

1. FINALIDADE:

O VDRL é um teste não treponêmico que utiliza como antígeno a cardiolipina, que não é específico para os antígenos do *Treponema pallidum*, mas apresenta-se elevado na sífilis. O VDRL é uma reação de floculação, apresentando alta sensibilidade e baixa especificidade. A sensibilidade varia de acordo com a fase da sífilis. É um teste semiquantitativo cujas titulações são obtidas através de diluições seriadas do soro, sendo o título final a última diluição que apresentar reatividade no teste.

2. PRINCÍPIO DO MÉTODO:

Quando a suspensão antigênica do VDRL é misturada com o soro ou plasma que contenham anticorpos (reaginas), as partículas de antígeno floculam e o resultado da reação é observado ao microscópio. Presença de floculação indica um resultado positivo e ausência de floculação indica um resultado negativo.

3. REAGENTES E APRESENTAÇÃO:

APRESENTAÇÃO REAGENTE	CÓDIGO	VOLUME
250 DETERMINAÇÕES SUSPENSÃO ANTIGÊNICA (5ML).	2420	1x5mL
750 DETERMINAÇÕES SUSPENSÃO ANTIGÊNICA (3x5mL) CONTROLE POSITIVO E NEGATIVO.	5540	3x5mL 1x1mL 1x1mL
EXP - VDRL 3X5ML + CONTROLE (750 DET.)	5746	3x5mL 1x1mL 1x1mL

4. COMPOSIÇÃO:

Antígeno	
Cardiolipina	0,003g
Lecitina	0,023g
Colesterol	0,090g
Água Purificada	100mL

Soro controle positivo	
Soro controle de origem Humana	q.s.p.
Água Purificada	100mL

Soro controle negativo	
Soro controle de origem Humana	q.s.p.
Água Purificada	100mL

A formulação pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho do produto.

5. ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE-DE DOS REAGENTES:

- Este produto deve ser armazenado em temperatura de 2 a 8 °C, imediatamente após seu recebimento.
- O produto mantém sua estabilidade durante o transporte, desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 5 dias.
- Não congelar.

6. AMOSTRAS:

Soro, plasma ou líquido cefalorraquidiano (LCR), livre de hemólise, lipemia e contaminação. Em caso de necessidade, as amostras podem ser conservadas no máximo por 4 a 6 semanas no freezer à -20 °C.

7. MATERIAIS NECESSÁRIOS (não fornecidos)

Tubos de ensaio para diluição e titulação, pipetas sorológicas, estante para tubos e rack de ponteiras, recipientes para descarte do material, placa escavada, Agitador Orbital, Salina a 0,9%.

8. PREPARAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES SUSPENSÃO ANTIGÊNICA:

- A suspensão antigênica é pronta para uso.
- Antes de utilizar deixar que a suspensão adquira temperatura ambiente.
- Homogeneizar antes de usar.
- Estável entre 2-8°C até a data do vencimento.
- Não congelar.

Obs.: O Kit mantém o mesmo desempenho após a primeira utilização e é estável até a data de validade descrita no rótulo, desde que seja mantido na temperatura indicada (2 a 8°C).

9. PROCEDIMENTO TÉCNICO:

a. Teste Qualitativo

Objetivo: para triagem e eliminação dos soros não reagentes.

- Deixar os reagentes, os controles e as amostras atingirem a temperatura ambiente antes de processar o teste;
- homogeneizar a suspensão antigênica cuidadosamente, através de movimentos suaves de rotação, antes de processar o teste;
- A amostra de soro será processada "in natura" e diluída para evitar o efeito prozona: Diluição do soro 1/8 em salina: 350 µl de salina (NaCl 0,9%) + 50 µl de soro;
- Em uma placa Kline (fundo escavado), identificar a sequência de adição da mistura nos poços (do lado esquerdo superior), conforme indicado no Quadro 1.

	Controle negativo	Controle positivo	Amostra 1	Amostra diluída (1/10)
CONTROLE (-)	50µL	-----	-----	-----

CONTROLE (+)	-----	50µL	-----	-----
Soro "in natura"	-----	-----	50µL	-----
Soro diluído (1/8)	-----	-----	-----	50µL
Suspensão antigênica	20µL	20µL	20µL	20µL

- Homogeneizar cada mistura (soro + suspensão antigênica) com a própria ponteira;
- Colocar a placa em um agitador mecânico (Kline) e agitar por 4 minutos a 180 rpm;
- Observar a reação ao microscópio dentro de 1 minuto, usando a lente objetiva com aumento de 10x, considerando:
- Amostras não reagentes: apresentam uma mistura homogênea de amostra e antígeno;
- Amostras reagentes: apresentam floculação de antígeno visíveis ao microscópio e às vezes a olho nu;
- Os resultados reagentes devem ser quantificados, de acordo com o item b).

b. Teste Semiquantitativo

- Em uma placa Kline (fundo escavado), identificar a sequência de adição da mistura nos poços (do lado esquerdo superior), conforme indicado no Quadro 2.

*	1	2	3	4	5	6
Salina (NaCl 0,9%)	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Soro	50 µl	50 µl 1/2	50 µl 1/4	50 µl 1/8	50 µl 1/16	50 µl 1/32
Suspensão Antigênica	20 µl	20 µl	20 µl	20 µl	20 µl	20 µl
Diluição	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Título	2	4	8	16	32	64

- Homogeneizar cada mistura (soro + suspensão antigênica) com a própria ponteira;
- Agitar por 4 minutos a 180 rpm em agitador de Kline;
- Observar a reação ao microscópio dentro de 1 minuto, usando a lente objetiva com aumento de 10x;
- O título é considerado a mais alta diluição que apresenta reatividade (exemplo: se a amostra é reativa até 1/16, este será o título).

Procedimento para amostra de LCR (líquor)

- Para amostras de líquido não é necessário realizar o teste com LCR diluído na triagem. Para melhorar a sensibilidade do teste, diluímos a suspensão antigênica na proporção 1:1, 25µl da suspensão antigênica + 25µl de NaCl 10% (10g de NaCl em

- 100 mL de água destilada). Caso haja forte indicação de neurosífilis recomenda-se preparar um maior volume para posterior titulação (80µl da suspensão antigênica + 80µl de NaCl 10%). Homogeneizar suavemente essa mistura por aproximadamente 5 minutos;
- Transferir 50µl de amostra e 20µl da suspensão antigênica diluída para um poço da placa de Kline e coloca-la no agitador por 4 minutos a 180 rpm;
- Observar a reação ao microscópio dentro de 1 minuto, usando a lente objetiva com aumento de 10x, considerando:
- Amostras não reagentes: apresentam uma mistura homogênea da amostra de LCR e antígeno;
- Amostras reagentes: apresentam floculação de antígeno visíveis ao microscópio;
- Caso a amostra seja reagente, determinar seu título de acordo com o Quadro 3.

*	1	2	3	4	5	6
Salina (NaCl 0,9%)	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
LCR	50 µl	50 µl 1/2	50 µl 1/4	50 µl 1/8	50 µl 1/16	50 µl 1/32
Suspensão Antigênica	20 µl	20 µl	20 µl	20 µl	20 µl	20 µl
Diluição	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Título	2	4	8	16	32	64

- Homogeneizar cada mistura (soro + suspensão antigênica diluída) com a própria ponteira;
- Agitar por 4 minutos a 180 rpm em agitador de Kline;
- Observar a reação ao microscópio dentro de 1 minuto, usando a lente objetiva com aumento de 10x;
- O título é considerado a mais alta diluição que apresenta reatividade.

10. RESULTADOS

Podem ocorrer reações falso-positivas com o VDRL em condições como: imunizações, infecções, gravidez, malária, doenças autoimunes (lúpus eritematoso sistêmico e etc.), doenças malignas etc. Se o VDRL for positivo deve-se realizar um teste confirmatório, específico para treponema.

DESEMPENHO DO TESTE

O ImunoTest Sífilis apresentou sensibilidade e especificidade satisfatórias, em 103 amostras verdadeiramente positivas, o produto apresentou floculação de 1+ a 4+. Em 146 amostras verdadeiramente negativas, o produto apresentou ausência de floculação.

11. CONTROLE DE QUALIDADE:

- Materiais necessários: Controles fornecidos com o conjunto e amostras de controle da rotina com títulos conhecidos;
 - Periodicidade: Recomenda-se que ao se abrir o conjunto, os reagentes sejam testados utilizando-se os controles que acompanham o conjunto e amostras de controle conhecidas.
 - A cada bateria de testes deve-se testar os controles que acompanham o conjunto.
 - Interpretação e avaliação: Espera-se que os controles negativos não apresentem floculação, e os positivos deverão apresentar floculação.

12. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- Caso as recomendações da bula não sejam seguidas rigorosamente pelo usuário, interpretações equivocadas ou ainda riscos de acidentes com o produto podem ocorrer. Algumas situações podem ser críticas e o usuário deverá se atentar, com a finalidade de evitar instabilidade do produto e consequentemente resultados falso reagentes ou não reagentes.
- Os resultados obtidos com o Imunotest Sífilis VDRL devem ser interpretados utilizando o microscópio obrigatoriamente;
- A análise pode apresentar variação entre as leituras de amostras, mesmo considerando a mesma amostra e lote de reagente.
- Dependendo da matéria-prima utilizada na fabricação do reagente, a aspereza pode sofrer variação, por isto não se recomenda comparar os resultados obtidos com o Imunotest Sífilis VDRL com demais marcas do mercado por método de floculação.
- A leitura da suspensão pode apresentar visualizações mais delicadas ou grosseiras, dependendo da característica da matéria-prima utilizada na fabricação do lote. Recomenda-se sempre a análise comparativa com os controles negativos e positivos para exclusão de qualquer dúvida interpretativa;
- Não se recomenda a utilização de detergente glicerinado no procedimento de limpeza das lâminas, esta medida pode gerar visualizações mais grosseiras dos resultados negativos.

Interferentes

- Dentre os interferentes da reação de maior ocorrência estão os fatores ligados a amostra, tais como hemólise, lipemia e contaminação;

Sensibilidade e Especificidade, conforme literatura:

	Sensibilidade	Especificidade
Sífilis primária	80%	-
Sífilis secundária	100%	-
Sífilis latente	95%	-
Não-Sífilis	-	99%

Sensibilidade e Especificidade do Kit Renylab:

	Sensibilidade	Especificidade
Kit Renylab	100%	99,5%
Requisito RDC n° 36, de 26/08/2015.	100%	99,0%

Efeito prozona

- É a ausência de reatividade em uma amostra que, embora contenha anticorpos não treponêmicos, quando testada sem diluir, ou mesmo em baixas diluições, apresenta resultado não reagente. Esse fenômeno decorre da relação desproporcional entre quantidade dos antígenos e dos anticorpos presentes na reação não treponêmica, gerando resultados falso-negativos. Ocorre nas amostras de doentes com sífilis, em virtude da elevada quantidade de anticorpos presentes. Esse fenômeno não é observado nos testes treponêmicos. É observado principalmente na sífilis secundária, fase em que há produção de grande quantidade de anticorpos.

Resultados falso-positivos nos testes

Podem ocorrer em diferentes situações e tendem a apresentar títulos baixos nos testes não treponêmicos.

Resultados falso-positivos podem ser permanentes:

- Em portadores de lúpus eritematoso sistêmico;
- Na síndrome antifosfolípídica e em outras colagenoses;
- Na hepatite crônica;
- Em usuários de drogas ilícitas injetáveis;
- Na hanseníase;
- Na malária.

Resultados falso-positivos podem também ocorrer transitoriamente:

- Em algumas infecções;
- Após vacinações;
- Uso concomitante de medicamentos;
- Após transfusões de hemoderivados;
- Na gestação e em idosos.

Cicatriz sorológica e baixos títulos

Cicatriz sorológica é o termo utilizado para as situações nas quais o usuário, comprovadamente tratado, ainda apresenta reatividade nos testes. Nestes casos, os testes treponêmicos são geralmente reagentes e os testes não treponêmicos quantitativos apresentam baixos títulos.

Pode ser um erro considerar títulos baixos apenas como cicatriz sorológica ou como reação falsamente positiva. Só é possível determinar que se trata de cicatriz sorológica quando for comprovado que o usuário teve sífilis e realizou tratamento adequado.

Atenção títulos baixos também são encontrados

- Na sífilis primária, quando os anticorpos estão circulando em baixas concentrações.
- Na sífilis latente não tratada.

Negativação dos testes não treponêmicos

Quanto mais precoce for o tratamento após a infecção, mais rapidamente haverá desaparecimento dos anticorpos circulantes, com a consequente negativação dos testes não treponêmicos ou ainda sua estabilização em títulos baixos. Para a maioria dos usuários tratados, espera-se que haja reversão dos resultados, e que os testes se tornem não reagentes entre 6 e 30 meses após o tratamento. Entretanto, na sífilis tratada tardiamente os testes podem nunca se negativar, persistindo a detecção de anticorpos em títulos baixos.

A sorologia quando se apresenta repetidamente reagente em títulos baixos em usuários corretamente tratados não tem significado clínico.

Segundo a literatura, os títulos diminuem cerca de quatro vezes após três meses e oito vezes aos seis meses após o tratamento.

13. PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- A suspensão antigênica do VDRL contém timerosal como conservante que pode ser tóxica se ingerida. Somente para diagnóstico in vitro. Não usar após data de validade. Seguir as boas práticas laboratoriais (BPLs) na conservação, manuseio e descarte dos materiais.
- Descartar o produto e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

- Observar a correlação da versão das instruções de uso e o produto adquirido, conforme disponibilizado no site: www.renylab.ind.br.

14. GARANTIA DA QUALIDADE:

A RenyLab obedece ao disposto na Lei 8.078/90, Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário:

- Que o usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento.
- Que os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas.
- Que os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.
- Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento.
- Os certificados de análise de cada lote poderão ser obtidos no site www.renylab.ind.br.
- Em caso de dúvidas, problemas de origem técnica, ou necessidade de obtenção dos mesmos em formato impresso entrar em contato com o SAC (Serviço de Atendimento ao Consumidor) através do telefone (32) 3331-4489 ou pelo e-mail sac@renylab.ind.br.
- Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da RenyLab, assim como o envio de documentos em formato não impresso, serão enviados sem custos adicionais ao cliente.

15. DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto: Telefax: (32) 3331-4489 sac@renylab.ind.br

Nº DO LOTE, DATA DE VALIDADE – VIDE RÓTULO

16. TERMO DE GARANTIA

A RenyLab garante a troca deste produto, desde que o mesmo esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado por sua Assessoria Técnica que não houve falhas na execução, manuseio e conservação deste produto. A RenyLab e seus distribuidores não se responsabilizam por falhas no desempenho de produtos sob essas condições.

17. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Luger, A.: Diagnosis of syphilis. Bul. World Health Org., 59(5): 647, 1981.
2. Taylor, L.C.: Serologic evaluation of syphilis. Bul. Mason Clinic, 33: 131, 1979-80.
3. Fiumara, N.J.: Biologic false positive VDRL tests. JAMA, 223: 1167, 1973.
4. Stewart Jr., T.W.: Interpreting Serologic Tests por syphilis. AFT, 26(2) 157, 1982.
5. Bryant, N.J.: Serological tests for syphilis. Laboratory Immunology and Serology, W.B.Saunders Company, 1978.

18. FABRICADO E DISTRIBUÍDO POR:

RenyLab Química e Farmacêutica Ltda.

Rodovia BR 040 km 697 Caiçaras.



CEP: 36.205-666 - Barbacena - MG – Brasil. Tel.: 55 32 3331-4489 CNPJ: 00.562.583/0001-44.

Site: www.renylab.ind.br

Responsável técnico: Renata Carvalho Vaz de Mello.

CRF-MG: 12126

19. SIMBOLOGIA

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Limite de temperatura (conservar a)