



AVALIAÇÃO QUALITATIVA DO TESTE VDRL E ENSAIO IMUNOCROMATOGRÁFICO NA TRIAGEM DE SÍFILIS EM DOADORES DE SANGUE¹

Cynara Melo Gato², Maria do Perpetuo Socorro Borges Carriço Ferreira³ e Luana Kelly Lima Santana⁴

Submetido 10/03/2014 – Aceito 29/04/2014 – Publicado on-line 19/07/2014

RESUMO

Apesar de ser conhecida há séculos, a Sífilis, uma doença infecciosa crônica, é diagnosticada mais tarde e com custo relativamente alto. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de dois testes rápidos usados para o diagnóstico da Sífilis: o VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*) e o Imunocromatográfico (IC). O IC tem a função de ser um método de confirmação de casos de sífilis indicados pelo VDRL. O número de amostra foi de 46.739 doações de sangue coletadas no Hemocentro do Amazonas (HEMOAM), em 2011, das quais apenas 407 foram reagentes pelo teste VDRL e destas, somente 248 analisadas pelo IC, para confirmar o diagnóstico. Os resultados mostraram que 0,87 % dos doadores de sangue têm Sífilis, identificados por VDRL, em que 20,2 % são do sexo feminino e 66,1 % do sexo masculino. A diferenciação observada em VDRL não foi confirmada pelo IC. Para o IC foram reativas 148 amostras de 248 submetidas a esse método, correspondendo a 60,0%, ou seja, 40% destas foram falso-positivas pelo VDRL. Os resultados confirmaram que 51,7 % do sexo feminino e 62,2 % do sexo masculino tinham sífilis, pelo IC. Os resultados permitem recomendar o IC, método de baixo custo, como ferramenta importante na triagem de bolsas sanguíneas para detecção por Sífilis, atualmente realizada somente pelo VDRL, método pouco específico e, que reconhecidamente reproduz resultados de cerca de 40,3% de falsos positivos, como resultado deste estudo.

Palavras-chave: Diagnóstico rápido; Confirmação de falsos positivos, Hemocentros.

ABSTRACT

Despite being known for centuries, Syphilis, a chronic infectious disease is diagnosed later and relatively high cost. The aim of this study was to evaluate the efficiency of two rapid tests used for the diagnosis of syphilis: VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*) and immunochromatographic (IC). The IC has the function of being a method of confirmation of cases of syphilis by VDRL indicated. The sample number was 46,739 blood donations collected at the Blood Center of Amazonas (HEMOAM), in 2011, of which only 407 were reactive for VDRL and of these, only 248 analyzed by IC, to confirm the diagnosis. The results showed that 0.87 % of blood donors have syphilis, identified by VDRL, in which 20.2% are female and 66.1 % male. The differentiation observed in VDRL was not confirmed by IC. For IC 148 were reactive samples of 248 submitted to this method, corresponding to 60.0 %, ie 40 % of these were false positive by the VDRL. The results showed that 51.7 % of females and 62.2 % males had syphilis, by IC. The results indicated that the IC , low-cost method as an important tool in screening of blood bags for syphilis detection , currently held only by the VDRL method rather specific and which reproduces known results about 40.3 % false positives as a result of this study.

Key-words: Rapid diagnosis; Confirmation of false positives, Blood centers.

¹ Trabalho de conclusão de curso apresentado a Universidade Paulista (Campus Manaus) como obtenção do título de bacharel em Farmácia do primeiro autor.

² Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brasil.

³ Instituto de Ciências da Saúde. Universidade Paulista (UNIP), Manaus, AM, Brasil. (Campus Manaus)

⁴ Centro de Atendimento Psicossocial Infante Juvenil Leste (CAPSi Leste), Secretaria Municipal de Saúde de Manaus (SEMSA), Manaus, AM, Brasil. E-mail: luana.lima.santana@gmail.com

1. Introdução

A transmissão da Sífilis, uma doença congênita, ocorre por contato direto com feridas, relação sexual (vaginal, anal ou oral) e, de forma rara, por transfusão sanguínea (AVELLEIRA et al., 2006).

Segundo dados do Ministério da Saúde a taxa de incidência vem aumentando consideravelmente no Brasil (Figura 1). Particularmente na região Norte a incidência em gestantes é maior do que nas demais regiões do país. Apesar da redução na incidência no Estado do Amazonas em relação ao país e região Norte, a taxa ainda é relativamente alta.

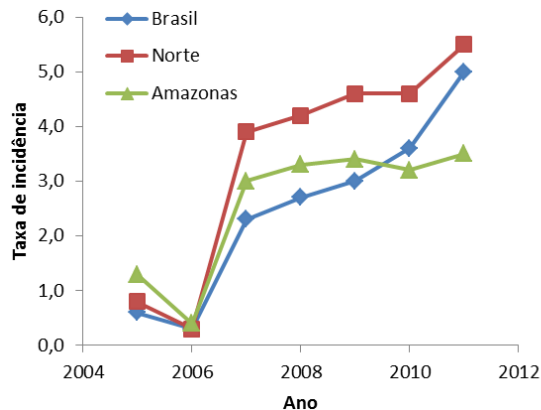


Figura 1. Taxas de detecção de sífilis em gestantes (por 1.000 nascidos vivos) no Brasil, na região Norte e no Estado do Amazonas de 2005 a 2011 (Fonte: MS, 2012).

Em sua grande maioria os dados reportados na literatura tratam basicamente sobre a Sífilis congênita. Esse fato é justificado por essa doença ser considerada problema de saúde pública em praticamente todos os países, principalmente os emergentes com taxas de incidências cada vez mais crescentes. Por outro lado, a transfusão de sangue, que se dá somente pela realização de exames pós-doação, não tem muitos dados relatados sobre a incidência de casos de Sífilis, além de ter suas estatísticas restritas apenas aos órgãos competentes, geralmente os Hemocentros.

Os exames pós-doação são pré-requisito para a seleção de doadores (GARDELLA et al., 2002). A Portaria N° 1.353 de junho de 2011 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determina que sejam realizados testes obrigatórios de triagem sorológica nos serviços de hemoterapia para Sífilis. Os testes de detecções

de anticorpo antitreponêmico ou não-treponêmico são recomendados.

Os testes não-treponêmicos são aqueles de floclulação e que detectam anticorpos inespecíficos, denominados de reaginas, produzidos pelo organismo em resposta a antígenos fosfolipídicos presentes na superfície dos treponemas (SAEZ-ALQUÉZAR, 2007).

Dentre os não-treponêmicos o mais utilizado é o *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL), usado em amostras de líquido e de soro (HARRIS, ROSEMBERG & DEL VECHIO, 1948).

Existem ainda outros como o *Rapid Plasma Reagin* (RPR), utilizado em amostras de soro e plasma e as modificações do VDRL como o *Unheated Serum Reagin* (USR) e o *Toluidine Red Unheated Serum Test* (TRUST) (SAEZ-ALQUÉZAR, 2007).

Os testes não-treponêmicos possuem característica de baixo custo e sensibilidade de 78-86%, na fase inicial da infecção, o que gera resultados falso-positivos biológicos (RFP), podendo também apresentar resultados falso-negativos (RFN) na presença de excesso de anticorpos na amostra analisada, conhecido como fenômeno de pró-zona (SAEZ-ALQUÉZAR, 2007).

A literatura mostra que doenças autoimunes, determinadas infecções bacterianas, virais, algumas protozooses e situações, dentre as quais gravidez, idade avançada e drogadicção podem liberar antígenos lipídicos que produzem reaginas. Nesses casos, são encontrados resultados falso-positivos para Sífilis (VAZ et al., 1997).

Em contrapartida os métodos conhecidos como antitreponêmicos ou apenas treponêmicos, podem ser representados pelos métodos de imunofluorescência indireta (*fluorescent treponemal antibody absorption test* - FTA abs), hemaglutinação (*Treponema pallidum Hemagglutination Assay* - TPHA), Enzimaimunoensaio (ELISA), *Western blotting* (WB) e testes rápidos (partículas de látex ou imunocromatográficos - IC) (SAEZ-ALQUÉZAR, 2007).

O método de imunofluorescência indireta (FTA abs) reage após bloqueio de anticorpos não específicos, e que estejam presentes no soro com treponemas saprófitas, como o de Reiter. É um método de alta



sensibilidade e especificidade quando comparado a outros testes não-treponêmicos e indicado para pesquisa de imunoglobulinas das classes G e M (SAEZ-ALQUÉZAR, 2007).

O teste de hemaglutinação indireta (TPHA) utiliza hemácias recobertas por componentes antigênicos de *Treponema pallidum*, apresenta sensibilidade e especificidade comparáveis ao teste de FTA-abs (SAEZ-ALQUÉZAR, 2007). Podendo ser utilizado em substituição ao FTA-abs, quando este não puder ser implantado.

Os métodos imunoenzimáticos (ELISA) utilizam suportes sensibilizados com antígenos totais de *Treponema pallidum* (SAEZ-ALQUÉZAR, 2007).

Os testes treponêmicos não são muito utilizados em procedimentos de triagem, sob a alegação de terem menor sensibilidade do que os não-treponêmicos durante as primeiras semanas da infecção. Embora, já se discuta em alguns estudos que os testes treponêmicos, que pesquisam anticorpos IgG e IgM, vêm apresentando elevada sensibilidade, igual ou superior à dos testes não-treponêmicos na fase inicial da infecção (LEFEVRE et al., 1990; YOUNG et al. 1998 e 2000).

Em muitos Hemocentros e outros laboratórios de hemoterapia, o FTA abs ainda é considerado como teste confirmatório para o diagnóstico da sífilis. Também se utilizam testes como o WB e ELISA IgM que possuem melhor sensibilidade, com índices de especificidade (100%) e sensibilidade (93,8% a 98,5%) para o primeiro (BYRNE et al., 1992; DETTORI et al., 1989). Dessa forma considerados padrão ouro.

O teste rápido imunocromatográfico (IC) é utilizado para detectar anticorpos específicos contra antígenos treponêmicos em soro e pode ser usado para detecção de sífilis em pacientes tendo diagnóstico epidemiológico, clínico e laboratorial, com doenças sexualmente transmissíveis e indivíduos sadios ou com resultados negativos nos testes sorológicos para sífilis (SATO et al., 2003).

No laboratório de Sorologia do HEMOAM é realizada a triagem dos doadores de sangue com VDRL. Os resultados com titulação > 1/16 do VDRL são considerados reativos, titulações menores são tratadas como falso positivo (SIGNORINI et al., 2007). Em

vista disso, o Laboratório de Sorologia encaminha todas as amostras reativas até diluição 1/8 para fazer IC. Este método tem a vantagem de ser fácil e de rápida execução, sem necessidade de equipamentos e o resultado pode ser obtido em 15 minutos (SATO et al., 2003).

Este trabalho tem por objetivo demonstrar a viabilidade do uso da combinação dos métodos VDRL e IC na rotina de triagem de doadores de sangue para o diagnóstico da Sífilis.

2. Material e métodos

A metodologia se baseia na comparação diagnóstica de bolsas de sangue reativas para a Sífilis entre os meses de janeiro a dezembro de 2011, do total de 46.739 coletadas no HEMOAM. As amostras foram divididas em dois grupos, sexo masculino com 36.483 e sexo feminino 10.256. As amostras foram analisadas pelo Laboratório de Sorologia (HEMOAM) pelo teste de VDRL com kits OMEGA DIAGNOSTICS, Lotes 7027983, 7029083, 7030816, 7029679 e 703063. O processamento das amostras seguiu as orientações dos fabricantes dos kits.

Para o teste de VDRL, as amostras foram diluídas até 1/16. Os resultados com titulação > 1/16 do VDRL são considerados reativos, titulações menores são tratadas como resultado falso-positivo (SIGNORINI et al., 2007). Em vista disso, o Laboratório de Sorologia da Fundação HEMOAM encaminha todas as amostras reativas até diluição 1/8 à realização do teste complementar. Os resultados para detecção de Sífilis pelo VDRL foram divididos em dois grupos: Reativo e Não reativo.

Das 407 amostras reagentes para VDRL com titulações de até 1/8, somente 248 amostras foram encaminhadas para a confirmação diagnóstica com IC.

Para o IC foi utilizado o kit BIOEASY Lote 039032 com validade em 01-02-2012.

As bolsas reativas (VDRL⁺ e IC⁺) foram descartadas conforme procedimento de Gerenciamentos de Resíduos do Laboratório.

2. Resultados

A Tabela 1 mostra que do total de 46.739 amostras, 407 (0,87%) foram reativas para Sífilis pelo VDRL. Dessas 82 (20,2%)

correspondem a amostras positivas do sexo feminino e 269 (66,1%) para o sexo masculino, ficando um total de 56 amostras (13,7%) impossibilitadas de serem identificadas quanto sua reatividade. As 46.332 amostras não-reativas para Sífilis pelo VDRL corresponderam a um percentual de 99,1% e também foram classificadas de acordo com o sexo, sendo 10.100 (21,8%) do sexo feminino e 36.232 (78,2%) do sexo masculino.

Do total das 407 amostras positivas, somente 248 amostras foram submetidas ao IC, conforme justificativa da metodologia quanto às diluições, e destas, 148 apresentaram reatividade e 100 amostras não foram reativas. Dessa forma confirmando a positividade para Sífilis de 60,0%, ou ainda, em 21,0% de doadores do sexo feminino e 79,1% de doadores do sexo masculino naquele ano.

Tabela 1. Resultados dos testes de VDRL e IC para amostras reativas (R) e não reativas (NR)

Método	Amostra	Total	Sexo	
			Fem.	Mas.
VDRL	R	407	82	269
	NR	46.332	10.100	36.232
IC	R	148	31	117
	NR	100	29	71

Comparando os dois métodos constata-se que os percentuais são reproduzíveis entre si, conforme mostrado na Figura 2.

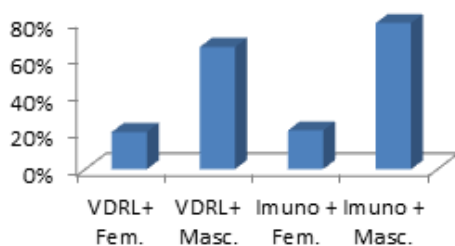


Figura 2. Resultados positivos de Sífilis pelos métodos do VDRL e IC por sexo.

4. Discussão

O número de amostras reativas no IC para doadores homens foi de 79,1%, percentagem que confirmou o resultado reativo de 66,1% no teste de VDRL. Ribeiro; Souza e Pinto (2007) descrevem em seu trabalho a

reação de VDRL como não específica, podendo estar positiva em outras treponematoses e, em várias outras situações.

Os resultados obtidos nas amostras de mulheres demonstram um percentual de reativos confirmados com IC de 21,0% e de 20,2% para o teste de VDRL.

Em relação ao total de positivos pelo VDRL de 407, considerando 248 amostras encaminhadas ao IC como valor integral de amostras positivas pelo VDRL e, verificando-se que somente 148 destas foram confirmadas pelo IC (reativo-positivas), nota-se um percentual de 40,3% das amostras eram falso-positivas pelo VDRL. Foram confirmados 50,67% dessas amostras pelo IC.

Neste trabalho foi observado que os dados expostos comparam, somente em nível de percentual de amostras positivas por sexo, o VDRL, um teste de triagem padrão, com IC e, demonstram reprodução do percentual detectado pelo primeiro e confirmado pelo segundo, somente nesta condição, pois se comparando o total de amostras analisadas observa-se que um percentual de 40,3% que foi identificado como positiva pelo VDRL, foi descartado pelo IC, como amostras negativas.

Observou-se ainda um pequeno percentual de resultados indeterminados 0,49% no IC e um percentual (0,21%) de não reativos ou falsos positivos no teste confirmatório equivalente ao descarte de bolsas de sangue por Sífilis no HEMOAM no ano de 2011.

O teste de VDRL prevalece como teste de rotina em alguns bancos de sangue, mesmo com suas limitações de resultados falso-positivos e menor sensibilidade quando comparado aos testes treponêmicos.

Apesar de o IC indicar que existem somente 51,7% do sexo feminino e 62,2% do sexo masculino com Sífilis, este método só é utilizado, na maioria das vezes, em situações emergenciais. Os resultados referentes ao uso do IC na identificação da Sífilis em pacientes portadores de doenças sexualmente transmissíveis mostraram ser eficiente (SATO et al., 2003), o que reforça o uso desse método como rotina na triagem em doadores de sangue. Além disso, o problema de falso-positivos referente à identificação da Sífilis pelo VDRL e corrigido pela aplicação do IC tem sido relatado na literatura (AMARAL, 2012). Mesmo assim, o IC é considerado



apenas um método recomendado para ser usado em países em desenvolvimento, como uma reposta rápida à identificação de casos de Sífilis (CRUZ et al., 2011).

Devido, na grande maioria dos hemocentros, o VDRL e outros como ELISA e o FTA-ABS estarem entre os mais utilizados para diagnóstico confirmatório de Sífilis, não há como realizar uma comparação eficaz entre os dados desse estudo e o que se observa nos demais hemocentros, porém, com os resultados obtidos confirma-se que a combinação do VDRL com o ensaio Imunocromatográfico na triagem de doadores é uma alternativa viável para atestar os resultados positivos para Sífilis.

5. Conclusão

O uso do IC como teste confirmatório, além de não resultar em grandes aumentos orçamentários, traz como benefício a confirmação de resultados falso-positivos pelo VDRL, método ainda usado na triagem e que não possui grande especificidade. Os resultados mostraram que a combinação do VDRL e IC é eficiente para garantir a confiabilidade da triagem dos diagnósticos de Sífilis, diminuindo a incerteza dos resultados positivos e falsos positivos. Além disso, a aplicação do IC não aumenta os custos finais dos testes sorológicos.

Agradecimento

Ao HEMOAM por ter fornecido os dados que possibilitaram a realização deste trabalho.

Divulgação

Este artigo é inédito. Os autores e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista *Scientia Amazonia* detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

Referências

AVELLEIRA, J.C.R., BOTTINO, G. Sífilis: diagnóstico, tratamento e controle. **Anais Brasileiros de Dermatologia** 2006; v. 81 (2) p. 111-26.

AMARAL, E. Sífilis na gravidez e óbito fetal: de volta para o futuro. **Revista Brasileira de**

Ginecologia e Obstetrícia. 2012; V. 34, N. 2, P. 52-55.

BYRNE RE, LASKA S, BELL M, LARSON D, PHILLIPS J, TODD J. Evaluation of a *Treponema pallidum* Western Immunoblot Assay as a Confirmatory Test for Syphilis. **J Clin Microb** 0: 115-122, 1992.

BYOEASY DIAGNOSTICS. Kit Bioeasy-Syphilis Test Bioeasy - método Imunocromatográfico; e-mail: bioeasy@bioeasy.com. 2009.

CRUZ, M. J.; LISBOA, C.; AZEVEDO, F. Diagnóstico serológico da sífilis – novas orientações. **Revista da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venerologia**, 2011, v. 69, n. 4, p. 523-530.

DETTORI G, GRILLO R, MORA G, CAVALLI A, ALENOVI A, CHEZZI C, SANNA A. Evolution of western immunoblotting technique in the serological diagnosis of human syphilitic infections. **Eur J Epidemiol** 5: 22-30, 1989.

FERREIRA, A.W.; ÁVILA, S.L. Diagnóstico laboratorial: avaliação de métodos de diagnóstico das principais doenças infecciosas autoimunes, 2 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan: 2009.

FERREIRA, C. et al. Reatividade do teste VDRL em bolsas de sangue da Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas-HEMOAM, os custos decorrentes do descarte e a estimativa de prevalência de Sífilis em doadores de sangue do estado do Amazonas. **DST J. Bras. Doenças Sex. Transm.** 2006; v.18: 14-17.

GARDELLA, C.; MARFIN, A. A.; KAHN, R. H.; SWINT, E.; MARKOWITZ, L. E. Persons with early syphilis identified through blood or plasma donation screening in the United States. **J. Infec. Dis.** 2002; v. 15; 185(4):545-9.

HARRIS A, ROSEMBERG AA, DEL VECHIO ER. The VDRL slide micro flocculation test for syphilis using cardiolipin - lecithin antigen. **J Vener Dis Inform** 9: 313-316, 1948.

LEFEVRE JC, BERTRAND MA, BAURIAUD R. Evaluation of the Captia enzyme immunoassay for detection of immunoglobulins G and M to *Treponema pallidum* syphilis. **J Clin Microbiol** 8: 1704-1771, 1990.

MS - MINISTÉRIO DA SAÚDE. Boletim Epidemiológico Sífilis, n. 1, ano 1, 2012.



MS - Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual técnico para investigação da transmissão de doenças pelo sangue / Ministério da Saúde, Brasília, 2004, pp. 108.

RIBEIRO, A.S.; SOUZA, S.B.; PINTO, S.S. Triagem para Sífilis: Incidência de Resultados Positivos nas Amostras Analisadas no Hospital Municipal Duque de Caxias, Oriundas do Centro de Testagem e Aconselhamento para DST e AIDS, **NewsLab** - edição 82 – 2007.

SATO, N. S.; MELO, C. S.; ZERBINI, L. C. M. S.; SILVEIRA, E. P. R.; FAGUNDES, L. J.; UEDA, M. Assessment of the rapid test based on an immunochromatography technique for detecting anti-Treponema pallidum antibodies.

Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 2003, v. 45, p.319-22.

SIGNORINI, D.J. et al. Prevalência da co-infecção HIV-Sífilis num hospital universitário da cidade do Rio de Janeiro em 2005. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 2007; 40:282-5.

VAZ, A.J.; FUKUYA, M.F.; TUNDISI, R.N.; FERREIRA, A. P.; CARVALHO, C. O.; RODRIGUES, P.S.; DIAMENT, D.; SILVEIRA, S. A. Resultados de testes imunodiagnósticos da Sífilis: (VDRL e FTA-ABS) obtidos em laboratórios privado (São Paulo-SP, 1996). **NewsLab**. 1997; São Paulo. set/out.; 24:124-8.

YOUNG H, AKTAS G, MOYES A. Enzywell recombinant enzyme immunoassay for the serological diagnosis of syphilis. **Int J STD AIDS**: 288-291, 2000

YOUNG H, MOYES A, SEAGAR L, MCMILLAN A. Novel recombinant antigen enzyme immunoassay for the serological diagnosis of syphilis. **J Clin Microbiol** 6: 913-917, 1998.