

Aula 3

Reação de VDRL em amostras de líquido

A realização do VDRL em amostras de líquido é uma ferramenta fundamental para o diagnóstico da sífilis congênita ou da neurosífilis.

Para analisar amostras de líquido, o preparo do antígeno sofre algumas modificações, conforme você verá nesta aula. Mas, antes, fique atento às orientações a seguir.

- Somente o VDRL pode ser utilizado para testar amostras de líquido.
- Não teste amostras de líquido com conjuntos diagnósticos que não tenham sido padronizados para a utilização nesse tipo de amostra.
- Antes de realizar o teste, certifique-se de que o *kit* de que você dispõe permite testar amostras de líquido.
- Leia as instruções do fabricante do produto antes de iniciar o teste.

Cuidados com a amostra de líquido para fazer o VDRL

A amostra de líquido deve ser centrifugada, a fim de sedimentar e remover hemácias ou contaminações bacterianas que podem estar presentes e causar interferência no teste.



A amostra de líquido não precisa ser inativada para a realização do VDRL.

Amostras de líquido turvas após a centrifugação, ou com hemólise, não são adequadas para o teste VDRL. Nesses casos, solicite uma nova amostra.

Se não for possível obter nova amostra, e se houver concordância do médico que estiver assistindo o indivíduo, pode-se fazer um teste treponêmico. No entanto, se esse teste for reagente, deve-se obrigatoriamente fazer o VDRL para o acompanhamento do tratamento.

Procedimentos do VDRL em amostras de líquido

1. Preparo da suspensão antigênica modificada para uso em amostras de líquido

Materiais necessários:

- Suspensão antigênica de VDRL preparada conforme está detalhado na ação 3 e validada de acordo com a ação 6, na aula 2.
- Solução de NaCl 10% (10 g de NaCl em 100 mL de água destilada).
- Erlenmeyer de 25 mL com tampa de vidro esmerilhado.
- Pipetas de volume ajustável entre 1,0 mL e 5,0 mL ou pipetas de vidro de 2 mL.
- Pera ou macrocontrolador de pipetagem para pipetas de vidro.
- Recipiente para descarte de ponteiros ou recipiente com água e sabão neutro para colocar as pipetas de vidro utilizadas.
- Cronômetro.
- Caneta para escrever em vidro.
- Protocolo de trabalho.

Como fazer?

- a)** Misture, em um Erlenmeyer, uma parte de solução de NaCl 10% com uma parte da suspensão antigênica do VDRL previamente preparada e validada para utilização com amostras de soro.
- b)** Para testar entre uma e cinco amostras de líquido, misture 1,5 mL de NaCl 10% com 1,5 mL da suspensão antigênica.
- c)** Homogeneize a mistura por meio de suaves movimentos de rotação. Deixe a mistura descansar ao menos 5 minutos antes do uso.
- d)** Identifique o Erlenmeyer: “Suspensão antigênica para VDRL em líquido”, horário e data do preparo.
- f)** Utilize a suspensão em até 2 horas após o preparo. Depois desse período, se houver necessidade de testar outras amostras de líquido, prepare uma nova suspensão antigênica.

2. O teste de VDRL qualitativo em amostras de líquido

Materiais necessários:

- Suspensão antigênica modificada.
- Solução salina (NaCl 0,9%).
- Seringa de vidro de 1 mL com agulha de calibre 22 G calibrada para 50 gotas com 0,5 mL da suspensão antigênica ou pipeta de 10 μ L.
- Lâmina de vidro escavada com círculos côncavos de 14 mm de diâmetro e 1,75 mm de profundidade (lâminas de Kline).
- Agitador orbital, tipo Kline, ajustado para 180 ± 2 rpm.
- Microscópio óptico comum (objetiva 10X e ocular 10X).
- Pipetas de volume ajustável entre 50 μ L e 200 μ L.
- Ponteiras descartáveis para volumes entre 50 μ L e 200 μ L.
- Caixa para descarte de ponteiras.
- Recipiente de vidro para descontaminação de produtos biológicos, contendo solução aquosa de hipoclorito de sódio (uma parte de água sanitária comercial mais quatro partes de água) ou contendo álcool 70% (peso a peso – p/p).
- Caneta para escrever em vidro.
- Cronômetro.
- Protocolo de trabalho.



Para calibrar a agulha utilizada para pipetar a suspensão antigênica do VDRL no líquido você deve seguir os mesmos procedimentos detalhados anteriormente na ação 4 (aula 2) para o VDRL. Observe ainda que:

- o calibre da agulha é de 22 G;
- a agulha estará calibrada se você contar 50 gotas (± 1) para cada 0,5 mL de suspensão antigênica modificada, correspondente a 10 μ L por gota.

Como fazer?

Organize seu protocolo de trabalho.

DADOS DO SERVIÇO			
Instituição:			
Kit:	Lote:	Data de Validade: / /	
Fabricante:			
Responsável pelo teste:			Data de realização: / /

VDRL LIQUOR QUALITATIVO			
Lâmina escavada de Kline			
CONTROLES		AMOSTRA 1	AMOSTRA 2
			
NEGATIVO	POSITIVO		
AMOSTRA 3	AMOSTRA 4	AMOSTRA 5	AMOSTRA 6
			
AMOSTRA 7	AMOSTRA 8	AMOSTRA 9	AMOSTRA 10

Assinale nos círculos o resultado: R (reagente) ou NR (não reagente).

Confira os procedimentos do VDRL qualitativo em amostras de líquor no passo a passo a seguir.

- 1** Pipete 50 μ L do líquor em uma demarcação da lâmina escavada de Kline.
- 2** Cuidadosamente, faça a homogeneização da suspensão antigênica modificada.
- 3** Pipete 10 μ L da suspensão antigênica modificada na demarcação da lâmina que contém o líquor.
- 4** Coloque a lâmina no agitador orbital durante 8 minutos, com agitação de 180 rpm.
- 5** Faça a leitura da reação em microscópio óptico, com objetiva de 10X e ocular de 10X, imediatamente após o término da agitação.
- 6** Se não for observada floculação na amostra, a reação é negativa e o laudo pode ser emitido. Caso haja floculação na amostra de líquor puro, a reação é positiva. Neste caso, para determinar o título é necessário fazer a reação quantitativa por meio da diluição seriada do líquor em solução salina.

Reação de VDRL quantitativa no líquido

Faça seu protocolo de trabalho e confira os procedimentos do VDRL quantitativo em amostras de líquido no passo a passo a seguir.

- 1** Faça diluições seriadas do líquido seguindo os mesmos procedimentos apresentados na ação 8 da aula 2.
- 2** Use a suspensão antigênica modificada para fazer o VDRL quantitativo em líquido. Utilize 10 μ L de suspensão antigênica modificada. A reação deverá ser agitada, por 8 minutos, a 180 rpm.
- 3** A reação estará finalizada quando for possível estabelecer a última diluição do líquido que ainda apresentar reatividade. Esta corresponderá ao título que será reportado como o resultado final do teste.

Diferenças entre VDRL no soro e VDRL no líquido		
	VDRL no soro	VDRL no líquido
Modificação da suspensão antigênica	Não	Sim
Estabilidade da suspensão antigênica	8 horas	2 horas
Volume da suspensão antigênica	17 μ l	10 μ l
Tempo de agitação da reação	4 minutos	8 minutos
Tipo de lâmina	Plana	Escavada

Quadro 1 – VDRL no soro e no líquido



Os testes de floculação só devem ser realizados em ambientes com temperatura ambiente entre 23°C e 29°C.

Temperaturas fora dessa faixa desestabilizam a reação, o que pode gerar resultados falso-positivos ou falso-negativos.

Referências

LARSEN, S.A., POPE, V., JOHNSON, R.E., KENNEDY, JR., E.J. A Manual of Tests for Syphilis. Washington: **APHA**, 1998, 361p. 9ª edição

LARSEN S.A., STEINER, B.M., RUDOLPH, A.H. Laboratory Diagnosis and Interpretation of Tests for Syphilis. Clin. Microbiol. Rev., Washington, v.8, n.1, p.1-21, 1995.

BERRY, C.D.; HOOTEN, T.M.; COLLIER, A.C.; LUKEHART, A.S. Neurologic relapse after benzathine penicillin therapy for secondary syphilis in a patient with HIV infection. **N Engl J Med**.1987; 316:1587-1589.

CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION (CDC). Recommendations for Partner Services Programs for HIV infection, Syphilis, Gonorrhea and Chlamydia infections. **Morbidity and Mortality Wkly Rep**, Recomm Rep. 57(RR-9): 1-93, 2008.