

Para uso profesional de diagnóstico in vitro solamente.

INTRUCCIONES DE USO

Syphilis Rapid Test es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral en fase sólida, para la detección cualitativa de anticuerpos IgM, IgG e IgA contra *Treponema pallidum* (Tp) en muestras de sangre total, suero o plasma humano. Este kit está destinado para su uso como una ayuda en el diagnóstico de sífilis.

INTRODUCCION

Sífilis es una infección de transmisión sexual causada por la bacteria *Treponema pallidum* subespecie *pallidum*¹. Los signos y síntomas de sífilis varían dependiendo en función de los 4 estadios que se presenta (primaria, secundaria, latente y terciaria). En la sífilis latente, que puede durar años, hay pocos o ningún síntoma.

La sífilis se transmite principalmente por contacto sexual o durante el embarazo de la madre al feto; la espiroqueta es capaz de atravesar las membranas mucosas intactas o la piel comprometida. La sífilis es una enfermedad de declaración obligatoria en muchos países, como Canadá, la Unión Europea y los Estados Unidos. Aproximadamente entre el 30% y el 60% de las personas expuestas a la sífilis primaria o secundaria contraerán la enfermedad. En el 2015, unos 45.4 millones de personas estaban infectadas con sífilis, con 6 millones de nuevos casos. Sin tratamiento, tiene una mortalidad de 8 % a 58%, con una mayor tasa de mortalidad en los varones. Con un tratamiento temprano, se producen pocas complicaciones.

La sífilis es difícil de diagnosticar clínicamente en su fase inicial. La confirmación se realiza mediante el análisis de sangre o inspección visual directa mediante microscopía. Los análisis de sangre son los más utilizados, ya que son más fáciles de realizar. Debido a la posibilidad de falsos positivos con las pruebas no treponémicas, se requiere la confirmación con una prueba treponémica, como la aglutinación de partículas de *Treponema pallidum* (TPHA) o la prueba de absorción de anticuerpos treponémicos fluorescentes (FTA-Abs). Las pruebas de anticuerpos treponémicos suelen ser positivas entre 2 y 5 semanas después de la infección inicial.

PRINCIPIO

Syphilis Rapid Test (Suero/Plasma/Sangre total) detecta anticuerpos IgM, IgG e IgA contra *Treponema Pallidum* (Tp) a través de la interpretación visual del desarrollo de una banda de color en la tira interna. Antígenos Tp recombinantes específicos (17KDa, 15KDa, 47KDa) se inmovilizan en la región de prueba de la membrana. Durante la prueba, la muestra reacciona con los antígenos específicos recombinantes de Tp conjugado con partículas de oro coloidal y pre cubiertos en la almohadilla de muestra de la prueba. La mezcla luego migra a través de la membrana por acción capilar e interactúa con los reactivos en la membrana. Si hay suficientes anticuerpos contra *Treponema pallidum* (Tp) en la muestra, se formará una banda de color en la región de prueba (T) de la membrana. La presencia de esta banda de color indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. La presencia de una banda de color en la región de control (C) sirve como un control del procedimiento, lo que indica que se ha agregado el volumen apropiado de la muestra y se ha producido la absorción de la membrana de nitrocelulosa

REACTIVOS

Cada prueba consiste en una tira reactiva montada en una cassette de plástico. La cantidad de antígenos recombinantes Tp recubiertos en las regiones de prueba es menor que 0,0004 mg, la cantidad de anti IgG de cabra recubierta en la región de control es de aproximadamente 0,0014 mg. La almohadilla conjugada contiene 0,001 mg de antígenos Tp recombinantes y 0,0005 mg de IgG de cabra junto con partículas de oro coloidal.

MATERIALES

Materiales Proveídos

- 1.- Sobre de aluminio que contiene:
 - a) Dispositivo de prueba (tipo cassette)
 - b) Pipeta (gotero) graduada
 - c) Deseccante
- 2.- 01 Buffer (5 ml); presentación x 25,30 y 40
- 02 Buffer (5 ml); presentación x 50
- 03 Buffer (5 ml); presentación x 100
- 3.- Inserto (manual de instrucciones)

Materiales Requeridos pero No proveídos

- Reloj para el control del tiempo
- Centrifuga

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Para uso profesional de diagnóstico in vitro solamente.
- No utilizar después de la fecha de vencimiento indicada en el paquete. No use la prueba si el sobre de aluminio está dañado. No reutilizar las pruebas.
- Este kit contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patógenos transmisibles.

Por lo tanto, se recomienda que estos productos se traten como potencialmente infecciosos y que se manejen observando las precauciones de seguridad habituales (p. Ej. No ingerir ni hablar).

- Evite la contaminación cruzada de las muestras mediante el uso de un nuevo contenedor de recolección de muestras para cada muestra obtenida.
- Lea todo el procedimiento cuidadosamente antes de realizar la prueba.
- No coma, ni beba ni fume en el área donde se manipulan las muestras y los kits. Use ropa protectora, como batas de laboratorio, guantes desechables y protección ocular cuando se analicen las muestras
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente los resultados.
- Los materiales de prueba utilizados deben descartarse de acuerdo con las reglamentaciones locales

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- El kit debe almacenarse a 2-30°C hasta la fecha de caducidad impresa en el sobre sellado.
- La prueba debe permanecer en el sobre sellado hasta su uso.
- **No congelar.**
- Se debe tener cuidado para proteger los componentes del kit de la contaminación. No lo use si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitación. La contaminación biológica de equipos, dispensadores, contenedores o reactivos puede conducir a resultados falsos.

COLECCIÓN DE LA MUESTRA Y ALMACENAMIENTO

- Syphilis Rapid Test está diseñado para su uso únicamente con muestras de sangre, total, suero o plasma humano.
- Solo se recomienda el uso de muestras claras, no hemolizadas para su uso con esta prueba. El suero o plasma deben separarse lo más pronto posible para evitar la hemólisis.
- Realice las pruebas inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente por periodos prolongados. Las muestras de suero y plasma pueden almacenarse a 2 – 8 °C hasta por 3 días. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de - 20°C. La sangre total recolectada mediante venopunción debe almacenarse a 2-8°C, si la prueba se va a realizar dentro de los 2 días de la toma. No congele las muestras de sangre total. La sangre total recolectada mediante punción digital debe analizarse inmediatamente. Los recipientes que contienen anticoagulantes como EDTA, Citrato o Heparina deben usarse para almacenamiento de sangre total.
- Ponga las muestras a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse por completo y mezclarse bien antes de la prueba. Evite congelar y descongelar repetidamente las muestras.
- Si las muestras deben enviarse, empaquételas de acuerdo con todas las reglamentaciones aplicables para transporte de agentes biológicos.
- Las muestras ictericas, lipémicas, hemolizadas, tratadas térmicamente o contaminadas pueden causar resultados erróneo.

PROCEDIMIENTO

Llevar el dispositivo de prueba, buffer y muestra a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba.

1. Remover el dispositivo de prueba del sobre sellado y usar lo antes posible. Para un mejor resultado, el ensayo debe realizarlo dentro de una hora después de haber obtenido la muestra.
2. Colocar el dispositivo de prueba en una superficie limpia y nivelada. Etiquete la muestra con la identificación del paciente

Para muestras de **sangre venosa total**:

Mantener la Pipeta (gotero) graduada verticalmente y transferir 50 µL (Hasta la primera línea) de sangre total en el pocillo de muestra (S) del dispositivo de prueba, luego **agregar 1 gota de buffer** (aproximadamente 40 µL) e inicie el temporizador.

Para muestras de **sangre total dactilar**

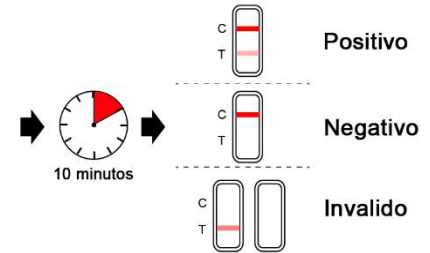
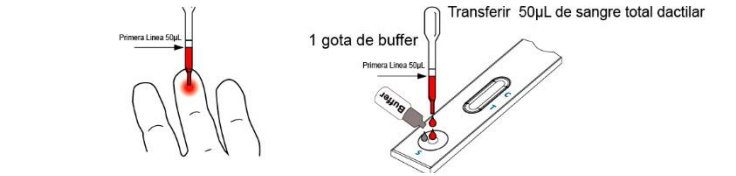
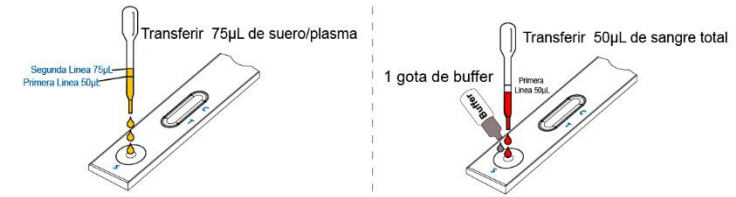
Mantener la Pipeta (gotero) graduada verticalmente y transferir 50 µL (Hasta la primera línea) de sangre total en el pocillo de muestra (S) del dispositivo de prueba, luego **agregar 1 gota de buffer** (aproximadamente 40 µL) e inicie el temporizador.

Para muestras de **suero o plasma**:

Mantener la Pipeta (gotero) graduada verticalmente y transferir 75 µL (Hasta la segunda línea) de suero/plasma en el pocillo de muestra (S) del dispositivo de prueba, e inicie el temporizador.

Evite que queden burbujas de aire en el pocillo de muestra (S), y no agregue ninguna solución en el área de resultados

Esperar a que aparezca la(s) banda(s) de color. Leer el resultado a los 10 minutos. No interpretar el resultado después de los 20 minutos.



INTERPRETACION DE RESULTADOS

POSITIVO: Dos bandas de color se presentan en la membrana. Se presenta una banda de color en la región de control (C) y otra banda de color se presenta en la región de prueba (T).

NEGATIVO: Solo se presenta una banda de color en la región de control (C). No se presenta una banda de color en la región de prueba (T).

INVALIDO: No se presenta banda de color en la región de control (C). Los resultados de cualquier prueba que no presenten banda de color en la región de control (C) en el tiempo de lectura especificado deben descartarse. Por favor, revise el procedimiento y repita con una nueva prueba. Si el problema persiste, suspenda el uso del kit inmediatamente y contacte a su distribuidor local.

NOTE:

1. La intensidad del color en la región de prueba (T) puede variar dependiendo de la concentración de los anticuerpos presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la región de prueba (T) debe considerarse positivo. Tenga en cuenta que esta es una prueba cualitativa solamente y no puede determinar la concentración de anticuerpos en la muestra.
2. Volumen de muestra insuficiente, procedimiento operativo incorrecto o pruebas expiradas son las razones más probables para que la banda de control (C) no presente color.

CONTROL DE CALIDAD

- Un control de procedimiento interno está incluido en cada prueba. Si una banda de color aparece en la región de control (C) se considera un control de procedimiento interno, lo que confirma el volumen suficiente de la muestra y la técnica de procedimiento correcta
- Controles externos no se suministran con este kit. Se recomienda que los controles positivos y negativos se prueben como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de la prueba y para verificar el rendimiento adecuado de la prueba.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. Syphilis Rapid Test (Suero/Plasma/Sangre total) es solo para uso profesional de diagnóstico in vitro y debe usarse para la detección cualitativa de anticuerpos Tp. No debe inferirse ningún significado de la intensidad del color o el ancho de ninguna banda aparente.
2. Syphilis Rapid Test (Suero/Plasma/Sangre total) solo indicará la presencia de anticuerpos Tp en la muestra y no se debe usar como el único criterio para el diagnóstico de infección por Tp.
3. Si el resultado de la prueba es negativo y persisten los síntomas clínicos, se recomiendan pruebas

adicionales con otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye en ningún momento la presencia de anticuerpos *Tp* en sangre, ya que los anticuerpos pueden estar presentes por debajo del nivel mínimo de detección de la prueba.

4. Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, un diagnóstico confirmado solo debe realizarlo un médico después de que se hayan evaluado todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.

5. Pueden producirse falsos resultados reactivos debido a daños en los componentes de la prueba por el calor o la humedad, cuando se sustituyen otros componentes del kit de prueba (por ejemplo, buffer o pipeta) entre kits de prueba.

6. Pueden producirse falsos resultados no reactivos cuando la concentración de anticuerpos contra *T. pallidum* son muy bajos, concentraciones de anticuerpos contra *T. pallidum* son muy altos (efecto gancho), volumen de muestra insuficiente, volumen de muestra añadido, exceso de buffer añadido, daños en los componentes de la prueba por el calor o la humedad.

CARACTERÍSTICAS DE PRESENTACION

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica de Syphilis Rapid Test ha sido verificada con el Estándar Internacional de la OMS para la 1ª IS para IgG plasmática sifilítica humana (código NIBSC 05/122) e IgG+IgM (código NIBSC 05/132). La sensibilidad analítica de Syphilis Rapid Test es de 5 mIU/mL para 05/122, y de 10 mIU/mL para 05/132.

Evaluación clínica:

Evaluación clínica en muestras de suero y plasma.

Se han establecido las prestaciones de Syphilis Rapid Test (Suero/Plasma/Sangre total) en comparación con la TPHA. Un total de 593 muestras de suero y plasma, recogidas de sujetos independientes, fueron analizadas en el estudio. Los resultados de las pruebas se resumieron en la siguiente tabla:

Tabla 1: Evaluación clínica en muestras de suero y plasma

		Syphilis Rapid Test		
		+	-	Total
TPHA	+	246	1	247
	-	3	343	346
		249	344	593

Sensibilidad relativa:
>99.6% (97.8%-99.9%)*
Especificidad relativa:
>99.1% (97.5%-99.8%)*
Concordancia:
>99.3% (98.3%-99.8%)*
***95% Intervalo de confianza**

Evaluación clínica en muestra de sangre total venosa.

Para la validación de las muestras de sangre total venosa, se tomaron 250 muestras de sangre total venosa (EDTA como anticoagulante) con diagnóstico clínico de sífilis positivo y 100 muestras de sangre total venosa negativa. Sangre total venosa (EDTA como anticoagulante) y 100 muestras de sangre total venosa negativa (EDTA como anticoagulante), recogidas de sujetos independientes, fueron incluidos en el estudio. Las muestras de sangre total venosa se recogieron en tubos anticoagulantes con EDTA, y se analizaron con Syphilis Rapid Test (Suero/Plasma/Sangre total) en los 3 días siguientes a la recogida de la muestra. Después de la recogida de la muestra. Las muestras de sangre total venosa se centrifugaron para recoger muestras de plasma para la prueba TPHA. El resultado de la prueba se resumió en la siguiente tabla:

Tabla 1: Evaluación clínica en muestras de sangre total venosa

		Syphilis Rapid Test		
		+	-	Total
TPHA	+	250	0	250
	-	0	100	100
		250	100	350

Sensibilidad relativa:
>99.9% (98.5%-100%)*
Especificidad relativa:
>99.9% (96.3%-100%)*
Concordancia:
>99.9% (98.9%-100%)*
***95% Intervalo de confianza**

Evaluación clínica en muestras de sangre total dactilar

Para la validación de las muestras de sangre total por punción digital, se tomaron 50 muestras de sangre total por punción digital clínicamente diagnosticadas de sífilis, y 50 muestras de sangre total por punción dactilar negativas a la sífilis, obtenidas de sujetos independientes. De sangre total, se incluyeron en el estudio. Mientras tanto, se recogieron muestras de suero de los 100 donantes para la prueba TPHA. Las muestras de sangre total de los dedos se analizaron inmediatamente con Syphilis Rapid Test (Suero/Plasma/Sangre total). Las muestras de suero de estos 100 donantes se sometieron a la prueba de la TPHA para su comparación.

Tabla 1: Evaluación clínica en muestras de sangre total dactilar

Sensibilidad relativa:
>99.9% (92.9%-100%)*
Especificidad relativa:
>99.9% (92.9 %-100%)*
Concordancia:
>99.9% (96.3%-100%)*
***95% Intervalo de confianza**

TPHA

Syphilis Rapid Test

		+	-	Total
TPHA	+	50	0	50
	-	0	50	50
		50	50	100

Evaluación clínica en muestra de sangre total venosa.

Equivalencia del tipo de muestra

Se recogieron cuatro tipos de muestras (suero, plasma, sangre total venosa, sangre total dactilar) de individuos que se sabía que eran positivos para la sífilis (n=50) y de individuos negativos para la sífilis (n=50). Cada espécimen fue confirmado por TPHA. El resultado demostró una concordancia del 100% entre los tipos de muestras y con los resultados esperados en las muestras positivas conocidas para sífilis y en las muestras negativas para sífilis

Equivalencia del tipo de anticoagulante

Para evaluar la equivalencia de tres tipos de anticoagulantes (EDTA, heparina sódica y citrato sódico) en el rendimiento del ensayo, 25 especímenes de sangre total venosa positiva para sífilis, 25 especímenes de plasma positivo para sífilis, 25 especímenes de sangre total venosa negativa para sífilis y 25 especímenes de plasma negativo para sífilis para cada tipo de anticoagulante. Los resultados demostraron que la heparina sódica y el citrato sódico son equivalentes al EDTA para la detección de anticuerpos contra la sífilis.

Substancias de interferencia

El rendimiento del ensayo del Dispositivo de Prueba Rápida de Sífilis no se vio afectado por los siguientes analitos en las cantidades indicadas:

Analitos	Cantidad	Analitos	Cantidad
Acetaminofeno	20 mg/dL	γ globulina	60 g/L
Cafeína	20 mg/dL	HAMA	780.73 IU/mL
Aspirina	20 mg/dL	Metronidazol	701 μmol/L
Acidogentísico	20 mg/dL	Quinina	148 μmol/L
Acidooxalico	60 mg/dL	Rifampina	78.1 μmol/L
Creatina	200 mg/dL	Aspirina	4.34 mmol/L
Metanol	10%	Paracetamol	199 μmol/L
Acido ascorbico	2,000 mg/dL	Ibuprofeno	2,425 μmol/L
Albumina	2,000 mg/dL	Etanol	86.8 mmol/L
Hemoglobina	1,000 μg/dL	EDTA	3.4 μmol/L
Bilirrubina	1,000 mg/dL	Heparina	3,000 U/L
Factor reumatoideo	1,035 IU/mL	Citrato	4%
Acido acetoacético	2,000 mg/dL		

Pruebas de muestras de embarazadas

Para evaluar si el embarazo afectaría al rendimiento del ensayo del dispositivo, se probaron muestras de 100 mujeres embarazadas, incluyendo 30 muestras de sangre total venosa, 30 muestras de plasma y 40 muestras de suero. Los resultados mostraron que el rendimiento del ensayo de Syphilis Rapid Test no se vio afectado por las muestras de embarazadas.

Reactividad cruzada

El rendimiento del ensayo de Syphilis Rapid Test no se vio afectado por las siguientes infecciones: VIH, VHB, VHC, VHA, Tuberculosis, Toxoplasma gondii, Rubéola, CMV, VHS-1, VHS-2, Tifus, Gripe A, Gripe B y Dengue.

LITERATURE REFERENCES

- "Syphilis". CDC. June 4, 2015. Retrieved 3 February 2016.
- "Syphilis - CDC Fact Sheet (Detailed)". CDC. November 2, 2015. Retrieved 3 February 2016.
- Kent ME, Romanelli F (February 2008). "Reexamining syphilis: an update on epidemiology, clinical manifestations, and management". *Annals of Pharmacotherapy*. 42(2): 226–36. PMID 18212261. doi:10.1345/aph.1K086.
- "National Notifiable Diseases". Public Health Agency of Canada. 5 April 2005. Retrieved 2 August 2011.
- Viñals-Iglesias, H; Chimenos-Küstner, E (1 September 2009). "The reappearance of a forgotten disease in the oral cavity: syphilis". *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*. 14 (9): e416–20. PMID 19415060.

- "Table 6.5. Infectious Diseases Designated as Notifiable at the National Level-United States, 2009 [a]". Red Book. Retrieved 2 August 2011.
- Bhatti MT (2007). "Optic neuropathy from viruses and spirochetes". *IntOphthalmolClin*. 47 (4): 37–66, ix. PMID 18049280. doi:10.1097/IIO.0b013e318157202d.
- GBD 2015 Disease and Injury Incidence and Prevalence, Collaborators. (8 October 2016). "Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015.". *Lancet*. 388 (10053): 1545–1602. PMID 27733282.
- Newman, L; Rowley, J; Vander Hooft, S; Wijesooriya, NS; Unemo, M; Low, N; Stevens, G; Gottlieb, S; Kiarie, J; Temmerman, M (2015). "Global Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2012 Based on Systematic Review and Global Reporting.". *PLOS ONE*. 10 (12): e0143304. PMC 4672879 PMID 26646541. doi:10.1371/journal.pone.0143304.
- Eccleston, K; Collins, L; Higgins, SP (March 2008). "Primary syphilis". *International journal of STD & AIDS*. 19(3): 145–51. PMID 18397550. doi:10.1258/ijisa.2007.007258.

GLOSARIO DE SIMBOLOS

	Número de catalogo		Límites de temperatura
	Consultar el Inserto		Lote
	Dispositivo medico de diagnóstico in vitro		Fecha de vencimiento
	Fabricante		No reusable
	Contenido suficiente para <n> ensayos		Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Marcado CE según la Directiva 98/79/CE sobre productos sanitarios IVD		

ECOTEST®

CE

EC REP

Assure Tech. (Hangzhou) Co., Ltd.
Building 4, No. 1418-50, Moganshan Road,
Gongshu District, Hangzhou,
310011 Zhejiang, P.R. China

Lotus NL B.V.
Koningin Julianaplein 10, le Verd,
2595AA, The Hague, Netherlands