati a fini di conferma. La probabilità di ottenere un risultato reattivo per il test VDRL in vari stadi di sifilide non trattata è stata descritta come segue.³

Stadio di sifilide non trattata	% reattività Test VDRL
Primario	78
Secondario	100
Latente	96
Tardivo	71

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Nelle procedure di test VDRL, il siero del paziente viene termo-inattivato e mescolato con una sospensione di soluzione fisiologica tamponata di antigene VDRL contenente cardioliolina, lecitina e colesterolo. La combinazione di reagina e antigene VDRL determina un'agglutinazione microscopica definita flocculazione. Modificata, la procedura su siero può essere usata per testare il liquor cerebrospinale (LCS).¹

REAGENTI

VDRL Antigen contiene cardioliolina allo 0,03% e colesterolo allo 0,9% dissolti in alcol assoluto con lecitina sufficiente (circa 0,18 - 0,20%) a produrre una reattività standard. Viene preparato con le modificazioni conformi alle istruzioni fornite da Harris, Rosenberg and Riedel.⁶ Cardioliolina e lecitina vengono preparate secondo le istruzioni fornite da Pangborn.^{7,8,9}

VDRL Buffered Saline è una soluzione di cloruro di sodio all'1%, pH 6,0 ± 0,1, con formaldeide allo 0,5% come conservante. Nontreponemal Antigen Reactive Serum è un siero umano liofilizzato contenente timerosal allo 0,02% come conservante e standardizzato per fornire una lettura reattiva quando viene testato secondo la procedura di test USR o VDRL.

VDRL Weakly Reactive Serum è un siero umano liofilizzato contenente timerosal allo 0,02% come conservante e standardizzato per fornire una lettura debolmente reattiva quando viene testato secondo la procedura di test VDRL.

Nontreponemal Antigen Nonreactive Serum è un siero umano liofilizzato contenente timerosal allo 0,02% come conservante e standardizzato per fornire una lettura non reattiva quando viene testato secondo la procedura di test USR o VDRL.

Precauzioni:

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- AVVERTENZA - REAGENTI A POTENZIALE RISCHIO BIOLOGICO.** Ogni unità di donatore usata nella preparazione del set VDRL Test Control Serum è risultata negativa (non ripetutamente reattiva) ai test - condotti con una metodica approvata dalla FDA - per la determinazione degli anticorpi anti HIV (virus dell'immunodeficienza umana) e dell'HBSAg (antigene di superficie dell'epatite B).

Poiché nessuna metodica di test può garantire con certezza l'assenza di HIV, virus dell'epatite B o altri agenti infettivi, manipolare questi reagenti in conformità alle norme del Livello di Sicurezza Biologica 2 (BSL 2) raccomandate per campioni di sangue o siero umano potenzialmente infetto nel manuale *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 1999, redatto da Centers for Disease Control/National Institutes of Health.

- I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e i virus dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle norme dell'istituto e alle "Precauzioni standard".¹⁰⁻¹³

- VDRL Antigen **ALTAMENTE INFIAMMABILE. IRRITANTE PER GLI OCCHI, LE VIE RESPIRATORIE E LA PELLE. POSSIBILITÀ DI EFFETTI IRREVERSIBILI. POSSIBILE RISCHIO DI DANNI AI BAMBINI NON ANCORA NATI. ORGANI BERSAGLIO:** sangue, intestino, fegato, muscoli, nervi.

Evitare il contatto con gli occhi e con la pelle. Non respirare nebulizzazioni. Usare indumenti protettivi adatti. Conservare il recipiente ben chiuso. Conservare lontano da fiamme e scintille. Non fumare.

- VDRL Test Control Serum Set
Questo prodotto contiene gomma naturale secca.

Modalità di conservazione:

Conservare VDRL Antigen a temperatura ambiente (15 - 30 °C), al buio.

Conservare VDRL Buffered Saline a 15 - 30 °C. Una volta aperto, conservare il flacone a 2 - 8 °C.

Conservare i sieri di controllo liofilizzati del set VDRL Test Control Serum a 2 - 8 °C.

Una volta reidratati, conservare i sieri di controllo a 2 - 8 °C in caso di impiego del contenuto entro un giorno. In alternativa, suddividere i sieri di controllo in aliquote sufficienti per un giorno di test e conservare a ≤ -20 °C.

Non usare i reagenti se presentano tracce di contaminazione, evaporazione, precipitazione o altri segni di deterioramento.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

- In una provetta pulita e asciutta, non contenente anticoagulanti, raccogliere 5 - 8 mL di sangue mediante venipuntura in asepsi.
- Attendere che il sangue si coaguli a temperatura ambiente e centrifugare per ottenere il siero.
- Conservare i campioni di siero a temperatura ambiente per un massimo di 4 h, trascorse le quali i campioni devono essere conservati a 2 - 8 °C. I campioni di siero possono essere refrigerati per un massimo di 5 giorni e successivamente congelati a < -20 °C. Evitare cicli ripetuti di congelamento-scongelo dei campioni.
- I campioni di siero devono essere trasparenti, privi di emolisi e non presentare segni evidenti di contaminazione batterica (torbidità, emolisi o particolati). Per ulteriori informazioni sulla raccolta dei campioni, consultare la documentazione appropriata.^{1,3,14}
- Prima del test, riscaldare i sieri da testare a 56 °C per 30 min. I campioni che non vengono testati entro 4 h devono essere nuovamente riscaldati a 56 °C per 10 min.
- Al momento del test, la temperatura dei campioni deve essere di 23 - 29 °C.

PROCEDURA

Materiali forniti - VDRL Antigen con soluzione fisiologica tamponata, VDRL Test Control Serum Set.

Materiali necessari ma non forniti -

Soluzione fisiologica allo 0,9%

Siringa riutilizzabile da 1 cc

Aggi calibrati riutilizzabili senza smusso:

Test di siero: 18G

Test di LCS: 21G o 22G

Flaconi da 30 mL, rotondi, a bocca stretta, diametro 35 mm, con tappi in vetro e superficie interna del fondo piatta N.B. - Qualora non fossero disponibili flaconi da 30 mL, si possono usare matracci Erlenmeyer da 25 mL, accuratamente lavati e con tappi in vetro.

Micropipetta da 50 µL

Pipette sierologiche graduate sino al puntale:

da 1,0 mL, graduate in 1/100 mL,

da 5,0 mL, graduate in 1/10 mL,

da 10,0 mL, graduate in 1/10 mL;

Vetrini -

Test di siero: vetrini da 50,8 mm x 76,2 mm, con anelli in paraffina o ceramica, del diametro di circa 14 mm e di altezze sufficienti a evitare versamenti durante la rotazione. Test di LCS: vetrini a incavi Kline, da 76,2 mm x 50,8 mm, con uno spessore di 3 mm, con 12 incavi del diametro di 16 mm e profondi 1,75 mm.

Portavetrini per vetrini da 50,8 mm x 101,6 mm

Rotatore meccanico, regolabile su 180 ± 2 giri/min, in grado di circoscrivere un cerchio di 19 mm di diametro sul piano orizzontale

Bagnomaria, 56 °C

Microscopio ottico con oculare 10x e obiettivo 10x

Acqua distillata o deionizzata

Alcol assoluto

Acetone

Cronometro

Preparazione dei reagenti

- Per reidratare i sieri di controllo nel set VDRL Test Control Serum, dispensare 3 mL di acqua sterile purificata e rotare delicatamente per dissolvere completamente il contenuto.
- VDRL Antigen e VDRL Buffered Saline sono pronti per l'uso nella preparazione della sospensione VDRL Antigen.

Preparazione della vetreria specifica

Lavare a mano nel modo seguente i flaconi di sospensione e le siringhe con gli aghi.

- Risciacquare con acqua corrente.
- Immergere e lavare accuratamente in una soluzione detergente per vetreria.
- Risciacquare con acqua corrente 6 - 8 volte.
- Risciacquare con acqua distillata o deionizzata non utilizzata.
- Risciacquare con alcol assoluto.
- Risciacquare con acetone.
- Lasciare asciugare all'aria fino all'eliminazione completa dell'odore di acetone.
- Per la conservazione, rimuovere gli aghi dalle siringhe.

Vetrini con anelli in ceramica

- Risciacquare con acqua corrente.
- Lavare con una soluzione detergente per vetreria.
- Risciacquare con acqua corrente 3 - 4 volte.
- Risciacquare con acqua distillata o deionizzata non utilizzata.
- Asciugare con un panno che non lasci residui. Se dopo la pulizia il vetrino non consente una diffusione uniforme del siero entro la superficie interna del cerchio, procedere nel modo seguente.
- Strofinare i vetrini con un detergente non abrasivo.
- Risciacquare, asciugare e lucidare con un panno che non lasci residui.

Evitare l'immersione prolungata di vetrini con anelli in ceramica nella soluzione detergente perché gli anelli potrebbero diventare fragili e sfaldarsi.

Procedura del test

Preparazione della Sospensione di Antigene

Controllare il pH di VDRL Buffered Saline prima di preparare la sospensione VDRL Antigen. Gettare se non rientra nel range di pH $6,0 \pm 0,1$.

Attendere che VDRL Antigen e VDRL Buffered Saline si portino a 23 - 29 °C prima di preparare la sospensione VDRL Antigen.

Per garantire che la soluzione fisiologica tamponata VDRL iniziale copra uniformemente la superficie interna del fondo del flacone, usare soltanto flaconi di sospensione con superficie interna del fondo piatta. Se VDRL Buffered Saline floccola o non si distribuisce uniformemente sul fondo del flacone, rilavare il flacone come sopra descritto. (Per quanto concerne l'uso di matracci da 25 mL con tappi in vetro, vedere la NOTA sopra riportata).

Per ottenere risultati riproducibili, controllare ogni giorno la sospensione VDRL Antigen per verificare la reattività corretta con il set VDRL Test Control Serum. Usare soltanto le sospensioni VDRL che producono il pattern di reattività definito del siero di controllo.

- Preparare una sospensione fresca di VDRL Antigen ogni giorno in cui si eseguono i test. Al momento della preparazione della sospensione di antigene, la temperatura della soluzione fisiologica tamponata, dell'antigene e delle apparecchiature usate deve essere compresa tra 23 e 29 °C.
- Pipettare 0,4 mL di VDRL Buffered Saline sul fondo di un flacone da 30 mL, rotondo, con tappo in vetro e superficie interna del fondo piatta. Inclinare delicatamente il flacone per consentire alla soluzione fisiologica tamponata VDRL di coprire tutta la superficie interna del fondo del flacone.
- Dispensare 0,5 mL di VDRL Antigen (dalla metà inferiore di una pipetta da 1,0 mL graduata sino al puntale) direttamente nella soluzione fisiologica, continuando a ruotare delicatamente il flacone su una superficie piatta. Dispensare l'antigene a gocce, a una velocità tale da consentire la dispensazione di 0,5 mL di antigene in circa 6 sec. Tenere il puntale della pipetta nel terzo superiore del flacone. Non fare schizzare la soluzione fisiologica sulla pipetta. La corretta velocità di rotazione si ottiene quando il centro del flacone forma un cerchio del diametro di 5 cm circa 3 volte al secondo.
- Espellere l'ultima goccia di antigene dalla pipetta evitando che quest'ultima venga a contatto con la soluzione fisiologica e continuando a ruotare il flacone per 10 sec.
- Dispensare 4,1 mL di soluzione fisiologica da una pipetta da 5 mL. Non dispensare la soluzione fisiologica direttamente sull'antigene; attendere che fluisca lungo il lato del flacone.
- Tappare il flacone e agitarlo in senso verticale, dal basso all'alto e viceversa per 30 volte in 10 sec. La sospensione di antigene è pronta per l'uso e può essere impiegata il giorno stesso (entro 8 h).
- Mescolare la sospensione di VDRL Antigen roteandola delicatamente ogni volta che la si utilizza. Non mescolare la sospensione aspirandola ed espellendola attraverso la siringa e l'ago perché ciò potrebbe causare frammentazione delle particelle e perdita di reattività.

Test dell'accuratezza dell'ago della sospensione di antigene per il test su siero

- L'accuratezza del test dipende dalla quantità di sospensione di antigene usata. Verificare periodicamente la calibrazione dell'ago per garantire la dispensazione del volume corretto di sospensione VDRL Antigen.
- Per i test qualitativi e quantitativi su siero, dispensare la sospensione di antigene da una siringa con ago 18G senza smusso, in grado di erogare 60 ± 2 gocce di sospensione di antigene per mL, allorché tenuta in posizione verticale.
- Montare l'ago su una siringa da 1 mL. Riempire la siringa con la sospensione VDRL Antigen. Tenendo la siringa in posizione verticale, contare il numero di gocce dispensate in 0,5 mL. L'ago è correttamente calibrato se in 0,5 mL vengono dispensate 30 ± 1 gocce.
- Sostituire l'ago se non soddisfa questo prerequisito. Ripetere la calibrazione dell'ago nuovo.

Test qualitativo VDRL su vetrino su siero

- La temperatura ambiente incide sui test di flocculazione su vetrino. Per ottenere risultati affidabili e riproducibili, al momento di eseguire i test le sospensioni di VDRL Antigen, i controlli e i campioni da testare devono essere a temperatura ambiente, 23 - 29 °C.
- Usando un dispositivo di pipettamento di sicurezza, pipettare 50 µL di siero in un anello di un vetrino con anelli in paraffina o ceramica. Non usare un vetrino di vetro con incavi, pozzetti o anelli di vetro. Distribuire il siero con un movimento circolare del puntale della pipetta in maniera tale che il siero copra l'intera superficie interna dell'anello di paraffina o ceramica.
- Risospesondere delicatamente la sospensione VDRL Antigen.
- Tenendo in posizione verticale la siringa e l'ago di dispensazione della sospensione VDRL Antigen, dispensare alcune gocce per eliminare l'aria dall'ago. Lasciare quindi cadere liberamente 1 goccia (17 µL) di sospensione di antigene su ogni cerchio contenente siero. Evitare che l'ago venga a contatto con il siero.
- Porre il vetrino sul rotatore meccanico. Fare ruotare il vetrino per 4 min a 180 ± 2 giri/min. Se il test viene eseguito in un ambiente secco, coprire i vetrini con un coperchio umidificatore durante la rotazione per evitare un'eccessiva evaporazione.
- Subito dopo la rotazione, rimuovere il vetrino dal rotatore e leggere i risultati del test al microscopio, usando un ingrandimento 100x.

Test quantitativo VDRL su siero

- Per quantificare i campioni di siero sino al titolo endpoint, preparare sul vetrino diluizioni 1:1, 1:2, 1:4 e 1:8.
- Dispensare 50 µL di soluzione fisiologica allo 0,9% nei cerchi 2 - 4. Non distribuire la soluzione fisiologica.
- Dispensare 50 µL di siero nel cerchio 1 e altri 50 µL di siero nel cerchio 2.
- Mescolare la soluzione fisiologica e il siero nel cerchio 2 aspirando e versando la miscela con la pipetta circa 8 volte. Evitare la formazione di bolle.
- Trasferire 50 µL dal cerchio 2 (1:2) al cerchio 3 (1:4) e mescolare.
- Trasferire 50 µL dal cerchio 3 (1:4) al cerchio 4 (1:8), mescolare e quindi eliminare gli ultimi 50 µL.
- Risospesondere delicatamente la sospensione di antigene.
- Tenendo in posizione verticale la siringa e l'ago di dispensazione della sospensione di antigene, dispensare alcune gocce per eliminare l'aria dall'ago. Lasciare quindi cadere liberamente 1 goccia (17 µL) di sospensione di antigene su ogni cerchio.
- Porre il vetrino sul rotatore meccanico. Fare ruotare il vetrino per 4 min a 180 ± 2 giri/min. Se il test viene eseguito in un ambiente secco, coprire il vetrino con un coperchio umidificatore durante la rotazione per evitare un'eccessiva evaporazione.
- Subito dopo la rotazione, leggere i risultati del test al microscopio usando un ingrandimento 100x.
- Se la diluizione più elevata testata (1:8) è reattiva, procedere nel modo seguente.
 - Preparare una diluizione 1:8 del campione da testare dispensando 0,1 mL di siero in 0,7 mL di soluzione fisiologica allo 0,9%. Mescolare accuratamente.
 - Dispensare in successione 50 µL di soluzione fisiologica allo 0,9% nel secondo, terzo e quarto anello in paraffina sul vetrino. Per campioni fortemente reattivi, preparare altre diluizioni seriali.
 - Dispensare 50 µL della diluizione 1:8 del campione da testare negli anelli in paraffina 1 e 2.
 - Preparare diluizioni seriali al raddoppio iniziando dall'anello 2 e completare il test sopra descritto.

Controllo di qualità a cura dell'utente della sospensione VDRL Antigen

- Preparare una sospensione di antigene fresca ogni giorno in cui si eseguono i test. Una volta preparata, usarla entro 8 h.
- Conservare la sospensione di antigene pronta per l'uso a 23 - 29 °C.
- Testare la reattività della sospensione di antigene con i sieri di controllo (reattivo, debolmente reattivo e non reattivo). Testare le diluizioni di siero entro 1 h dalla termo-inattivazione.
- Usare la sospensione di antigene soltanto se sviluppa la reattività attesa con i sieri di controllo (reattivo, debolmente reattivo e non reattivo) comparabile ai risultati ottenuti con l'antigene di riferimento.

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità in uso nel laboratorio. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione NCCLS in merito.

RISULTATI

Qualitativi

- Leggere e annotare i risultati come segue.
 - Grumi medio - grandi - Reattivo (R)
 - Grumi piccoli - Debolmente reattivo (WR)
 - ASSENZA di grumi o leggerissima disomogeneità - Non reattivo (NR)
- Verificare che i risultati dei sieri di controllo siano quelli attesi (reattivo, debolmente reattivo, non reattivo). Se le reazioni non sono quelle attese, il test non è valido e i risultati non possono essere referatati.
- Eseguire un test quantitativo sino all'endpoint su tutti i campioni di siero che nel test qualitativo su vetrino producono risultati reattivi, debolmente reattivi o non reattivi "disomogenei".

Quantitativo

Refertare il titolo come la diluizione più elevata che produce un risultato reattivo (non debolmente reattivo). Per esempio:

Non diluito (1:1)	Diluizioni di siero					Referto
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	
R	W	N	N	N	N	Reattivo, non diluito
R	R	W	N	N	N	Reattivo, diluizione 1:2
R	R	R	W	N	N	Reattivo, diluizione 1:4
W	W	R	R	W	N	Reattivo, diluizione 1:8
N (disomogeneo)	W	R	R	R	N	Reattivo, diluizione 1:16
W	N	N	N	N	N	Debolmente reattivo, non diluito

Se si ottengono risultati reattivi con una diluizione 1:32, preparare altre diluizioni seriali al raddoppio in soluzione fisiologica allo 0,9% (1:64, 1:128 e 1:256) e ritestare usando la procedura di test quantitativo.

Interpretazione

- I risultati del test VDRL su siero devono essere confermati mediante un test treponemico.
- La diagnosi di sifilide dipende dai risultati del test VDRL e del test treponemico di conferma, dai sintomi e segni clinici e dai fattori di rischio.
- Un test VDRL reattivo può indicare infezione pregressa o in atto da un treponema patogeno, sebbene possa trattarsi di una reazione falsamente positiva, che viene determinata nel caso in cui il test treponemico di conferma sia negativo.
- Un test VDRL non reattivo con evidenza clinica di sifilide, può indicare sifilide precoce primaria, una reazione di prozona in sifilide secondaria o sifilide tardiva.
- Un test VDRL non reattivo senza evidenza clinica di sifilide, indica nessuna infezione in atto o un'infezione trattata efficacemente.
- Un test VDRL quantitativo rileva le variazioni nel titolo della reagina. Di conseguenza, un campione di siero che evidenzia un aumento di quattro volte nel titolo su un campione ripetuto può indicare una infezione, una reinfezione o il fallimento della terapia. Analogamente, una diminuzione di quattro volte durante il trattamento è indice di terapia adeguata della sifilide.

Test VDRL su liquor cerebrospinale

Per la procedura da seguire in caso di impiego del test VDRL con liquor cerebrospinale, consultare la documentazione appropriata.¹

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Si può verificare una reazione di prozona in cui la reattività con siero non diluito viene inibita. Il fenomeno di prozona produce spesso risultati debolmente reattivi o non reattivi "disomogenei" nel test qualitativo. Tutti i campioni con tali risultati devono pertanto essere sottoposti a un test quantitativo.

Reazioni biologiche falsamente positive possono verificarsi con test non treponemici in soggetti tossicodipendenti affetti da malattie come lupus eritematoso, mononucleosi, malaria, lebbra o polmonite virale oppure recentemente immunizzati.¹

Reazioni crociate possono verificarsi con altre infezioni treponemiche, come per esempio frambesia, mal del pinto, bejel o siti.

A livello di produzione, VDRL Antigen con soluzione fisiologica tamponata è testato esclusivamente con siero. Per una modificazione delle procedure e dei prodotti per il test su siero in caso di test su LCS, consultare la documentazione appropriata.¹ L'utente è responsabile delle modifiche dei prodotti e delle procedure nonché degli standard prescritti per il controllo di qualità.

La reattività del test può risultare diminuita nel caso in cui la temperatura dell'area di test, dei campioni o dei reagenti sia inferiore a 23 °C, mentre in caso di temperatura superiore a 29 °C, risulta aumentata.¹

I risultati del test sono imprevedibili quando si testano campioni di siero emolizzati, contaminati o estremamente torbidi. Il plasma non è un campione accettabile.

Affinché i risultati dei test siano corretti, rispettare rigorosamente la velocità e la durata appropriate per la rotazione dei campioni e dell'antigene.

PRESTAZIONI METODOLOGICHE^{15,16}

Le prestazioni del test su vetrino VDRL sono state comparate a due test su cartoncino RPR (Rapid Plasma Reagin) e a un test di assorbimento anticorpale treponemico in fluorescenza (FTA-ABS) per la diagnosi di sifilide in uno studio condotto da Perryman, Larsen, Hambie, Pettit, Mullally e Whittington.¹⁵ Campioni di siero freschi raccolti da 505 soggetti sono stati testati usando le seguenti quattro procedure di test.

Dei 505 campioni di siero freschi, 57 sieri sono risultati reattivi in almeno uno dei test non treponemici. I tre sieri che hanno prodotto risultati borderline al test FTA-ABS non sono stati inseriti nella tabulazione. Per la distribuzione dei sieri reattivi tra i tre test non treponemici e il test FTA-ABS, vedere la Tabella 1.¹⁵

Tabella 1

Pattern di reattività dei test non treponemici			N. di sieri con pattern	N. di sieri con il seguente risultato al test FTA-ABS ^a		
Test su cartoncino RPR		Vetrino VDRL		R	B	N
Test RPR n. 1	Test RPR standard n. 2					
R	R	R	43	38	2	3
N	R	R	1	1		
N	N	R	4	2		2
N	R	N	1	1		
R	R	N	5	5		
R	N	N	1	1		
R	N	R	2	1	1	

^aR, reattivo; B, borderline; N, non reattivo

La Tabella 2 presenta le diagnosi associate a test non treponemici reattivi.¹⁵

Tabella 2

Stadio di sifilide	N. di sieri con reazione indicata dal test seguente ^a									
	Test su cartoncino RPR				Test su vetrino VDRL			Test FTA-ABS		
	Test n. 1	Test standard n. 2	VDRL		VDRL		FTA-ABS			
	R	N	R	N	R	W	N	R	B	N
Primaria										
Non trattata	5	1	6		4	2		6		
Trattata	7	1	7	1	5	1	2	8		
Secondaria										
Non trattata	6		6		6			6		
Trattata	5		5		5			5		
Latente										
Non trattata	9		8	1	8		1	8	1	
Trattata	15	1	15	1	10	3	3	14		2
Anamnesi positiva per sifilide	1	1	1	1		2		2		
Altre malattie a trasmissione sessuale	3	2	2	3	3	2			2	3

^aR, reattivo; N, non reattivo; W, debolmente reattivo (considerato reattivo nella tabulazione); B, borderline

La sensibilità di tutti e tre i test non treponemici, in base ai 21 casi non trattati di sifilide, è risultata pari al 95,2% (concordanza di 20 risultati su 21). Con i 31 sieri di soggetti con sifilide trattata, la sensibilità del test su vetrino VDRL è risultata pari all'83,9% (concordanza di 26 risultati su 31). La sensibilità complessiva (sifilide trattata e non trattata) è risultata pari all'88,5% per il test su vetrino VDRL, rispetto al 92,3% per entrambi i test su cartoncino RPR.

Le specificità dei tre test non treponemici in base ai 453 sieri raccolti da soggetti presumibilmente non affetti da sifilide, sono risultate pari al 99,3% per il test RPR n. 1, al 99,6% per il test RPR standard n. 2 e al 98,9% per il test su vetrino VDRL.¹⁵

In un altro studio condotto da Pope, Hunter e Feeley¹⁶ presso i Centers for Disease Control in Atlanta, Georgia, USA, 297 sieri sono stati testati mediante ELISA, test su vetrino VDRL, test FTA-ABS e test di microemoagglutinazione per gli anticorpi anti *Treponema pallidum* (MHA-TP). La Tabella 3 seguente elenca le sensibilità e specificità per ciascuna metodica pubblicata in questo studio.¹⁶

Table 3

Test	Sensibilità	Specificità
ELISA	89.3%	98.5%
VDRL	93.3%	92.7%
FTA-ABS	100 %	97.8%
MHA-TP	76 %	98.2%

DISPONIBILITÀ**N. di cat. Descrizione**

240764 VDRL Antigen con soluzione fisiologica tamponata, 1 fiala da 5 mL con 1 flacone da 60 mL di soluzione fisiologica

240765 VDRL Antigen con soluzione fisiologica tamponata, 10 fiale da 0,5 mL con 1 flacone da 60 mL di soluzione fisiologica

235201 VDRL Test Control Serum Set, 1 set di 3 flaconi:

Nontreponemal Antigen Reactive Serum, un flacone da 3 mL

VDRL Weakly Reactive Serum, un flacone da 3 mL

Nontreponemal Antigen Nonreactive Serum, un flacone da 3 mL

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

BD VDRL Antigen con solución salina tamponada **VDRL Test Control Serum Set**

Español

USO PREVISTO

VDRL Antigen con solución salina tamponada se recomienda para uso en la prueba VDRL (Venereal Disease Research Laboratory, Examen de laboratorio de investigación de enfermedades venéreas)¹ para la detección de reagina, una sustancia similar a un anticuerpo, por medio de pruebas cualitativas y cuantitativas de floculación en portaobjetos.

Se recomienda el uso de VDRL Test Control Set para el análisis de control de calidad de VDRL Antigen mediante la prueba de floculación en portaobjetos.

RESUMEN Y EXPLICACION

Treponema pallidum es el agente causante de la sífilis. La sífilis es una infección crónica con numerosas manifestaciones clínicas que se desarrollan en etapas diferentes. Se recomiendan pruebas de laboratorio específicas para la detección de cada etapa de la enfermedad^{2,4}.

El VDRL Antigen es un antígeno no treponémico formado por cardioplipina, colesterol y lecitina. Las pruebas no treponémicas miden los anticuerpos anti-lípidicos, que desarrolla el anfitrión como respuesta a los lípidos liberados por las células anfitrionas dañadas en la primera etapa de la infección de *T. pallidum* y el material similar a lípido de la superficie celular treponémica⁵. Durante la infección de sífilis, puede detectarse una sustancia similar a un anticuerpo (denominada reagina) en el suero del paciente. En la infección de sífilis del sistema nervioso central, la reagina puede detectarse en el líquido cefalorraquídeo (LCR).

Las pruebas no treponémicas reactivas confirman el diagnóstico en presencia de lesiones sífilíticas tempranas o tardías. Ofrecen un indicio en la sífilis subclínica latente y constituyen herramientas efectivas para la detección de casos en investigaciones epidemiológicas. Las pruebas no treponémicas ofrecen resultados superiores a las pruebas treponémicas para el seguimiento de la respuesta al tratamiento⁵.

Las pruebas con antígeno no treponémico no son completamente específicas para sífilis, ni tampoco presentan una sensibilidad satisfactoria en todas las etapas de sífilis. Siempre que los resultados de la prueba con antígeno no treponémico no guarde relación con la impresión clínica, debe realizarse una prueba con antígeno no treponémico tal como FTA-ABS^{2,3}. Las pruebas no treponémicas tales como el VDRL Test se utilizan para realizar un análisis de detección en el suero del paciente, mientras que las pruebas treponémicas como FTA-ABS se utilizan para confirmar los resultados. La probabilidad de obtener un resultado del VDRL Test reactivo en diversas etapas de la sífilis no tratada, se ha informado de la manera siguiente³.

Etapas de sífilis sin tratar	% VDRL Test reactivo
Primaria	78
Secundaria	100
Latente	96
Tardía	71

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

En los procedimientos de VDRL Test, el suero del paciente se inactiva por calor y se mezcla con una suspensión de solución salina con tampón de VDRL Antigen con cardioplipina, lecitina y colesterol. La combinación de reagina y VDRL Antigen forma una aglutinación microscópica denominada floculación. Con algunas modificaciones, el procedimiento del suero puede utilizarse para analizar LCR¹.

REACTIVOS

VDRL Antigen está formado por 0,03% de cardioplipina y 0,9% de colesterol disueltos en alcohol puro con suficiente lecitina (aproximadamente 0,18 - 0,20%) para producir una reactividad estándar. Se prepara con modificaciones según las instrucciones de Harris, Rosenberg y Riedel⁶. Se preparan la cardioplipina y la lecitina según las instrucciones de Pangborn^{7,8,9}. VDRL Buffered Saline es una solución de cloruro de sodio al 1%, con un pH de 6,0 ± 0,1 y formaldehído al 0,5% como conservante. El suero reactivo con antígeno no treponémico es un suero humano liofilizado con timerosal al 0,02% como conservante, normalizado para proporcionar una lectura reactiva al analizarse según el procedimiento de las pruebas USR o VDRL.

El suero VDRL débilmente reactivo es un suero humano liofilizado con timerosal al 0,02% como conservante, normalizado para proporcionar una lectura débilmente reactiva al analizarse según el procedimiento de la prueba VDRL.

El suero no reactivo con antígeno no treponémico es un suero humano liofilizado con timerosal al 0,02% como conservante, normalizado para proporcionar una lectura no reactiva al analizarse según el procedimiento de las pruebas USR o VDRL.

Precauciones:

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- ADVERTENCIA: REACTIVOS CON POSIBLE RIESGO BIOLÓGICO.** Cada unidad donante utilizada para preparar VDRL Test Control Serum Set fue analizada mediante un método con licencia de la FDA para determinar la presencia de anticuerpos al virus de inmunodeficiencia humana (HIV) y el antígeno de superficie de la hepatitis B (HbsAg) y los resultados fueron negativos (no fueron reactivos repetidas veces). Debido a que ningún método de análisis puede ofrecer una garantía total de la ausencia de HIV, del virus de la hepatitis B o de otros agentes infecciosos, dichos reactivos deben manipularse adoptando las medidas de seguridad biológica de nivel 2, según lo recomendado para todo suero humano o muestra de sangre potencialmente infecciosos en el manual *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (1999) de los Centers for Disease Control/National Institutes of Health.
- En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"¹⁰⁻¹³ y las directrices del centro.
- VDRL Antigen MUY INFLAMABLE. IRRITA LOS OJOS, LA PIEL Y LAS VIAS RESPIRATORIAS. RIESGO POSIBLE DE EFECTOS IRREVERSIBLES. DURANTE EL EMBARAZO, POSIBLE RIESGO DE EFECTOS ADVERSOS PARA EL FETO. ORGANOS AFECTADOS:** sangre, intestino, hígado, músculos, nervios.
Evitar el contacto con los ojos y la piel. No respirar el vapor. Utilizar indumentaria protectora adecuada. Mantener el envase bien cerrado. Mantener alejado de fuentes de ignición. No fumar.
- VDRL Test Control Serum Set
Este producto contiene goma natural seca.

Instrucciones de Almacenamiento:

Almacenar VDRL Antigen a temperatura ambiente (15 - 30 °C) en un lugar oscuro.

Almacenar VDRL Buffered Saline a una temperatura de 15 - 30 °C. Después de abrir el frasco, almacenar a 2 - 8 °C.

Almacenar los sueros de control liofilizados en el VDRL Test Control Serum Set a 2 - 8 °C.

Cuando se rehidratan los sueros de control, almacenarlos a 2 - 8 °C si se piensa utilizar el contenido en el plazo de un día.

También se pueden dividir los sueros de control en alícuotas suficientes para un día de análisis y almacenar ≤ -20 °C.

No utilizar si los reactivos muestran signos de contaminación, evaporación, precipitación u otros signos de deterioro.

RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

- Recoger 5 - 8 mL de sangre mediante venopunción aséptica en un tubo limpio y seco sin anticoagulante.
- Dejar la sangre coagular a temperatura ambiente y centrifugar para obtener el suero.
- Almacenar las muestras a temperatura ambiente durante un máximo de 4 h. Después de dicho lapso, almacenar a 2 - 8 °C. Las muestras séricas pueden refrigerarse durante un máximo de 5 días, luego congelarse a < -20 °C. No congelar y descongelar las muestras repetidas veces.
- Las muestras deben ser transparentes, sin hemólisis ni evidencia visible de contaminación bacteriana (turbidez, hemólisis o partículas). Consultar las referencias correspondientes para obtener información adicional acerca de la recogida de las muestras^{1,3,14}.
- Antes del análisis, calentar los sueros de prueba a 56 °C durante 30 min. Las muestras que no se analicen dentro de las 4 h deben volver a calentarse durante 10 min a 56 °C.
- Las muestras deben encontrarse a una temperatura de 23 - 29 °C en el momento del análisis.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: VDRL Antigen con solución salina tamponada, VDRL Test Control Serum Set.

Materiales necesarios pero no suministrados:

Solución salina al 0,9%

Jeringa no desechable de 1 cc

Agujas calibradas no desechables sin bisel:

Prueba sérica: calibre 18

Prueba de LCR: calibre 21 o 22

Frascos de 30 mL, redondos, de boca angosta de 35 mm de diámetro con tapones de vidrio y un fondo interno plano

NOTA: Se pueden reemplazar por matraces de Erlenmeyer de 25 mL, bien lavados y con tapones de vidrio, si no se dispone de frascos de 30 mL.

Micropipeta de 50 µL

Pipetas serológicas graduadas hasta la punta:

1,0 mL, graduadas en 1/100 mL;

5,0 mL, graduadas en 1/10 mL;

10,0 mL, graduadas en 1/10 mL.

Portaobjetos:

Prueba sérica: 50,8 x 76,2 mm con aros de parafina o cerámica de aproximadamente 14 mm de diámetro y suficientemente altos para evitar el desbordamiento durante la rotación de la prueba de LCR: Portaobjetos cóncavos Kline, 76,2 x 50,8 mm, 3 mm grosor, 12 unidades de 16 mm de diámetro y 1,75 mm de profundidad.

Soporte para portaobjetos de 50,8 x 103,6 mm.

Agitador rotativo mecánico, ajustable a 180 ± 2 rpm, que circunscriba un círculo de 19 mm de diámetro en un plano horizontal

Baño María de 56 °C

Microscopio óptico con ocular de 10x y objetivo de 10x

Agua destilada o desionizada estéril

Alcohol puro

Acetona

Cronómetro

Preparación del Reactivo

- Para rehidratar los sueros de control en el VDRL Test Control Serum Set, añadir 3 mL de agua purificada estéril y revolver suavemente hasta disolver el contenido.
- VDRL Antigen y VDRL Buffered Saline están listos para su uso en la preparación de la suspensión de VDRL Antigen.

Preparación del Material de Vidrio Específico

Lavar a mano las jeringas con las agujas y los frascos con suspensión de la manera siguiente:

- Enjuagar con agua del grifo.
- Empapar y lavar bien en una solución de detergente para material de vidrio.
- Enjuagar con agua del grifo de 6 a 8 veces.
- Enjuagar con agua destilada o desionizada sin usar.
- Enjuagar con alcohol puro.
- Enjuagar con acetona.
- Dejar secar al aire hasta que el olor de acetona se elimine completamente.
- Quitar las agujas de las jeringas para su almacenamiento.

Portaobjetos con Aros de Cerámica:

- Enjuagar con agua del grifo.
- Lavar con una solución de detergente para material de vidrio.
- Enjuagar con agua del grifo de 3 a 4 veces.
- Enjuagar con agua destilada o desionizada sin usar.
- Secar con un paño sin pelusa. Si el portaobjetos limpio no permite la distribución uniforme del suero dentro de la superficie interna del círculo, tratar el portaobjetos de la manera siguiente:
- Limpia los portaobjetos con un limpiador no abrasivo.
- Enjuagar, secar y pulir con un paño limpio sin pelusa.

No dejar en la solución de detergente durante un período prolongado los portaobjetos con aros de cerámica porque éstos se pueden quebrar y desprenderse.

Procedimiento de Análisis

Preparar la Suspensión de Antígeno

Verificar el pH de VDRL Buffered Saline antes de preparar la suspensión de VDRL antigen. Desechar si se encuentra fuera del intervalo de pH 6,0 ± 0,1.

Dejar que VDRL Antigen y VDRL Buffered Saline alcancen una temperatura entre 23 y 29 °C antes de preparar la suspensión de VDRL Antigen.

Utilizar solamente frascos de suspensión con fondos internos planos que permitan cubrir uniformemente con VDRL Buffered Saline inicial el fondo interno del frasco. Si se forman microesferas de VDRL Buffered Saline o no se esparce con uniformidad en el fondo del frasco, volver a lavarlo como se describe anteriormente. (Véase la NOTA anterior con respecto al uso de matraces de 25 mL con tapones de vidrio).

Para que los resultados sean reproducibles, la suspensión de VDRL Antigen debe comprobarse diariamente para determinar una reactividad apropiada con el VDRL Test Control Serum Set. Sólo deben utilizarse las suspensiones de VDRL que produzcan el patrón de reactividad establecido del suero de control.

- Preparar una nueva suspensión de VDRL Antigen cada día de análisis. La temperatura de la solución salina tamponada, el antígeno y el equipo debe encontrarse entre 23 y 29 °C en el momento en que se prepara la suspensión de antígeno.
- Pipetear 0,4 mL de VDRL Buffered Saline al fondo de un frasco redondo de 30 mL con tapón de vidrio y fondo interno plano. Inclinar suavemente el frasco de manera que VDRL Buffered Saline cubra toda la superficie interna del fondo del frasco.
- Añadir 0,5 mL de VDRL Antigen (de la mitad inferior de una pipeta de 1,0 mL graduada hasta la punta) directamente en la solución salina a la vez que se hace girar continuamente pero con suavidad el frasco sobre una superficie plana. Añadir el antígeno, gota a gota, a una velocidad que permita verter 0,5 mL de antígeno en 6 sec. Mantener la punta de la pipeta en el tercio superior del frasco. No salpicar solución salina en la pipeta. La velocidad adecuada de rotación se obtiene cuando el centro del frasco realiza un círculo de 5 cm de diámetro aproximadamente 3 veces por sec.
- Expulsar la última gota de antígeno de la pipeta, sin tocarla con la solución salina, y continuar con la rotación del frasco durante 10 sec.
- Añadir 4,1 mL de solución salina con una pipeta de 5 mL. No dosificar la solución salina directamente sobre el antígeno; dejarla fluir por un lado del frasco.
- Tapar el frasco y agitarlo aproximadamente 30 veces en 10 sec. La suspensión del antígeno está lista para usar y puede utilizarse durante ese día (8 h).
- Mezclar la suspensión de VDRL Antigen girando el frasco suavemente cada vez que se utilice. No mezclar la suspensión de manera forzada extrayéndola y expulsándola con una jeringa con aguja, ya que así es posible que se descompongan las partículas y se pierda reactividad.

Probar la Exactitud de la Aguja de Suspensión de Antígeno para la Prueba Serica

- La exactitud de la prueba depende de la cantidad de suspensión de antígeno utilizada. Comprobar la calibración de la aguja periódicamente para asegurar el suministro del volumen correcto de la suspensión de VDRL Antigen.
- Para las pruebas cuantitativas y cualitativas en el suero, dosificar la suspensión de antígeno con una jeringa con una aguja de calibre 18 sin bisel que suministrará 60 ± 2 gotas de suspensión de antígeno por mL cuando se la sostiene en posición vertical.
- Colocar la aguja en una jeringa de 1 mL. Llenar la jeringa con suspensión de VDRL Antigen. Sosteniendo la jeringa en posición vertical, contar el número de gotas suministradas en 0,5 mL. La aguja está calibrada correctamente si se suministran 30 ± 1 gotas en 0,5 mL.
- Cambiar la aguja si no se cumple esta especificación. Repetir la calibración con la nueva aguja.

Prueba Cualitativa en Portaobjetos de VDRL en Suero

- La temperatura ambiente afecta las pruebas de floculación en portaobjetos para la detección de sífilis. Para obtener resultados de pruebas reproducibles y fiables, las suspensiones de VDRL Antigen, los controles y las muestras de prueba deben encontrarse a temperatura ambiente (23 - 29 °C) cuando se realizan las pruebas.
- Pipetear 50 µL de suero en un aro de un portaobjetos con aros de parafina o cerámica mediante una pipeta segura. No utilizar un portaobjetos de vidrio con concavidades, pocillos o aros de vidrio. Esparcir el suero con el movimiento circular de la punta de la pipeta de manera que el suero cubra toda la superficie interna del aro de parafina o cerámica.
- Volver a suspender suavemente la suspensión de VDRL Antigen.
- Sosteniendo la jeringa con la aguja con suspensión de VDRL Antigen en posición vertical, dosificar varias gotas para quitar el aire a la aguja. Luego, dejar caer exactamente 1 gota (17 µL) de suspensión de antígeno a cada círculo con suero. No permitir que la aguja toque el suero.
- Colocar el portaobjetos en el agitador rotativo mecánico. Girar el portaobjetos durante 4 min a 180 ± 2 rpm. Si se realiza la prueba en un clima seco, cubrir los portaobjetos con una cubierta humidificadora mojada durante la rotación para evitar la evaporación excesiva.
- Inmediatamente después de la rotación del portaobjetos, retirarlo del agitador rotativo y efectuar la lectura de los resultados al microscopio con un aumento de 100x.

Prueba Cuantitativa de VDRL en Suero

- Para realizar un recuento de las muestras de suero hasta obtener una titulación según criterio de valoración, preparar las diluciones de suero en el portaobjetos en una concentración de 1:1, 1:2, 1:4 y 1:8.
- Dosificar 50 µL de solución salina al 0,9% en los círculos 2 - 4. No esparcir la solución salina.
- Dosificar 50 µL de suero en el círculo 1 y 50 µL de suero en el círculo 2.
- Mezclar la solución salina y el suero en el círculo 2 extrayendo y expulsando la mezcla hacia arriba y hacia abajo en la pipeta aproximadamente 8 veces. Evitar la formación de burbujas.
- Transferir 50 µL del círculo 2 (1:2) al círculo 3 (1:4) y mezclar.
- Transferir 50 µL del círculo 3 (1:4) al círculo 4 (1:8), mezclar y luego descartar los últimos 50 µL.
- Volver a suspender suavemente la suspensión del antígeno.
- Sosteniendo la jeringa con la aguja con suspensión en posición vertical, dosificar varias gotas para quitar el aire a la aguja. Luego, dejar caer exactamente 1 gota (17 µL) de suspensión de antígeno a cada círculo.
- Colocar el portaobjetos en el agitador rotativo mecánico. Girar el portaobjetos durante 4 min a 180 ± 2 rpm. Si se realiza la prueba en un clima seco, cubrir los portaobjetos con una cubierta humidificadora mojada durante la rotación para evitar la evaporación excesiva.
- Inmediatamente después de la rotación, efectuar la lectura de la prueba al microscopio con un aumento de 100X.
- Si la dilución más alta analizada (1:8) es reactiva:
 - Preparar una dilución de 1:8 de la muestra de prueba añadiendo 0,1 mL de suero a 0,7 mL de solución salina al 0,9%. Mezclar bien.
 - Colocar 50 µL de solución salina al 0,9% en el segundo, tercer y cuarto aros de parafina en una fila del portaobjetos. Preparar diluciones seriadas adicionales para las muestras muy reactivas.
 - Añadir 50 µL de la dilución de 1:8 de la muestra de prueba a los aros de parafina 1 y 2.
 - Preparar las diluciones seriadas de 1:2 comenzando con el aro 2 y completar la prueba descrita anteriormente.

Control de Calidad del Usuario de la Suspensión del VDRL Antigen

- Preparar una nueva suspensión de antígeno cada día de análisis. Una vez preparada, la suspensión se debe utilizar dentro de las 8 h.
- Almacenar la suspensión de antígeno preparado a 23 - 29 °C.
- Analizar la reactividad de la suspensión del antígeno con sueros de control (reactivo, débilmente reactivo y no reactivo). Analizar las diluciones de suero en el plazo de 1 h después de la inactivación por calor.
- Utilizar la suspensión de antígeno solamente si produce la reactividad prevista con los sueros de control (reactivo, débilmente reactivo y no reactivo), en comparación con los resultados obtenidos con el antígeno de referencia.

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional aplicable, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de NCCLS y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

RESULTADOS

Resultados del Análisis Cualitativo

- Leer y registrar los resultados de la manera siguiente:
Grumos medianos a grandes: reactivo (R)
Grumos pequeños: débilmente reactivo (WR)
SIN grumos o rugosidad muy leve: no reactivo (NR)
- Verificar que los resultados de los sueros de control son los previstos (reactivo, débilmente reactivo, no reactivo). Si las reacciones no son las previstas, la prueba no es válida y no pueden notificarse los resultados.
- Realizar una prueba cuantitativa para determinar el criterio de valoración de todas las muestras séricas que producen resultados reactivos, débilmente reactivos o no reactivos "rugosos" en la prueba cualitativa en portaobjetos.

Resultados del Análisis Cuantitativo

Notificar la titulación como la dilución más elevada que produce el resultado reactivo (no el débilmente reactivo). Por ejemplo:

Sin diluir (1:1)	Diluciones séricas					Informe
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	
R	W	N	N	N	N	Reactivo, sin diluir
R	R	W	N	N	N	Reactivo, dilución de 1:2
R	R	R	W	N	N	Reactivo, dilución de 1:4
W	W	R	R	W	N	Reactivo, dilución de 1:8
N (rugosos)	W	R	R	R	N	Reactivo, dilución de 1:16
W	N	N	N	N	N	Débilmente reactivo, sin diluir

Si los resultados reactivos se obtienen mediante la dilución 1:32, preparar más diluciones seriadas de 1:2 en solución salina al 0,9% (1:64, 1:128 y 1:256) y repetir la prueba con el procedimiento de prueba cuantitativa.

Interpretación

- Los resultados del suero del VDRL Test deben confirmarse con una prueba treponémica.
- El diagnóstico de sífilis depende de los resultados del VDRL Test, la prueba de confirmación treponémica, indicios y síntomas clínicos y factores de riesgo.
- Un VDRL Test reactivo puede indicar una infección pasada o presente con un treponema patógeno. Sin embargo, puede tratarse de una reacción positiva falsa. Un resultado positivo falso se determina si la prueba treponémica de confirmación es negativa.
- Un VDRL Test no reactivo con signos clínicos de sífilis puede indicar una sífilis en la primera etapa o etapa primaria, una reacción prozona en sífilis secundaria o una sífilis en etapa tardía.
- Un VDRL Test no reactivo con ausencia de signos clínicos de sífilis indica falta de infección actual o una infección tratada eficazmente.
- Un VDRL Test cuantitativo detecta cambios en la titulación de reagina. Por tanto, una muestra de suero con un incremento de cuatro veces en la titulación en una muestra repetida puede indicar una infección, una reinfección o un tratamiento fallido. Asimismo, una reducción de cuatro veces durante el tratamiento indica un tratamiento adecuado de la sífilis.

VDRL Test en Líquido Cefalorraquídeo

Consultar en las referencias correspondientes el procedimiento de análisis de líquido cefalorraquídeo con el VDRL Test¹.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Se puede producir una reacción prozona en la que esté inhibida la reactividad con un suero sin diluir. El fenómeno prozona a menudo da un resultado débilmente reactivo o no reactivo "rugoso" en las pruebas cualitativas. Por tanto, todas las muestras con estos resultados deben analizarse en la prueba cuantitativa.

Las reacciones biológicas positivas falsas pueden ocurrir con pruebas de personas que abusan de las drogas, tienen enfermedades tales como lupus eritematoso, mononucleosis, malaria, lepra o neumonía viral o se han vacunado recientemente¹.

Pueden producirse reacciones cruzadas con otras infecciones treponémicas, tales como yaws, bejel o siti.

Durante la fabricación, VDRL Antigen con solución tamponada se analiza sólo con suero. Para una modificación de los productos de prueba sérica y procedimientos para análisis de LCR, consultar las referencias correspondientes¹. El usuario tiene la responsabilidad de modificar los productos y procedimientos, además de cumplir con las normas de control de calidad requeridas.

Si la temperatura del área de análisis, las muestras o los reactivos es inferior a 23 °C, se disminuye la reactividad de la prueba. Si la temperatura es superior a 29 °C, se aumenta la reactividad de la prueba¹.

Los resultados de la prueba no son predecibles cuando se realizan análisis con muestras de suero con hemólisis, contaminación o turbidez extrema. El plasma no es una muestra aceptable.

Para obtener resultados correctos de las pruebas, es necesario cumplir estrictamente con la velocidad y la duración correctas de rotación de las muestras y el antígeno.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO^{15,16}

El rendimiento de la prueba de VDRL en portaobjetos se comparó con dos pruebas de reagin plasmática rápida (RPR) en tarjeta y una prueba de absorción de anticuerpos treponémicos fluorescentes (FTA-ABS) para el diagnóstico de la sífilis en un estudio realizado por Perryman, Larsen, Hambie, Pettit, Mullally y Whittington¹⁵. Las muestras de suero recientes obtenidas de 505 personas se analizaron por medio de estos cuatro procedimientos.

De las 505 muestras de suero recientes, 57 sueros fueron reactivos en al menos una de las pruebas no treponémicas. Los tres sueros que dieron resultados dudosos en la prueba de FTA-ABS no se incluyeron en la tabulación. Consultar en la tabla 1 la distribución de los sueros reactivos entre las tres pruebas no treponémicas y la prueba de FTA-ABS¹⁵.

Tabla 1

Patrón de reactividad de las pruebas no treponémicas			Cantidad de sueros con patrón	Cant. de sueros con el siguiente resultado en la prueba de FTA-ABS ^a		
Prueba de RPR en tarjeta		Prueba VDRL en portaobjetos		R B N		
Prueba de RPR N° 1	Prueba de RPR estándar N° 2					
R	R	R	43	38	2	3
N	R	R	1	1		
N	N	R	4	2		2
N	R	N	1	1		
R	R	N	5	5		
R	N	N	1	1		
R	N	R	2	1	1	

^aR, Reactivo; B, dudoso; N, no reactivo

La tabla 2 muestra los diagnósticos asociados con las pruebas no treponémicas reactivas¹⁵.

Tabla 2

Etapa de la sífilis	Cant. de sueros con reacción indicada por la siguiente prueba ^a									
	Prueba de RPR en tarjeta				Prueba de VDRL en portaobjetos			Prueba de FTA-ABS		
	Prueba N° 1		Prueba estándar N° 2		Prueba de VDRL en portaobjetos			Prueba de FTA-ABS		
	R	N	R	N	R	W	N	R	B	N
Primaria										
Sin tratar	5	1	6		4	2		6		
Tratada	7	1	7	1	5	1	2	8		
Secundaria										
Sin tratar	6		6		6			6		
Tratada	5		5		5			5		
Latente										
Sin tratar	9		8	1	8		1	8	1	
Tratada	15	1	15	1	10	3	3	14		2
Historial de sífilis										
Sin tratar	1	1	1	1				2		
Tratada	3	2	2	3	3	2			2	3

^aR, Reactivo; N, no reactivo; W, débilmente reactivo (considerado reactivo en la tabulación); B, dudoso

La sensibilidad de las tres pruebas no treponémicas, basada en los 21 casos de sífilis no tratados, fue del 95,2% (20 de los 21 resultados presentaron concordancia). Con los 31 sueros de personas con tratamiento de sífilis, la sensibilidad de la prueba de VDRL en portaobjetos fue del 83,9% (26 de los 31 resultados presentaron concordancia). La sensibilidad general (de los casos tratados y no tratados) fue del 88,5% para la prueba de VDRL en portaobjetos, comparado con 92,3% para ambas pruebas de RPR en tarjeta.

La especificidad de las tres pruebas no treponémicas basadas en los 453 sueros extraídos de personas que aparentemente no habían sufrido sífilis fue del 99,3% para la prueba de RPR N° 1, 99,6% para la prueba de RPR estándar N° 2 y 98,9% para la prueba de VDRL en portaobjetos¹⁵.

En otro estudio, realizado por Pope, Hunter y Feeley¹⁶ en los Centers for Disease Control en Atlanta, Georgia, EE.UU., se analizaron 297 sueros mediante un análisis de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA), una prueba VDRL en portaobjetos, una prueba FTA-ABS y el análisis de microhemaglutinación para anticuerpos de *T. pallidum* (MHA-TP). La tabla 3 siguiente enumera los niveles de sensibilidad y especificidad de cada método publicado en este estudio¹⁶.

Tabla 3


Prueba	Sensibilidad	Especificidad
ELISA	89.3%	98.5%
VDRL	93.3%	92.7%
FTA-ABS	100 %	97.8%
MHA-TP	76 %	98.2%

DISPONIBILIDAD

N° de Cat.	Descripción
240764	VDRL Antigen con solución tamponada, ampollas de 5 mL con 60 mL de solución salina
240765	VDRL Antigen con solución tamponada, ampollas de 5 mL con 60 mL de solución salina
235201	VDRL Test Control Serum Set, 1 equipo de 3 frascos: Suero reactivo de antígeno no treponémico, 1 frasco de 3 mL VDRL Weakly Reactive Serum, 1 frasco de 3 mL Suero no reactivo de antígeno no treponémico, 1 frasco de 3 mL


REFERENCIAS: Ver "Referencias" en el texto en inglés.

 Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootaja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare


 Use by / Spotřebujte do / Anvendes før / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatósg dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes for / Stosować do / Utilizar em / Použite do / Usar antes de / Använd före
YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) /
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutning af måned) /
JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) /
AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) /
VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) /
AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) /
JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) /
EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) /
ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) /
AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) /
MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mēnesis pabaiga) /
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = sluttet av måneder) /
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) /
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) /
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) /
aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) /
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = sluttet på månaden)


 Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalogusnummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalogové číslo / Número de catálogo


 Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret representant i EU / Erkendt vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitadud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierter EG-Vertreter / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autoriseret representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Representante autorizado en União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU

 In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostiska medicinslinjaparatuur / Lääkinällinen in vitro -diagnostiikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnostikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietais / In vitro diagnostisk medicinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicinska pomôcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo medico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik

 Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperatuurlimiet / Temperatuurpiirang / Lämpötilarajoitus / Temperatura limite / Zulässiger Temperaturenbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ochránenie teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning

 Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch code (Lot) / Chargennummer (lot) / Partii kod / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Кодικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (Sarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (partii)

 Contains sufficient for <n> tests / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkelig til <n> test / Voldoende voor <n> tests / Kõllaldane <n> testide jaoks / Sisältöön riittävä <n> testejä varten / Contenu suffisant pour <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα <n> εξετάσεων / <n> teszthez elegendő / Contenido suficiente per <n> test / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Innholder tilstrekkelig for <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Contém suficiente para <n> testes / Obsah vystačí na <n> testov / Contenido suficiente para <n> pruebas / Räckertill <n> antal tester

 Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultere le istruzioni per l'uso / Skaitkytie naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen

 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, Maryland 21152 USA
800-638-8663

 BENEX Limited
Bay K 1a/d, Shannon Industrial Estate
Shannon, County Clare, Ireland
Tel: 353-61-47-29-20
Fax: 353-61-47-25-46

 BBL™