

ARTIGO ORIGINAL

Efeito prozona no diagnóstico de sífilis pelo método VDRL: experiência de um serviço de referência no sul do Brasil *Prozone effect in the diagnosis of syphilis using the vdrL method: experience of a reference service in southern Brazil*

DanieliLuiza Jung¹, Daniela Becker², Jane Dagmar Pollo Renner²

¹Universidade de Santa Cruz do Sul (Unisc), Santa Cruz do Sul, RS, Brasil. ²13º Laboratório Regional de Santa Cruz do Sul; Divisão de Laboratórios de Saúde Pública, Instituto de Pesquisas Biológicas/Laboratório Central do Rio Grande do Sul, RS, Brasil.

Recebido em: 09/09/2013
Aceito em: 21/11/2013

janerenner@unisc.br

RESUMO

Justificativa e Objetivos: A sífilis é uma doença infecciosa sistêmica causada pela bactéria espiroqueta *Treponema pallidum*. Dentre os métodos de diagnóstico laboratorial da sífilis o mais utilizado é o VDRL (*Veneral Diseases Research Laboratory*). O efeito prozona pode ocorrer em 1% a 2% dos pacientes, especialmente no estágio de sífilis recente e durante a gravidez. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a frequência deste efeito em determinações realizadas no Laboratório Regional de Santa Cruz do Sul do Laboratório Central do Rio Grande do Sul, no período de Abril a Maio de 2013. **Métodos:** Foi realizado um estudo descritivo, onde foram analisadas 2018 amostras pelo método VDRL e posterior confirmação dos títulos baixos ($\leq 1:4$) pelo método Imunoblot. **Resultados:** Um total de 68 (3,37%) amostras foram positivas, das quais 49 (72,1%) pertencentes a mulheres e destas, 38 (77,5%) gestantes. A reação de VDRL não apresentou efeito prozona. As 32 amostras que apresentaram titulações $\leq 1:4$ foram confirmadas por método treponêmico obtendo-se 6 resultados falsos positivos, dos quais 4 foram verificados em gestantes. **Conclusão:** Apesar de não ter-se encontrado efeito prozona neste estudo, concluiu-se que os resultados pelo método de VDRL devem ser avaliados individualmente, com a possibilidade de confirmação por um teste treponêmico.

DESCRITORES

Sífilis Congênita
Serologia
Sífilis

ABSTRACT

Background and Objectives: Syphilis is a systemic infectious disease caused by the spirochete *Treponema pallidum*. VDRL (Venereal Diseases Research Laboratory) test is the most often used laboratory method for syphilis diagnosis. The prozone effect may occur in 1% to 2% of patients, especially at late stages of syphilis and during pregnancy. The objective of this study was to evaluate the frequency of this effect in analyses performed at Laboratório Regional de Santa Cruz do Sul do Laboratório Central do Rio Grande do Sul, from April to May 2013. **Methods:** A descriptive study was performed, in which 2018 samples were analyzed by the VDRL method and subsequently, low titers ($\leq 1:4$) were confirmed by the immunoblot method. **Results:** A total of 68 (3.37%) samples were positive, of which 49 (72.1%) belonging to women and of these, 38 (77.5%) pregnant women. The VDRL method showed no prozone effect. The 32 samples with titers $\leq 1:4$ were confirmed by the treponemal method, resulting in 6 false-positive results, of which 4 were observed in pregnant women. **Conclusion:** Although not prozone effect was observed in this study, it was concluded that the VDRL method results must be evaluated individually, with the possibility of confirmation through the treponemal test.

KEYWORDS

Congenital Syphilis
Serology
Syphilis;

INTRODUÇÃO

A sífilis é uma doença infecciosa sistêmica causada pela bactéria espiroqueta *Treponema pallidum*, subespécie *pallidum*.¹ De acordo com a forma de contágio, a sífilis pode ser classificada em adquirida e congênita; e em função do tempo de contágio, em recente, latente e tardia.²

A prevalência da sífilis gestacional e conseqüentemente a sífilis congênita (SC) ainda persiste como um importante desafio para a saúde pública principalmente em países pobres ou em desenvolvimento.^{3,4} O risco de transmissão vertical da sífilis varia de 30% a 100%, dependendo da fase clínica da doença na gestante. Em aproximadamente um terço das infecções intrauterinas não tratadas ocorre aborto espontâneo ou morte perinatal.⁴

Em 2008, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estimou que 1,86 milhões de casos de sífilis ocorrem globalmente entre as mulheres grávidas a cada ano e que uma grande proporção destas são tratadas de forma inadequada ou não tratadas. Até um terço das mulheres que frequentam clínicas pré-natais não são testados para sífilis.⁵ Destas mulheres grávidas, estima-se que 1,5 milhões apresentavam a sífilis ativa e 520.905 recém nascidos sofreram efeitos adversos, incluindo aproximadamente 212.327 natimortos ou mortes fetais precoces, 91.764 mortes neonatais, 65.267 prematuros ou de baixo peso ao nascer bebês e 151.547 recém-nascidos infectados.^{6,7}

Segundo o boletim epidemiológico da sífilis, de janeiro de 2005 a junho de 2012, foram notificados no Sistema Nacional de Agravos de Notificação (Sinan) 57.700 casos de sífilis em gestantes. Em 2011 o número total de casos notificados no Brasil foi de 14.321, dos quais 6.488 (45,3%) na região Sudeste e a região Sul ocupou o 4º lugar com 1.458 (10,2%).⁸ Com relação a sífilis congênita, à taxa de detecção no Brasil como um todo, em 2011 observou-se uma proporção de 5,0 casos por 1.000 nascidos.^{8,9} Os casos de Sífilis Congênita no Brasil, apesar dos altos registros no Sinan, suporta um sub-registro em torno de 67%.^{3,10} Estudos realizados em unidades hospitalares têm apontado incidências de SC entre 9,9 e 22/1.000 nascidos vivos.^{3,4,10,11}

No Brasil, a ação de controle da sífilis congênita mostra-se como um evento de alta magnitude e ainda apresenta indicadores desfavoráveis em termos do seu controle, gerando também a necessidade de prioridade política para a sua abordagem.^{11,12} Um dos grandes desafios para as áreas de vigilância e de assistência é a baixa cobertura das mulheres que não fazem o pré-natal, o preconceito, a ausência de educação sexual, a dificuldade de avisar o parceiro para também procurar o auxílio médico, além da dificuldade de percepção da doença fazendo com que tanto as mulheres quanto os parceiros não sejam convencidos da necessidade de tratamento.^{7,8,10-12}

Um dos métodos e estratégias estabelecidos pela OMS são o desenvolvimento e o fortalecimento da capacidade dos serviços no pré-natal, melhorando os procedimentos do teste para sífilis em gestantes, viabilizando a realização do teste em três momentos: no primeiro e no terceiro trimestres do pré-natal e no parto.^{7,12}

Os métodos de diagnóstico laboratorial da sífilis incluem os testes não-treponêmicos, como por exemplo, a sorologia VDRL (*Veneral Diseases Research Laboratory*) e, os testes treponêmicos, como por exemplo, a sorologia por imunofluorescência indireta FTA-abs (*fluorescente treponemal antibody-absorption*) ou Imunoblot. O VDRL é muito utilizado no Brasil por sua alta sensibilidade

na sífilis do adulto, e alta especificidade na sífilis congênita, por ter baixo custo e fácil execução, podendo ser usada para o acompanhamento dos casos tratados, sendo avaliador de cura sorológica. As principais desvantagens referem-se aos resultados falsos positivos e falso-negativos. Resultados falso-negativos podem ser encontrados na fase inicial de cancro duro, na sífilis latente tardia e na sífilis tardia ou como resultado do efeito prozona. O efeito prozona pode ocorrer em 1% a 2% dos pacientes, especialmente no estágio de sífilis recente e durante a gravidez.^{13,14} O efeito prozona ocorre quando existe um excesso de anticorpo no soro testado, dando o resultado negativo.³ Para evitar que isso ocorra, deve-se proceder a diluição da amostra testada, até 1:4 ou 1:8. A amostra reatora deve ser titulada até a diluição de ponto final (quando ficar não-reatora).¹⁴

Os laboratórios, em geral no Brasil, realizam o teste VDRL para diagnóstico da sífilis na diluição 1:1, o que corresponde a faixa de concentração do complexo antígeno-anticorpo necessário para que aconteça a floculação, que é visualizada no microscópio.¹⁵

Neste sentido, foi avaliada a frequência de efeito prozona nas determinações de VDRL dos soros de pacientes encaminhados ao Laboratório Regional de Santa Cruz do Sul.

METODOLOGIA

Foi realizado um estudo descritivo, onde foram analisadas 2018 amostras de soro encaminhadas ao Laboratório Regional de Santa Cruz do Sul, um laboratório pertencente à Divisão de Laboratórios de Saúde Pública do Instituto de Pesquisas Biológicas-Laboratório Central do Rio Grande do Sul (DILASP/IPB-LACEN) pelos municípios da 13ª e 16ª Coordenadorias Regionais de Saúde (CRS), para realização de exames de rotina (Anti-HIV, VDRL, Anti-HCV, Anti-Hbc total, Anti-HbcIgM, Anti-Hbs), no período de Abril a Maio de 2013. Este laboratório presta serviços às secretarias regionais de saúde de Lajeado (16ª CRS) e Santa Cruz do Sul (13ª CRS). A 13ª Coordenadoria Regional de Saúde compreende 13 municípios com 327.358 mil habitante entre eles Santa Cruz do Sul, Candelária, Vera Cruz, Rio Pardo, Venâncio Aires, entre outros.¹⁶ A 16ª Coordenadoria Regional da Saúde compreende 55 municípios com 363.964 mil habitantes como Lajeado, Estrela, Anta Gorda, Encantado, Muçum, Dois Lajeados, Teutônia, Fazenda Vilanova, Progresso, entre outros (Figura 1).¹⁶

Diagnóstico Laboratorial e análise dos dados

A realização do teste VDRL (Laborclin®), foi feita com o soro dos indivíduos e incluiu duas diluições, 1:1, ou seja, 25 µL de soro e 25 µL do reagente, e a diluição 1:8, ou seja, 25 µL do soro diluído com salina a 1/8 (1 parte de soro e 7 partes de salina) e 25 µL do reagente conforme Manual de Diagnóstico da Sífilis. Os resultados positivos com titulações baixas ($\leq 1:4$) foram confirmadas com a realização de Teste Treponêmico – Imunoblot (Bioeasy®), conforme as instruções do fabricante.

Os resultados obtidos foram analisados no programa SPSS versão 17.0. Foi calculada a frequência dos resultados positivos pelo método VDRL e confirmados pelo Imunoblot e do efeito prozona no VDRL nas amostras analisadas.

Esta pesquisa foi aprovada pelo comitê de ética da UNISC e da FEPPS conforme o parecer número 254.491.

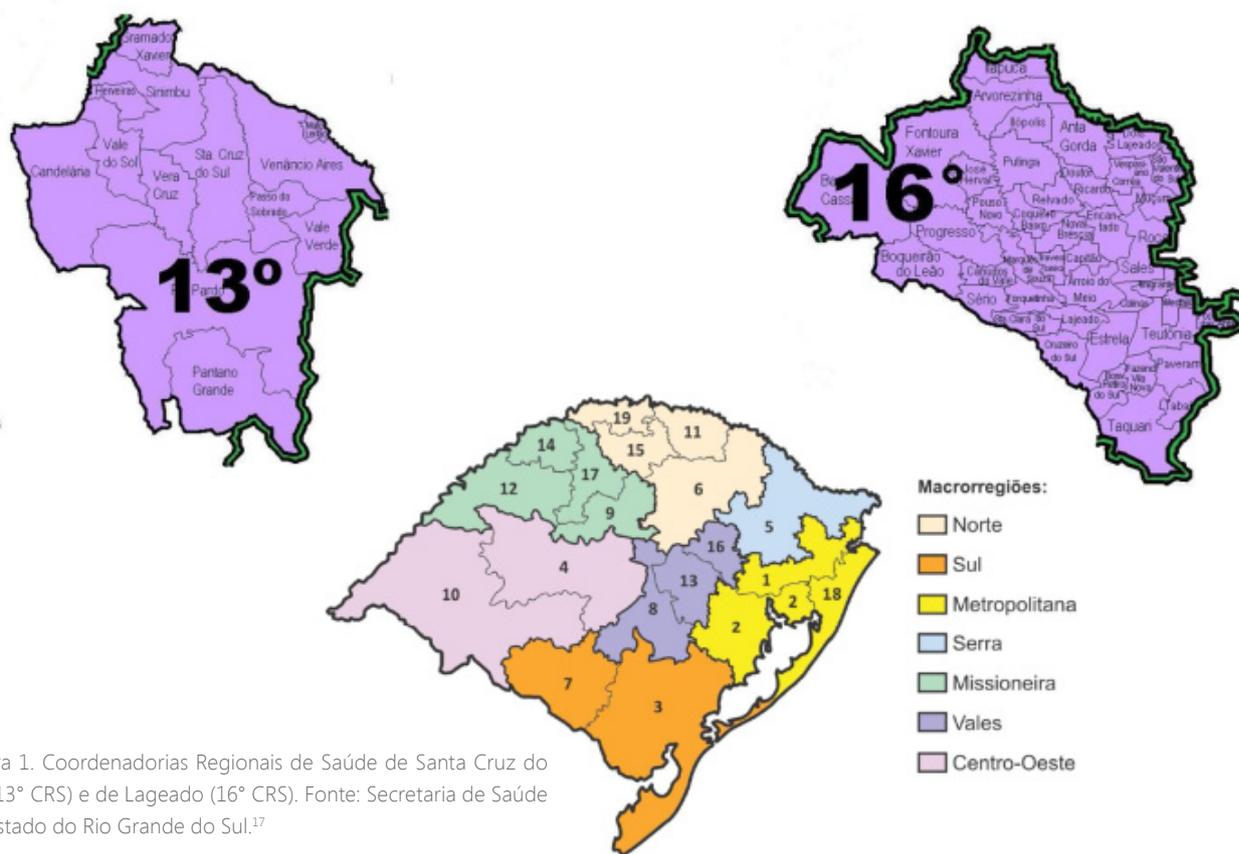


Figura 1. Coordenadorias Regionais de Saúde de Santa Cruz do Sul (13° CRS) e de Lageado (16° CRS). Fonte: Secretaria de Saúde do Estado do Rio Grande do Sul.¹⁷

RESULTADOS

Das 2018 amostras de soro analisadas pelo método VDRL, foram encontradas 3,37% de amostras positivas. Os dados da população analisada encontram-se descritos na Tabela 1.

Entre os 68 resultados positivos observados, 72,1% (49/68) eram mulheres, das quais 77,5% (38/49) eram gestantes. Não foi encontrado efeito prozona nas amostras analisadas. As amostras com titulações $\leq 1:4$, totalizando 47,06% (32/68), foram confirmadas por teste treponêmico (Imunoblot), das quais, 18,75% (6/32) tiveram resultados falsos positivos pelo método não treponêmico.

Tabela 1. Características da população estudada, Laboratório Regional de Santa Cruz do Sul.

Características	N	%
Total de amostras analisadas	2018	100
Homens	644	31,91
Mulheres	1374	68,09
Não gestantes	350	25,47
Gestantes	1024	74,53
Resultados Positivos	68	3,37

DISCUSSÃO

Conforme o Manual de Controle de Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) do Ministério da Saúde os testes sorológicos utilizados para triagem e diagnóstico no Sistema Único de Saúde (SUS) são os não treponêmicos como VDRL e RPR (*Rapid Plasm Reagin*) que são testes quantitativos, importantes para o diagnóstico e seguimento pós-terapêutico.¹⁸ A solicitação destes testes deve ser

feita sempre que houver a suspeita de Sífilis em qualquer de suas fases, para todos os pacientes portadores de DST, grupos de risco e na rotina do pré-natal.

O teste de VDRL está sujeito a resultados falsos negativos e falsos positivos, a produção elevada de anticorpos no soro não diluído, principalmente na sífilis secundária, pode ocasionar o efeito prozona, tornando a reação não reagente, entretanto quando realizada com soro previamente diluído, pode tornar-se reagente. Esse efeito pode ocorrer em cerca de 1% dos pacientes com sífilis secundária, não sendo observado nos testes treponêmicos.^{3,5} Após a realização das análises deste estudo, não foi encontrado nenhum efeito prozona no total de amostras analisadas. No estudo feito por Azevedo et al. (2006), avaliaram-se 40 amostras VDRL positivas com títulos variando de 1:2 a 1:256.¹⁹ O efeito pro-zona foi verificado em 8 amostras, correlacionando-se com altos títulos de anticorpos. No presente estudo, as amostras foram testadas até a diluição de 1:32, obedecendo-se a rotina do laboratório. Campos et al. (2008), avaliaram 215 amostras de gestantes, na titulação 1:1 e 1:8, e não foi relatado o efeito prozona. Por outro lado, o mesmo estudo constatou que baixos títulos de VDRL devem ser valorizados pelo clínico, uma vez que guardam correlação com testes treponêmicos.²⁰ Genç (2000) considera que a diluição das amostras em busca do efeito prozona é trabalhosa e pouco efetiva, e esse fenômeno pode ser mais prevalente em populações que tem uma maior incidência de indivíduos HIV positivos.²¹

Resultados falsos positivos, por sua vez, podem ser observados em algumas condições como na gestação, doenças auto-imunes como no lúpus eritematoso sistêmico (LES) e em algumas doenças virais como mononucleose infecciosa, varicela, sarampo e hepatites.^{19,20} Neste estudo foram identificados 6 resultados falsos positivos pelo método não treponêmico (VDRL) após a confirmação por método treponêmico (Imunoblot). Em um estudo combinando

um método treponêmico e um não treponêmico em amostras de indivíduos de diferentes laboratórios assistenciais de Cuba, os resultados confirmaram a presença de sífilis em 29,9% (47/157) dos indivíduos ao apresentar resultados positivos nos dois métodos, e 70,1% (110/157) foram resultados falsos positivos por VDRL ao serem negativos no método treponêmico.²²

Outro estudo feito por Quattordio, Milani e Milani (2004),²³ 117 amostras de soro foram testadas por VDRL (não treponêmico), FTA-Abs e Elisa (treponêmico) onde os resultados tiveram concordância de 100% nos métodos treponêmicos, porém quando comparados ao método não treponêmico verificaram 10% de não concordância, ou seja, falsos positivos.

O acesso precoce ao diagnóstico e o tratamento adequado da sífilis nas gestantes são momentos fundamentais para a prevenção da sífilis congênita. A sífilis em gestantes passou a ser de notificação compulsória a partir de julho de 2005.⁷ No ano de 2011 foi notificada no Sinan uma taxa de 4,8% de casos de sífilis em gestantes por 1000 nascidos vivos no Rio Grande do Sul.⁸ No presente estudo, das 1024 gestantes analisadas, 38 (3,7%) foram positivas para sífilis no teste de VDRL. Este dado está superior quando comparado com um estudo realizado em um serviço de saúde pública de São Paulo, onde verificou-se a positividade para o VDRL em 10 (1,8%) amostras do total de 554 amostras pré-natais testadas.²⁴ Em um estudo retrospectivo realizado em Itajaí (SC) constatou a prevalência de 0,43% de gestantes infectadas pela sífilis entre 2002 e 2007.²⁵ Em Salvador (BA) a prevalência em parturientes entre 2008 e 2009 foi de 0,5%.²⁶

Após a realização deste estudo com o teste de VDRL, como técnica padrão para triagem e diagnóstico de sífilis conforme a Portaria nº 3.242, de 30 de dezembro de 2011, não se verificou o efeito prozona (falso negativo), o que indica resultados satisfatórios em situações de alta e baixa reatividade, tendo em vista as diversas titulações do teste.² Porém, para a confirmação do teste VDRL positivo em baixas titulações, torna-se justificável a realização de um teste treponêmico, excluindo assim, os resultados falsos positivos.

Nosso estudo teve limitações pelo pequeno período de coleta e pela falta de dados disponíveis como idade, período gestacional e local de moradia, mas a frequência de resultados positivos para gestantes no período de dois meses foi muito superior a 0,5/1000 nascidos vivos, que é o esperado para a abordagem correta desse problema durante o pré-natal.⁷

O Ministério da Saúde recomenda realizar dois testes não treponêmicos durante o período gestacional.⁸ Um no primeiro trimestre, na primeira consulta e outro no terceiro trimestre, na 28ª semana gestacional. Isto reforça a necessidade das Unidades Obstétricas em conjunto com as Estratégias da Saúde da Família de realizar o acompanhamento das gestantes com ações básicas como pré-natal e acompanhamento durante todo o período da gestação, levando em consideração a facilidade de diagnosticar e tratar a gestante com sífilis durante o pré-natal, comparados com os riscos que a criança infectada poderá padecer.

REFERÊNCIAS

1. Ho EL, Lukehart SA. Syphilis: using modern approaches to understand an old disease. *J Clin Invest*. 2011; 121(12):4584-92.
2. Brasil. Ministério da Saúde. PORTARIA Nº- 3.242. Dispõe sobre o Fluxograma Laboratorial da Sífilis e a utilização de testes rápidos para triagem da sífilis em situações especiais e apresenta outras recomendações. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.
3. Ramos Jr. AN, Matida LH, Saraceni V, et al. Control of mother-to-child transmission of infectious diseases in Brazil: progress in HIV/Aids and failure in congenital syphilis. *Cad Saúde Pública*. 2007; 23(3): S370-S8.
4. Araujo CL, Shimizu HE, Sousa AIA, Hamann EM. Incidência da sífilis congênita no Brasil e sua relação com a Estratégia Saúde da Família. *Rev. Saúde Pública*. 2012; 46(3):479-486.
5. Gomez GB, Kamb ML, Newman LM, Mark J, Broutet N, Hawkes SJ. Untreated maternal syphilis and adverse outcomes of pregnancy: a systematic review and meta-analysis. *Bull World Health Organ*. 2013; 91(3):217-26.
6. Newman L, Kamb M, Hawkes S, et al. Global estimates of syphilis in pregnancy and associated adverse outcomes: analysis of multinational antenatal surveillance data. *PLOS Med*. 2013; 10(2):1001396.
7. World Health Organization. Investment case for eliminating mother-to-child transmission of syphilis: promoting better maternal and child health and stronger health systems. WHO Library Cataloguing-in-Publication, 2012.
8. Brasil, Ministério da Saúde- Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais- Boletim Epidemiológico Sífilis. 2012; 1(01):1-16.
9. Brasil, Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan. Net, 2010. Acesso em 5 de dezembro de 2013 pelo site <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/tabnet?sinanet/sifilisc/bases/sifilisbrnet.def>.
10. Komka MR, Lago EG. Sífilis congênita: notificação e realidade. *Sci Med*. 2007;17(4):205-11.
11. Acosta LMW, Branco GMS, Machado ÂMG. O impacto do Sistema de Informação Hospitalar Descentralizado (SIHD) na notificação da sífilis congênita em Porto Alegre. *Rev. Epidemiol Control Infect*. 2013;3(1):01.
12. Tayra A, Matida LH, Saraceni V, et al. Duas décadas de vigilância epidemiológica da sífilis congênita no Brasil: A propósito das definições de caso. *J Bras Doenças Sex Transm*. 2007; 19(3-4):111-119.
13. Reis HLB, Sabino JB, Caldellas S. Sífilis recente em gestante e efeito prozona na sorologia: relato de caso. *DST – J Bras Doenças Sex Transm*. 2007;19(3-4):173-176.
14. Ribeiro AS, De Souza FB & Pinto SS. 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. *News Lab*. 2007;82:142-155.
15. Vaz AJ, Takei K & Bueno EC. Imunoensaios – Fundamentos e Aplicações. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2007:174-178.
16. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2013. Acesso em 26 de dezembro pelo site: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=430960&search=rio-grande-do-sul>.
17. Brasil. Estado do Rio Grande do Sul. Secretaria da Saúde. Organograma das Coordenadorias de Saúde. Acessado em 26 de dezembro pelo site <http://www1.saude.rs.gov.br/wsa/portal/index.jsp?menu=organograma&cod=6458>.
18. Brasil. Ministério da Saúde. Manual de Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis 2006; 4. ed. Brasília (DF).
19. Azevedo LKAA, Fernandes PSG, Silva DGKC et al. Caracterização e correlação do fenômeno prózona com títulos de sororeatividade do VDRL e reação de imunofluorescência indireta em soros de pacientes com

- sífilis. *RBAC*. 2006;38(2):183-187.
20. Campos JEB, Passos FDL, Lemos EA et al. Significado laboratorial dos baixos títulos de VDRL para o diagnóstico da sífilis em gestantes, à luz das provas treponêmicas. *DST – J Bras Doenças Sex Transm*. 2008;20(1):12-17.
 21. Genç M, Ledger WJ. Syphilis in pregnancy. *Sex Transm Infect*. 2000;76(2):73-9.
 22. González LIR, Molina CS & Salgueiro MBM. Falsos biológicos positivos por VDRL en el diagnóstico serológico de la sífilis. *Rev Cubana Med Trop*. 2006;58(1):90-2.
 23. Quattordio LE, Milani PL & Milani HL. Diagnóstico serológico de sífilis. Correlación de resultados según técnicas disponibles en laboratorio. *Acta Bioquím Clín Latino AM*. 2004;38(3):301-306.
 24. Gonçalves MAS, Matos. CCB, Spegiarin, LCJF et al. Seropositivity rates for toxoplasmosis, rubella, syphilis, cytomegalovirus, hepatitis and HIV among pregnant women receiving care at a Public Health Service, São Paulo State, Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2010;14(6):601-605.
 25. Kupec E, Oliveira JF. Transmissão vertical do HIV, da sífilis e da hepatite B no município de maior incidência de AIDS no Brasil: um estudo populacional no período de 2002 a 2007. *Rev Bras Epidemiol*. 2012; 15(3): 478-87.
 26. Nóbrega I, Dantas P, Rocha P, Rios, I, et al. Syphilis and HIV-1 among parturient women in Salvador, Brazil: low prevalence of syphilis and high rate of loss to follow-up in HIV-infected women. *Braz J Infect Dis*. 2013; 17(2):184-93.