

Finalidade . O VDRL (*Veneral Disease Research Laboratory*) é um teste não treponêmico utilizado para determinação qualitativa e semi-quantitativa, de anticorpos não treponêmicos (reaginas) presentes no soro ou plasma, utilizado para triagem sorológica da Sífilis.

[Somente para uso diagnóstico in vitro.]

Princípio . Partículas de colesterol revestidas com cardiolipina e lecitina, reagem com os anticorpos presentes na amostra, resultando em floculação que pode ser observada microscopicamente. A ausência de floculação indica um resultado negativo.

Características do sistema^{1,2} . O reagente VDRL consiste em uma suspensão estabilizada de antígenos, pronta para uso, que utiliza a técnica USR (*Unheated Serum Reagin*), em que não é necessário inativar a amostra. No entanto, o teste pode ser realizado em amostras de soro ou plasma inativadas ou não, o que torna o teste mais versátil.

Os testes não treponêmicos são empregados na triagem sorológica da sífilis e no acompanhamento e avaliação da eficácia do tratamento, visto que apresentam rápida resposta confirmada pela queda de títulos e mesmo pela negatificação.

O produto é rastreável ao Soro de Referência Internacional para testes sorológicos de infecções treponêmicas da Organização Mundial da Saúde (OMS) - Ref. 3-1980.

Metodologia . Teste não treponêmico - reação de floculação

Reagentes

1. **[R 1]** - Suspensão Antigênica - Armazenar entre 2 e 8 °C.

Suspensão de cardiolipina 0,003%, lecitina 0,02%, colesterol 0,09% e azida sódica 14,6 mmol/L em tampão estabilizador. Reagente pronto para uso.

P. **[CONTROL +]** - Controle Positivo - Armazenar entre 2 e 8 °C.

Soro humano contendo anticorpos anti-*Treponema pallidum* e azida sódica 14,6 mmol/L.

N. **[CONTROL -]** - Controle Negativo - Armazenar entre 2 e 8 °C.

Soro humano sem anticorpos anti-*Treponema pallidum* e azida sódica 14,6 mmol/L.

Evitar exposição dos reagentes a temperaturas excessivas. Conservar ao abrigo da luz.

NÃO CONGELAR OS REAGENTES. O congelamento pode causar danos irreversíveis.

Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas, são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo.

Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Precauções e cuidados especiais

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação dos reagentes e das amostras de pacientes.

Sugere-se utilizar técnicas adequadas de laboratório no manuseio dos reagentes para evitar contaminação microbiana. A utilização de ponteiros contaminados pode comprometer o desempenho do teste e a estabilidade da suspensão antigênica. Todos os reagentes devem ser imediatamente fechados após a utilização.

Os componentes do kit devem estar à temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) para realizar o teste. Os reagentes devem ser cuidadosamente homogeneizados em movimentos circulares ou por inversão dos frascos.

Os Controles Positivo e Negativo contêm derivados de sangue humano e foram testados para a presença de HBsAg e anticorpos anti-HCV e anti-HIV utilizando testes aprovados e apresentaram resultados negativos. Como nenhum teste conhecido pode assegurar que produtos derivados de sangue humano não transmitem doenças infecciosas, recomenda-se manuseá-los como sendo potencialmente infectantes seguindo as normas de biossegurança.

Todos os reagentes contêm azida sódica como preservativo. Entretanto, todos os cuidados devem ser tomados para se evitar contaminação microbiana.

A azida sódica é tóxica. Deve-se tomar cuidados para evitar a ingestão e no caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. A azida pode formar compostos altamente explosivos com tubulações de chumbo ou cobre. Utilizar grandes volumes de água para descartar os reagentes.

Lavar exaustivamente a placa escavada com água deionizada e secar a temperatura ambiente. O uso de material contaminado com traços de detergente fornece resultados incorretos e deteriora os reagentes.

Modificações nos volumes recomendados e a introdução de ponteiros contaminados podem comprometer o desempenho do teste e a estabilidade da suspensão antigênica.

Para descartar os reagentes e o material biológico sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Material necessário e não fornecido

1. Microscópio.
2. Placa escavada (Placa de Kline).
3. Pipetas automáticas para dispensar 20 μ L e 50 μ L.
4. Solução salina (0,9% NaCl).
5. Agitador mecânico ajustável a 180 rpm.

Influências pré-analíticas

Amostra

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para colheita, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Utilizar amostras de soro ou plasma fresco colhido em EDTA. As amostras de soro podem ser armazenadas entre 2 e 8 °C por até 48 horas e congeladas em temperaturas abaixo de -20 °C por até 6 semanas. As amostras descongeladas devem ser homogeneizadas antes de realizar o teste. Não congelar e descongelar as amostras repetidas vezes.

Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitem infecções, manuseá-las seguindo as normas estabelecidas para biossegurança.

Para descartar os reagentes e o material biológico sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências

Não utilizar amostras de soro ou plasma hemolisadas, lipêmicas ou com sinais de contaminação química ou microbiana.

Resultado falso positivo pode ocorrer em processos patológicos como doenças autoimunes, malária, viroses, tuberculose, endocardite bacteriana, hanseníase, linfogranuloma venéreo, mononucleose infecciosa, doença hepática, mieloma múltiplo e outras condições como gravidez, idade avançada e utilização de drogas, devido à liberação de antígenos lipídicos que levam à produção de reaginas.

Limitações do teste . A utilização de outras amostras, além de soro ou plasma colhido em EDTA, não está validada pelo teste.

Efeito Prozona . amostra com título de 1/128 foi testada com o reagente VDRL e não foi verificado efeito prozona.

Resultado falso negativo pode ocorrer na sífilis secundária (1% a 2%) devido ao excesso de anticorpos (efeito prozona). Para evitar esta ocorrência, recomenda-se testar todas as amostras sem diluir e diluídas 1:8.

Procedimento

Todos os reagentes devem estar à temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) e devem ser homogeneizados, sem induzir a formação de espuma, antes de realizar o teste.

Teste qualitativo

1. Pipetar 50 μ L da amostra ou dos controles em uma cavidade da placa escavada (placa de Kline).
2. Dispensar 20 μ L da suspensão antigênica sobre a amostra. Não é necessário misturar os dois componentes.
3. Colocar a placa em um agitador mecânico e agitar durante 4 minutos a 180 rpm.

4. Imediatamente após 4 minutos, observar o resultado ao microscópio utilizando o aumento de 100x, comparando o resultado da amostra com os obtidos para os controles positivo e negativo.

OBS . As leituras devem ser realizadas imediatamente após o período de agitação, pois leituras tardias podem apresentar resultados falsos.

Teste semi-quantitativo

1. Preparar diluições seriadas do soro, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 em tubos de ensaio utilizando solução salina (0,9%). Adicionar 0,1 mL de solução salina em cada tubo. Transferir para o 1º tubo 0,1 mL da amostra que apresentou teste qualitativo positivo. Misturar e transferir 0,1 mL do 1º para o 2º tubo, misturar e transferir 0,1 mL do 2º para o 3º tubo e assim sucessivamente até o 5º tubo. Obtém-se diluições 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, respectivamente.

2. Pipetar 50 μ L das diluições em cada cavidade da placa escavada (placa de Kline).

3. Dispensar 20 μ L da suspensão antigênica sobre a amostra. Não é necessário misturar os dois componentes.

4. Colocar a placa em um agitador mecânico e agitar durante 4 minutos a 180 rpm.

5. Imediatamente após 4 minutos, observar o resultado ao microscópio utilizando o aumento de 100x, comparando o resultado da amostra com os obtidos para os controles positivo e negativo.

6. Será considerado como título a maior diluição da amostra que apresentar aglutinação microscópica. Se a aglutinação estiver presente até 1/32, continuar as diluições a partir do 5º tubo e prosseguir com o teste.

Resultados e interpretação

Teste qualitativo

Reativo: Agregados médios e grandes.

Reativo Fraco: Agregados finos dispersos.

Não Reativo: Ausência de agregados, aspecto homogêneo.

Teste semi-quantitativo . O título corresponde à última diluição que apresenta um resultado positivo.

Os controles Positivo e Negativo devem ser analisados em cada conjunto de testes. Se os resultados obtidos para os controles forem divergentes, os resultados das demais amostras devem ser considerados inválidos.

Um resultado reativo fraco ou duvidoso deve ser repetido.

Resultado positivo indica a necessidade de realização de teste específico para a confirmação da presença do *treponema*, conforme Portaria Nº - 3.242, de dezembro de 2011³.

Controle interno da qualidade . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os objetivos, procedimentos, normas, critérios para limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. A utilização dos controles negativo e positivo em todos os conjuntos de testes é fundamental para verificação do desempenho do sistema.

Características do desempenho⁴ . Seiscentos e setenta e cinco (675) amostras de soro, com resultados positivos e negativos, foram testadas pelo Centro de Referência de Sífilis no Laboratório de Saúde Pública de Bristol.

| Método Comparativo | VDRL | |
|--------------------|----------|----------|
| | Positivo | Negativo |
| Negativo | 0 | 645 |
| Positivo | 30 | 0 |

A análise estatística mostrou os seguintes resultados:

Sensibilidade: 100%

Especificidade: 100%

Eficiência: 100%

Estudos de precisão

Repetitividade - imprecisão intraensaio . A imprecisão intraensaio foi verificada pela avaliação de 10 replicatas de duas amostras, sendo uma reativa e outra não reativa. Os resultados encontrados, reativos e não reativos, mostraram uma perfeita concordância com os resultados esperados.

Reprodutibilidade - imprecisão total . A imprecisão interensaio foi verificada em 12 avaliações independentes utilizando cem (100) amostras com reatividades conhecidas. Os resultados negativos e positivos encontrados mostraram uma perfeita concordância com os resultados esperados.

Significado clínico^{5, 6, 7, 8} . A sífilis é uma doença infecto-contagiosa causada pelo *Treponema pallidum*. É transmitida principalmente pela via sexual, mas também, pode ser transmitida verticalmente (sífilis congênita) durante a gestação e por transfusão sanguínea.

O USPSTF (U. S. Preventive Services Task Force) recomenda a triagem de rotina para detecção da sífilis em todas as mulheres grávidas e em pessoas com alto risco de infecção. Os testes não-treponêmicos, *Veneral Disease Research Laboratory* (VDRL) ou *Rapid Plasma Reagin* (RPR) são utilizados para triagem inicial, seguidos de testes confirmatórios, como *Fluorescent Treponemal Antibody Absorbed* (FTA-ABS), *Treponema pallidum Haemagglutination Test* (TPHA) ou ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), em caso de resultado positivo.

De acordo com o USPSTF a sensibilidade diagnóstica estimada dos testes de RPR e VDRL é de 78 a 86 % na detecção da sífilis primária, 100% na detecção da sífilis secundária e 95 a 98 % na detecção de sífilis latente. A especificidade diagnóstica varia de 85 a 99 % e pode estar reduzida em indivíduos que apresentam outras condições preexistentes, como por exemplo, doença vascular do colágeno, gravidez, uso de drogas injetáveis, doença maligna avançada, tuberculose, malária e doenças virais, podendo assim, apresentar resultados falso-positivos.

A doença apresenta evolução que alterna períodos de atividade com características clínicas, imunológicas e histopatológicas distintas (sífilis primária, secundária e terciária) e períodos de latência recente e tardia. Nos casos em que o diagnóstico é realizado em até um ano após a infecção, é classificada como sífilis recente, e nos casos em que o diagnóstico é realizado após um ano, é classificada como sífilis tardia.

A prova do VDRL ou RPR positiva-se entre cinco e seis semanas após a infecção e entre duas e três semanas após o surgimento do cancro primário. Portanto, pode estar negativa na sífilis primária. As determinações semi-quantitativas do VDRL ou RPR, expressas em títulos, geralmente se elevam até o estágio secundário, apresentando assim alta sensibilidade nesta fase. Após o primeiro ano da doença os títulos tendem a diminuir, podendo a reatividade desaparecer mesmo sem tratamento. Deste modo, nas formas tardias a sensibilidade diminui. Após o tratamento adequado da infecção o teste tende a negativar-se entre 9 - 12 meses, podendo a reatividade em baixos títulos ($\leq 1:8$) permanecer por vários anos ou por toda a vida. Esta reatividade residual denomina-se "memória" ou "cicatriz" sorológica.

Observações







1. O laboratório clínico tem como objetivo fornecer resultados exatos e precisos. A utilização de água de qualidade inadequada é uma causa potencial de erros analíticos. A água deionizada ou destilada utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes, usar nas medições e para uso no enxágue final da vidraria, a água deve ter resistividade ≥ 1 megaohm.cm ou condutividade ≤ 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L. Quando a coluna deionizadora está com sua capacidade saturada ocorre liberação de vários íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando os resultados de modo imprevisível. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

2. Para uma revisão das fontes fisiopatológicas e medicamentosas de interferência nos resultados e na metodologia sugere-se consultar Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 3ª edição, Washington: AACC Press, 1990.

Referências

1. Manual of Tests for Syphilis. PHS Nº 411, US. Govt. Printing Office, 1969.
2. Wasley, GD. Genitourin Med. 1985; 61: 88-94.
3. Ministério da Saúde, Portaria Nº- 3.242, de 30 de dezembro de 2011.
4. Labtest: Dados de Arquivo.
5. Avelleira JCR, Bottino G. An Bras Dermatol. 2006; 81(2): 111-26.
6. Peeling RW, Ye H. Bulletin of the World Health Organization. 2004, 82(6):439-445.
7. U.S. Preventive Services Task Force. Guide to Clinical Preventive Services, 2nd ed. Washington, DC: Office of Disease Prevention and Health Promotion; 1996.
8. U.S. Preventive Services Task Force. Ann Intern Med. 2009; 150: 710-716.

Apresentação

| Produto | Referência | Conteúdo |
|---------|------------|---|
| VDRL | 119-250 |  1 X 5,0 mL |
| | |  1 X 0,5 mL |
| | |  1 X 0,5 mL |
| VDRL | 119-500 |  1 X 10,0 mL |
| | |  1 X 0,5 mL |
| | |  1 X 0,5 mL |

Informações ao consumidor

[Termos e Condições de Garantia]

A Labtest Diagnóstica garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.

Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296 / 0001 - 38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP 33400-000

Lagoa Santa, Minas Gerais Brasil - www.labtest.com.br
























Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 34 11 (Ligação Gratuita)
e-mail: sac@labtest.com.br

Edição: Maio, 2011
Ref.: 221112

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro . Symbols used with ivd devices

| | | | | | | | |
|--|---|---|---|---|--|---|---|
|  | Conteúdo suficiente para < n > testes Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests |  | Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use |  | Controle Control Control |  | Tóxico Tóxico Poison |
|  | Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy) |  | Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number |  | Controle negativo Control negativo Negative control |  | Reagente Reactivo Reagent |
|  | Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material |  | Adições ou alterações significativas Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes |  | Controle positivo Control positivo Positive control |  | Fabricado por Elaborado por Manufactured by |
|  | Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material |  | Produto diagnóstico in vitro Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device |  | Controle Control Control |  | Número do lote Denominación de lote Batch code |
|  | Limite de temperatura (conservar a) Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at) |  | Liofilizado Liofilizado Lyophilized |  | Risco biológico Riesgo biológico Biological risk |  | Período após abertura Elaborado por Period after-opening |
|  | Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community |  | Corrosivo Corrosivo Corrosive |  | Marca CE Marcado CE CE Mark | | |

Ref.: 201112 |