

## Evaluación de las características funcionales del juego de reactivos VDRL Plus

### Evaluation of the functional characteristics of the set of reagents called VDRL Plus

MSc. Marilín Castro Isaac, MSc. Jorge Cruz Arencibia, Téc. Carmen Rosa Pérez Llerena

Centro de Isótopos. La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** la prueba de VDRL (*venereal disease research laboratories*) es una técnica no treponémica de microfloculación en lámina para la detección cualitativa y semicuantitativa de reagentes plasmáticos. El VDRL Plus es un juego de reactivos que contiene una suspensión antigénica estabilizada (no alcohólica), basada en una mezcla de cardiolipina, colesterol y lecitina en tampón fosfato.

**Objetivo:** determinar un conjunto de parámetros funcionales que caracterizan el desempeño diagnóstico o clínico del juego de reactivo VDRL Plus producido en Centro de Isótopos (CENTIS).

**Métodos:** los parámetros del desempeño diagnóstico evaluados fueron: sensibilidad y especificidad diagnóstica, valores predictivos positivo y negativo, razón de verosimilitud positiva y negativa. Se determinaron además los índices de Youden y de concordancia Kappa. Se emplearon como métodos de referencia TPHA (*Treponema pallidum hemagglutination*) y RPR (*rapid plasma reagin*)-carbón producidos en el CENTIS. Se utilizaron muestras de sueros obtenidas en diferentes instituciones de salud de La Habana y el estudio se realizó con dos lotes del producto.

**Resultados:** para los dos lotes evaluados se obtuvieron valores de sensibilidad de 100 % y de especificidad diagnóstica de 81 y 84 %. Los valores predictivos positivos resultaron de 71 y 75 %, y los negativos de 100 %. Por su parte, las razones de verosimilitud negativas fueron de 0 % y las positivas de 5,3 y 6,3 %, para cada lote estudiado. Los índices de Youden obtenidos (0,84 y 0,81) y la concordancia expresada mediante Kappa muestran que existe una adecuada correlación entre los resultados con el método en evaluación y los de referencia.

**Conclusiones:** las características funcionales evaluadas evidencian que el

diagnosticador VDRL Plus es apto para el uso previsto y que estas son consistentes entre los lotes estudiados.

**Palabras clave:** VDRL, RPR-carbón, sífilis, ensayos no treponémicos.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** the VDRL test (venereal disease research laboratories) is a no-treponemal slide microagglutination test for the qualitative and semi-quantitative detection of plasma reagins in human serum. The VDRL Plus contains non alcoholic stabilized antigen suspension based in cardioliipin, lecithin and cholesterol in phosphate buffer.

**Objective:** to determine a group of functional parameters in the diagnostic or clinical performance of the VDRL Plus set of reagents produced by the Center of Isotopes (CENTIS).

**Methods:** several parameters, such as, sensitivity, specificity, positive and negative predictive values and positive and negative likelihood ratios were evaluated. Likewise, Youden and Kappa indexes were calculated. Two reference methods were employed, that is, TPHA (*Treponema pallidum hemagglutination*) and RPR-Carbon (*rapid plasma reagin*)-carbon, both from CENTIS. Serum samples were collected from several health centers in Havana city. Two different product batches were evaluated.

**Results:** the sensitivity value for both evaluated batches was 100 % and the specificity was 81 and 84 %. The positive predictive values were 71 and 75 % and negative predictive value was 100 %. The positive likelihood ratios were 5.3 and 6.3 % respectively and negative likelihood ratio was 0 % for both batches. The Youden indexes obtained (0.84 and 0.81) and Kappa's indexes showed that there was an adequate correlation between the results obtained and the evaluation and reference methods.

**Conclusions:** the evaluated functional characteristics showed that they are consistent among studied batches and that the VDRL Plus assay is suitable for the intended use.

**Key words:** VDRL, RPR-carbon, syphilis, non-treponemal test.

---

## INTRODUCCIÓN

La sífilis es una enfermedad infecciosa de desarrollo agudo o crónico, causada por *Treponema pallidum* subespecie *pallidum*. Esta enfermedad está considerada como una infección venérea, que se trasmite por el contacto directo con la lesión eruptiva con un período de incubación promedio de 21 días, y que progresa evolutivamente 3 fases clínicas con diferentes síntomas y signos. El diagnóstico microbiológico de la infección puede realizarse por 3 grupos de métodos, los bacteriológicos, los serológicos y las tecnologías de genes. Las pruebas serológicas, en general, se vuelven reactivas pasadas las 3 a 4 semanas desde el inicio de las lesiones y la sensibilidad y especificidad varía según los diferentes estadios de evolución de la enfermedad.<sup>1</sup> Dentro de estas pruebas, se encuentran las no treponémicas usadas para la pesquisa de anticuerpos, entre ellas el VDRL (*venereal disease research*

---

*laboratory*) y el RPR (*rapid plasma reagin*) y las treponémicas utilizadas para confirmar la enfermedad. Las más conocidas son la FTA-ABS (*fluorescent treponemal antibody absorption*) y la TPHA (*T. pallidum hemagglutination*).<sup>2</sup> En la actualidad se desarrollan otras técnicas de avanzada como son los sistemas ELISA, las PCR (*polymerase chain reaction*), y la prueba de aglutinación con partículas de látex.<sup>3,4</sup>

El VDRL es considerado una técnica de microfloculación para la pesquisa de anticuerpos reagínicos plasmáticos presentes en los sueros de los pacientes con sífilis. El procedimiento técnico se realiza en lámina donde se enfrenta la suspensión antigénica (formada por una mezcla de lípidos complejos) a las reaginas presente en el suero, observándose una aglutinación franca e instantánea. Las reaginas son un grupo de anticuerpos (IgM y IgG) dirigidos contra componentes del propio organismo (fosfolípidos, cardiolipina). Estos anticuerpos no son exclusivos de la sífilis porque también son producidos frente a otras bacterias como algunos parásitos y los virus. Pueden aparecer también en individuos que han recibido alguna inmunización reciente, mujeres embarazadas, personas de edad avanzada o las que se hayan sometido a múltiples transfusiones sanguíneas.

El diagnosticador VDRL Plus del Centro de Isótopos (CENTIS) es un juego de reactivos que contiene una suspensión antigénica estabilizada (no alcohólica), formada por una mezcla de cardiolipina, colesterol y lecitina en tampón fosfato.<sup>5</sup> El estuche presenta además dos sueros controles uno positivo y otro negativo, los que verifican la funcionalidad del antígeno y modelan la interpretación de los resultados. Este diagnosticador se produce en CENTIS a partir de materias primas suministradas por la firma comercial Spinreact de España, diferenciándose de la presentación anterior en que la mezcla antigénica está estabilizada y lista para su uso.

Una exigencia de las regulaciones sanitarias vigentes en Cuba, es la evaluación de los productos para diagnóstico *in vitro* previo a su comercialización. En dependencia del tipo de ensayo (cualitativo o cuantitativo) se definen las características del diagnosticador a evaluar.<sup>6-8</sup> El objetivo de este trabajo es determinar los parámetros funcionales del juego de reactivo VDRL Plus producido por CENTIS, que permitan demostrar su desempeño diagnóstico.

## MÉTODOS

Durante el período de enero a abril de 2012 en el laboratorio de Control de Calidad de CENTIS se analizaron 102 muestras de sueros; de estas, 40 de pacientes con sífilis o sospechosos de sífilis con serología VDRL reactiva, y el resto de pacientes sanos, embarazadas, donantes de sangre, ancianos, pacientes con artritis reumatoide y estudiados por otras enfermedades, provenientes de diferentes instituciones de salud de La Habana. Se seleccionaron muestras no lipémicas, sin hemólisis, las que se conservaron a - 20 °C hasta el momento del ensayo. La confirmación de las muestras en positivas y negativas se realizó mediante la técnica no treponémica RPR-Carbón (CENTIS, Cuba) y la de referencia TPHA (CENTIS, Cuba), según instrucciones del productor.

Técnica de TPHA: ensayo de hemoaglutinación indirecta en microplaca para la detección cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos específicos anti- *Treponema pallidum* presentes en el suero humano. La metodología seguida se realizó según lo descrito en la literatura interior del producto.<sup>9</sup> La lectura de los resultados se hizo

observando la presencia o no de hemoaglutinación desde los 45 y hasta los 60 min de iniciada la reacción.

*Técnica de RPR-Carbón:* el método se fundamentó en enfrentar una suspensión estabilizada de cristales de colesterol, cardiolipina, lecitina y partículas de carbón, con el suero del paciente y observar o no la aglutinación. El procedimiento seguido aparece en la literatura interior del producto.<sup>10</sup> La lectura de los resultados se hizo observando la presencia o no de aglutinación a los 8 min de iniciada la reacción.

*VDRL Plus:* se evaluaron los lotes 01101 y 01102, código 1200406. El procedimiento seguido aparece en la literatura interior del producto.<sup>11</sup> Los sueros no se inactivaron durante 30 min a 56 °C. La lectura de los resultados se realizó observando la presencia o no de aglutinación a los 4 min de iniciada la reacción, utilizando un microscopio óptico Olympus con un aumento 100x. A todas las muestras reactivas mediante el ensayo cualitativo se les realizó la prueba semicuantitativa.

Se llevó a cabo la determinación de los factores reumatoides (FR) de todas las muestras para evaluar su posible interferencia en el ensayo y su influencia en la obtención de resultados falsos positivos; para ello se empleó un juego de reactivos FR-Látex producido en CENTIS. Este método se fundamenta en enfrentar una suspensión de partículas de látex acopladas con anticuerpos IgG humanos con el suero del paciente, observando aglutinaciones específicas entre ambos. El procedimiento seguido aparece en la literatura interior del producto.<sup>12</sup> La lectura de los resultados se hizo observando la presencia o no de aglutinación a los 2 min de iniciada la reacción. A todas las muestras positivas mediante el ensayo cualitativo, se les realizó la prueba semicuantitativa.

La funcionalidad de todos los reactivos se comprobó mediante el uso de los sueros controles positivo y negativo, que forman parte de los respectivos productos. Las lecturas se realizaron por dos observadores.

Los parámetros determinados fueron, la sensibilidad, la especificidad diagnóstica, los valores predictivos positivo y negativo, la razón de verosimilitud positiva y negativa y los índices de Youden y de concordancia Kappa, con un intervalo de confianza (IC) de 95 %. La estimación de estos parámetros y el tratamiento estadístico de los resultados se realizó con el programa Epidat 3.1, para el análisis epidemiológico de datos tabulados.

## RESULTADOS

El ensayo VDRL Plus resultó positivo en 46 y 44 sueros con los lotes 01101 y 01102, respectivamente, de estos, 33 fueron confirmados con TPHA. Se obtuvieron 13 y 11 (28 % y 25 %) falsos positivos, de los cuales 6 también resultaron falsos positivos con RPR-carbón; no se obtuvo ningún falso negativo. La concordancia en las lecturas de los 2 observadores fue de 100 %. Se obtuvieron 8 casos con valores de factores reumatoides superiores al límite de detección (8 UI/mL).

En las tablas 1 y 2 se muestran los parámetros de desempeño obtenidos para cada lote de VDRL Plus evaluado.

**Tabla 1.** Parámetros de desempeño del VDRL Plus lote 01101

	Valor	IC (95 %)	
Sensibilidad (%)	100,0	98,5	100,0
Especificidad (%)	81,2	71,2	91,1
Índice de validez (%)	87,3	80,3	94,2
Valor predictivo + (%)	71,7	57,6	85,8
Valor predictivo - (%)	100,0	99,1	100,0
Prevalencia (%)	32,4	22,8	41,9
Índice de Youden	0,8	0,7	0,9
Razón de verosimilitud +	5,3	3,3	8,7
Razón de verosimilitud -	0	-	-

**Tabla 2.** Parámetros de desempeño del VDRL Plus lote 01102

	Valor	IC (95 %)	
Sensibilidad (%)	100,0	98,5	100,0
Especificidad (%)	84,1	74,7	93,4
Índice de validez (%)	89,2	82,7	95,7
Valor predictivo + (%)	75,0	61,1	88,9
Valor predictivo - (%)	100,0	99,1	100,0
Prevalencia (%)	32,4	22,8	41,9
Índice de Youden	0,8	0,8	0,9
Razón de verosimilitud +	6,3	3,7	10,8
Razón de verosimilitud -	0	-	-

La sensibilidad fue de 100 % y la especificidad de 81 % y 84 %. La prevalencia de la infección en este estudio resultó de 32,3 %, se obtuvieron valores predictivos positivos de 72 % y 75 % y negativos de 100 %. Los índices de verosimilitud positivos fueron de 5 % y 6 %, y negativo de 0 %. El índice de validez resultó de 87 % y 89 %, y el índice de Youden de 0,8.

En la tabla 3 se muestran los valores de Kappa para cada lote evaluado.

**Tabla 3.** Valores de Kappa para los lotes 01101 y 01102 del VDRL Plus

Lote	Kappa	IC (95,0 %)	
01101	0,74	0,60	0,87
01102	0,77	0,65	0,89

Se obtuvieron índices de Kappa de 0,74 y 0,77 para cada lote. Según lo reportado en la literatura los índices Kappa con intervalos de 0,61 y 0,80 muestran que existe una buena concordancia entre los resultados de la prueba evaluada con los de referencia.<sup>1</sup>

## DISCUSIÓN

La sensibilidad diagnóstica del VDRL Plus coincide con lo reportado por el proveedor<sup>5</sup> y fue superior a los resultados en estudios de desempeño realizados a productos similares.<sup>13,14</sup> La especificidad diagnóstica fue inferior a lo reportado por el proveedor,<sup>5</sup> debe señalarse que en el referido trabajo la comparación se realizó con un juego de reactivos VDRL del CDC (*Center of Diseases Control*) y no contra las técnicas de referencias de TPHA o RPR utilizados en esta investigación. Este parámetro también fue inferior a los reportados en los estudios de desempeño de productos similares.<sup>13,14</sup> Los valores de especificidad diagnóstica obtenidos están relacionados con la aparición de resultados falsos positivos, atribuibles a diversos factores, entre ellos a la existencia de reagentes presentes en el suero producidas por otras bacterias, virus, etc, sin descartar posibles errores en la interpretación de los resultados por las características de la suspensión antigénica del VDRL Plus, que se observa más gruesa que en otras presentaciones de productos similares. A pesar de haber obtenido falsos positivos, los títulos en estos sueros resultaron ser bajos, y 6 de ellos también fueron falsos positivos por el RPR-Carbón. No se observaron discrepancias en los resultados con el VDRL Plus y RPR-Carbón en las muestras clasificadas como verdaderas positivas y negativas.

La interferencia de factores reumatoides en los falsos positivos se evaluó y se encontraron 8 muestras con valores superiores a 8 UI/mL, cifra que es considerada como límite de detección para este producto. Según criterios del proveedor de las materias primas,<sup>5</sup> valores de FR por encima de 225 UI/mL interfieren en la prueba de VDRL Plus, lo que explica los dos sueros falsos positivos con resultados de FR que superaron esta cifra. Sin embargo, en esta investigación no se realizó un estudio completo de la interferencia de la presencia de los FR en el suero, por lo que no se puede descartar totalmente su influencia en la obtención de otros falsos positivos.

Los valores predictivos positivos no fueron elevados pero sí aceptables para una técnica como el VDRL Plus, utilizada para la pesquisa de anticuerpos. Los resultados obtenidos por el VDRL Plus requieren de una confirmación. La aparición de sueros no reactivos por VDRL Plus no excluye que el paciente tenga la infección, criterio avalado por la estimación de 100 % como valor predictivo negativo.

La razón de verosimilitud combina la información que proviene de la sensibilidad y la especificidad; es definida como la razón entre la probabilidad de un resultado de una prueba en sujetos enfermos y la probabilidad del mismo resultado en sujetos no enfermos. Este parámetro permite saber cuántas veces más probable es que el resultado del ensayo sea positivo en pacientes enfermos que en los no enfermos. De acuerdo con lo obtenido, la probabilidad de un resultado positivo es aproximadamente 5 a 6 veces mayor en los pacientes enfermos que en los no enfermos. Por otra parte, la razón de verosimilitud negativa permite saber cuántas veces es más probable de que el resultado del ensayo sea negativo en pacientes enfermos que en los no enfermos. Se obtuvieron valores de RV- de 0 % para ambos lotes, por lo que la probabilidad de un resultado positivo en pacientes enfermos es nula, lo que le confiere a este diagnosticador mayor valor para detectar no enfermos que para detectar enfermos, siendo los falsos negativos muy improbables. Un buen diagnosticador debe tener una RV- cercana a 0 y una RV+ alta (no es posible especificar un límite superior para la RV+),<sup>15</sup> pero ambos indicadores muestran un desempeño aceptable del diagnosticador.

Los índices de Youden VDRL plus resultan aceptables, porque alcanzan el valor de uno, lo que clasifica al ensayo como prueba diagnóstica ideal.

El VDRL Plus tiene ventajas respecto a otras presentaciones de productos similares. Contiene una suspensión antigénica lista para el uso, por lo que se eliminan los pasos de preparación de la suspensión que son determinantes en el desempeño del producto y su estabilidad (24 meses) permite un mejor aprovechamiento.

Los parámetros funcionales determinados que caracterizan el desempeño diagnóstico del VDRL Plus producido en CENTIS, muestran que este ensayo es adecuado para la aplicación clínica en la pesquisa masiva de reagentes plasmáticos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fuentes A. Diagnóstico serológico de sífilis [citado 7 Ene 2010]. Disponible en: <http://www.fei.es/>
2. Cura E, Wendel S. Manual de procedimientos de calidad para los laboratorios de serología de los bancos de sangre. Washington, DC: PATH/HPC/94.2; 1994. P. 1-25.
3. Sanguineti C. Pruebas de laboratorio en el diagnóstico de sífilis. Dermatología Peruana. 2000;10(Supl 1):1-10.
4. Sáez N, Delgado C, Romero F, Báez RM. El diagnóstico de laboratorio de la sífilis. Rev Cubana Med Gen Integr. 1997;13(1):43-8.
5. Informe técnico del VDRL estabilizado. SPINREACT, SGIT09E 04/11, REV 04; 2011.
6. Evaluación de funcionamiento de los diagnosticadores. Norma Cubana. EN-13612:20051; 2005.
7. Requisitos generales para el registro de los diagnosticadores. Regulación 8. La Habana: CECMED; 2001.
8. Requisitos para la evaluación de desempeño de los diagnosticadores. Regulación 47-07. La Habana: CECMED; 2007.
9. Literatura interior de TPHA, CENTIS, ESP: 7231, Emisión 03, Octubre 2010. La Habana: CENTIS; 2010 [citado 7 Ene 2010]. Disponible en: <http://www.centis.cu/productos.php?idcat=33>
10. Literatura interior RPR-Carbón, CENTIS, ESP: 7172, Emisión 07, Octubre 2008. La Habana: CENTIS; 2008 [citado 7 Ene 2010]. Disponible en: <http://www.centis.cu/productos.php?idcat=33>
11. Literatura interior de VDRL Plus, CENTIS, ESP: 7720, Emisión 07, Marzo 2012. La Habana: CENTIS; 2012 [citado 7 Ene 2010]. Disponible en: <http://www.centis.cu/productos.php?idcat=33>

12. Literatura interior FR-Látex, CENTIS, ESP: 7682, Emisión 08, Octubre 2010. La Habana: CENTIS; 2010 [citado 7 Ene 2010]. Disponible en: <http://www.centis.cu/productos.php?idcat=33>

13. Rodríguez I, Obregón A, Peña A, Rodríguez J. Evaluación del antígeno-RPR elaborado por la Empresa de Productos Biológicos Carlos J. Finlay. Rev Cubana Med Trop. 1999;51(1):63-4.

14. Rodríguez I, Álvarez EL, Fernández C. Aplicación de la hemaglutinación de *Treponema pallidum* en el diagnóstico de la sífilis venérea. Rev Cubana Hig Epidemiol. 2002;40(2):108-11.

15. Knottnerus JA, Leffers P. The influence of referral patterns on the characteristics of diagnostic tests. J Clin Epidemiol. 1992;45:1143-54.

Recibido: 13 de julio de 2012.  
Aprobado: 24 de enero de 2013.

*Marilín Castro Isaac*. Centro de Isótopos (CENTIS). Monumental, km 3 ½ Carretera La Rada. Guanabacoa. La Habana, Cuba. Teléf.: 682-95-63 al 70 ext 141. Correo electrónico: [marilin@centis.edu.cu](mailto:marilin@centis.edu.cu)