

Laboratório Municipal de Ibiporã	Procedimento Operacional Padrão SÍFILIS - VDRL	Página 1 de 5 POPIMU 02 Revisão: 02
---	---	--

SÍFILIS - VDRL

FUNDAMENTO

Reação de floculação entre a suspensão antigênica do VDRL (antígenos não treponêmicos) e as reaginas presentes na amostra analisada.

A suspensão antigênica do VDRL é constituída de lecitina, colesterol e cardiolipina e tem semelhança imunológica com os antígenos do *Treponema pallidum*.

APLICAÇÃO CLÍNICA

A sífilis é uma doença sexualmente transmissível cujo agente causal é a espiroqueta *Treponema pallidum*.

As vias de transmissão da doença são:

- a) contato sexual (principal via).
- b) transfusão de sangue infectado, hoje praticamente eliminado através de triagem sorológica de rotina;
- c) transmissão pela placenta, da mãe para o feto, durante a gestação (sífilis congênita).

O período de incubação varia de duas a quatro semanas. A lesão primária da sífilis é caracterizada pelo cancro duro, geralmente nos órgãos genitais, enquanto os gânglios linfáticos regionais ficam duros e indolentes.

O período secundário manifesta-se de 6 a 8 semanas após a infecção e apresenta uma exantema cutâneo generalizado (erupções cutâneas chamadas roséolas sífilíticas) e raramente pústulas e nódulos; alterações das mucosas (placas) na boca e na faringe. Sem tratamento, os exantemas continuam reincidentes durante 2 a 3 anos. Seguem anemia grave com linfocitose, esplenomegalia e hepatomegalia.

Sem tratamento, cerca de um terço dos pacientes apresenta sífilis terciária entre o terceiro e o quinto ano, após a infecção, que pode manifestar-se como gomas na pele (15%), sífilis cardiovascular (10%) ou neurosífilis (8 a 10%).

Os testes sorológicos para sífilis são classificados como:

- a) não treponêmicos, usados mais comumente para triagem, como o VDRL (Venereal Disease Research Laboratory), RPR (Rapid Plasma Reagin);
- b) treponêmicos, usados como testes confirmatórios para os soros reativos nos testes de triagem, como o TPHA (Treponema pallidum Hemagglutination), FTA-Abs (Fluorescent Treponemal-Absorption) e ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

Significado Clínico

O método é indicado como triagem. O diagnóstico não deve ser baseado somente no resultado laboratorial, devendo ser correlacionado com os sinais e sintomas dos pacientes. Pacientes com infecção sífilítica tratada podem apresentar resultados positivos em títulos baixos (cicatriz sorológica). O VDRL pode ser utilizado para acompanhar a terapêutica, pela rápida resposta apresentada pela queda de títulos ou mesmo pela negatificação.

AMOSTRA

Laboratório Municipal de Ibiporã	Procedimento Operacional Padrão SÍFILIS - VDRL	Página 2 de 5 POPIMU 02 Revisão: 02
---	---	--

Preparo do Paciente

Como a lipemia pode interferir na reação, recomenda-se a coleta de sangue pela manhã após jejum de 8 horas.

Amostras utilizadas

Soro, Plasma (não inativos) ou Líquor (LCR).

Não utilizar amostras hemolisadas ou lipêmicas para evitar floculação inespecífica. Não é preciso inativar o soro.

Estabilidade e armazenamento da amostra

A amostra é estável por 5 dias entre 2-8°C.

REAGENTE UTILIZADO

RPR BRÁS

Registro no Ministério da Saúde: 100.970.10010/ 100.970.10030 (frasco)

Componentes do kit

Conservar entre 2-8 °C. Não congelar.

- 1. Suspensão Antigênica** - Contém solução alcoólica de cardiolipina, colesterol, lecitina e timerosal a 0,1% como conservante. Pronta para uso.
- 2. Controles positivo e negativo.**

Estabilidade

O reagente é estável até o vencimento da data de validade impressa no rótulo e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedado e se evite a contaminação durante o uso.

Precauções e Cuidados Especiais

- 1- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- 2- Recomendamos o uso das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste.
- 3- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- 4- A Suspensão Antigênica contém timerosal que é tóxica se ingerida.
- 5- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

EQUIPAMENTOS

- Solução salina a 0,9%;
- Agitador rotativo;
- Microscópico;
- Placa escavada de kline;
- Tubos e pipetas;

Laboratório Municipal de Ibioporã	Procedimento Operacional Padrão SÍFILIS - VDRL	Página 3 de 5 POPIMU 02 Revisão: 02
--	---	--

PROCEDIMENTO

Procedimento Técnico Manual

- 1- Deixar a Suspensão Antigênica estabilizar a temperatura ambiente antes de utilizá-la. Homogeneizar bem.
- 2- Para evitar efeito prozona sugerimos que o teste qualitativo seja realizado com soro, plasma ou líquido céfalo-raquidiano (LCR) puro e diluído a 1/8 com solução salina 0,9%.

Teste Qualitativo

Objetivo: para triagem e eliminação de amostras não reagentes.

Técnica de Análise

1. Pipetar 50 µL da amostra na primeira cavidade da placa escavada.
2. Pipetar 50 µL de solução fisiológica (NaCl 0,85%) estéril nos círculos de 2 a 4 da placa de kline;
3. Pipetar 50 µL de amostra no círculo 2;
4. Misturar o soro e a solução fisiológica no círculo 2 por aspiração 8 vezes;
5. Transferir 50 µL do círculo 2 para o círculo 3 e homogeneizar, transferir igual quantidade do círculo 3 para o círculo 4, desprezando os últimos 50 µL; obtendo-se as diluições 1:2, 1:4 e 1:8 respectivamente para os círculos.
6. Adicionar 50 µL de controle positivo no poço 5 e controle negativo no poço 6
7. Adicionar 20 µL da Suspensão Antigênica homogeneizada nas cavidades contendo a amostra (círculo 1), na diluição 1:8 (círculo 4), no controle positivo (círculo 5), no controle negativo (círculo 6).
8. Não é necessário misturar esses dois componentes.
9. Agitar a lâmina durante 4 minutos a 100 rpm.
10. **Imediatamente** após 4 minutos, observar ao microscópio.

CÁLCULOS

Não aplicável.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Reação negativa

Ausência de agregados (grumos). Suspensão de aspecto homogêneo.

Reação positiva

Presença de médios e grandes agregados.

Teste Semi-Quantitativo

Se positivo na amostra pura (círculo 1) e negativo na diluição 1:8 (círculo 4)

1. Adicionar 20 µL da Suspensão Antigênica nos círculos 2 e 3
2. Agitar a lamina durante 4 minutos a 180 rpm
3. Imediatamente observar resultado em microscópio em objetiva de 10x.

Se positivo na amostra pura (círculo 1) e positivo na diluição 1:8 (círculo 4)

Laboratório Municipal de Ibiporã	Procedimento Operacional Padrão SÍFILIS - VDRL	Página 4 de 5 POPIMU 02 Revisão: 02
---	---	--

1. Pipetar 50 µL de solução fisiológica (NaCl 0,85%) estéril nos círculos de 1 a 6 da placa de kline;
2. Pipetar 50 µL de amostra no círculo 1;
3. Misturar o soro e a solução fisiológica no círculo 1 por aspiração 8 vezes;
4. Transferir 50 µL do círculo 1 para o círculo 2 e homogeneizar, transferir igual quantidade do círculo 2 para o círculo 3, e prosseguir até o círculo 6; obtendo-se as diluições 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 respectivamente para os círculos.
5. Adicionar 1 gota da Suspensão Antigênica homogeneizada nas cavidades 4, 5 e 6 contendo as diluições. Não é necessário misturar esses dois componentes.
6. Agitar a lamina durante 4 minutos a 180 rpm
7. Imediatamente observar resultado em microscópio em objetiva de 10x.
8. Se positivo na diluição 1:64, continuar as diluições até não ser observada aglutinação

RESULTADO do Teste

REAGENTE

Reportar como “Amostra analisada reagente até o título (Indicar o título)”;

NÃO REAGENTE

Reportar como não reagente

LIMITAÇÕES DA METODOLOGIA

Podem ocorrer reações falso-positivas com o produto SÍFILIS-VDRL em condições como: imunizações, infecções, gravidez, malária, doenças auto-imune (lupus eritematoso sistêmico etc), doenças malignas, etc.

Se o teste for positivo deve-se realizar um teste confirmatório específico para treponema.

CONTROLE DA QUALIDADE

Periodicidade

A cada bateria de testes deve-se testar os controles positivo e negativo que acompanham o conjunto.

VALORES DE REFERÊNCIA

Não Aplicável.

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE

Sensibilidade Clínica ou diagnostica

100% de sensibilidade – Foram realizados testes em 25 amostras do controle de qualidade sabidamente positivas para sífilis.

Todos os resultados foram satisfatórios, não apresentando falso-negativos.

Especificidade Clínica ou diagnóstica

100% de especificidade – Foram realizados testes em 25 amostras do controle de qualidade sabidamente negativas para sífilis.

Laboratório Municipal de Ibioporã	Procedimento Operacional Padrão SÍFILIS - VDRL	Página 5 de 5 POPIMU 02 Revisão: 02
--	---	--

Todos os resultados foram satisfatórios, não apresentando falso-positivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Luger, A.: Diagnosis of syphilis. Bul World Health Org., 59,5:654-654, 1981.
2. Taylor, L.C.: Serologic evaluation of syphilis. Bul. Mason Clinic, 33:131.
3. Fiumura, N.J.: Biologic false-positive VDRL tests. JAMA, 223: 1167, 1973.
4. Stewart Jr. , T.W.: Interpretating serologic tests for syphilis. AFO, 26 (2): 157, 1982.
5. Bryant, N.J.: Sorological tests for syphilis. Laboratory Immunology and Serology. W.B. Saunders Company 1978.
6. RPR BRÁS. Disponível em: http://www.laborclin.com.br/produtos/550100/550182_bl.pdf. Acesso em 09/07/2012 às 16:31

	Nome	Assinatura	Data
Elaborado por:			__/__/__
Aprovado por:			__/__/__
Implantado por:			__/__/__
Substitui POP:			
Revisado por:			__/__/__
Revisado por:			__/__/__
Revisado por:			__/__/__
Desativado por:			__/__/__
Razão:			
Número		Destino	
Cópias			