



Ministério da Saúde
Secretaria de Vigilância em Saúde
Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis
Coordenação-Geral de Vigilância das Doenças de Transmissão Respiratória de Condições Crônicas

NOTA INFORMATIVA Nº 12/2022-CGDR/.DCCI/SVS/MS

Recomendações para a assistência sobre a utilização do teste de hibridização com sonda em linha (LPA) para o diagnóstico laboratorial da tuberculose drogarrresistente (TB DR).

1. **CONTEXTUALIZAÇÃO**

Diante da incorporação no Sistema Único de Saúde (SUS) em 2021, por meio da Portaria nº 43, publicada no Diário Oficial da União nº 127, em 08 de julho de 2021 e da sua disponibilização na rede, a Coordenação-Geral de Vigilância das Doenças de Transmissão Respiratória de Condições Crônicas (CGDR) e a Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGLAB), dispõe nessa nota recomendações sobre os testes de hibridização com sonda em linha ou *Line Probe Assay* (LPA) e fluxos para utilização dos testes, de maneira a aprimorar o diagnóstico e o cuidado à pessoa com da tuberculose (TB) resistente aos fármacos.

2. **ORIENTAÇÕES**

2.1. **TESTE DE HIBRIDIZAÇÃO COM SONDA EM LINHA - LPA**

O LPA é considerado um teste de sensibilidade (TS) genotípico capaz de identificar bactérias do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) e de detectar, simultaneamente, mutações em genes específicos, sabidamente conhecidos pela relação de ocorrência do fenômeno de resistência aos principais fármacos utilizados no tratamento para TB, como a rifampicina, isoniazida e etionamida (LPA 1ª linha) e às fluoroquinolonas e aminoglicosídeos/peptídeos cíclicos (LPA 2ª linha).

Cabe destacar que o LPA, quando realizado de amostra clínica, pode viabilizar a liberação do resultado, em média, 3 dias após o recebimento das amostras, oportunizando de maneira significativa o diagnóstico da TB drogarrresistente. Importante ressaltar que, nos casos em que é necessária uma amostra de cultura para a realização do teste, soma-se ao tempo de execução, o período de crescimento da cultura solicitada anteriormente.

2.2. **INDICAÇÕES**

O LPA está indicado para a detecção de resistência aos fármacos utilizados no tratamento da TB **em todas as pessoas diagnosticadas com TB.**

Entretanto, as seguintes populações devem ser priorizadas, uma vez que são diretamente beneficiadas por este diagnóstico rápido e oportuno da resistência antimicrobiana, sendo estas:

1. Pessoas em retratamento;
2. Pessoas com sinais e sintomas de TB e histórico de contato com alguém com TB drogarrresistente;
3. Pessoas com baciloscopia positiva no 2º mês de acompanhamento de tratamento;
4. Pessoas que apresentam falência ao tratamento com esquema básico;
5. Pessoas com suspeita de resistência, em qualquer momento do tratamento;
6. Pessoas com resistência à rifampicina detectada no TRM-TB.

2.3. **AMOSTRA BIOLÓGICA**

A sensibilidade de qualquer exame, incluindo o LPA, está diretamente relacionada aos aspectos pré-analíticos, como a qualidade da coleta e transporte da amostra biológica até o laboratório executor.

O LPA pode ser realizado a partir de amostra de escarro, no intuito de oportunizar o tempo para liberação do resultado laboratorial. Para a realização direto da amostra de escarro, é necessário ter um resultado prévio positivo de:

1. TRM-TB, exceto para aqueles que indicam "*very low*" ou "traços"; ou
2. Baciloscopia, com no mínimo 1+.

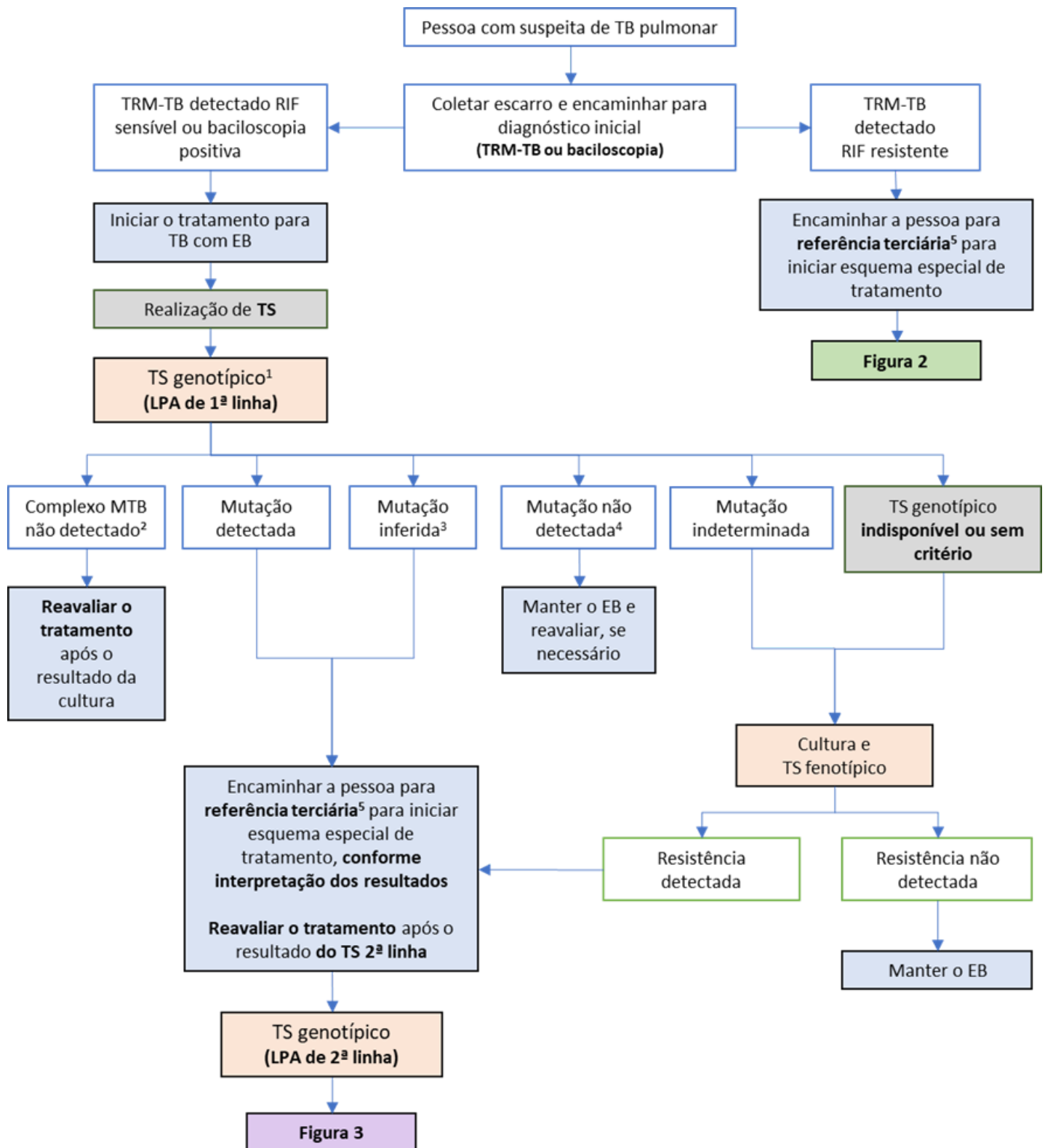
Importante destacar que a amostra precisa ser encaminhada ao laboratório executor em, no máximo, até 4 dias após a coleta.

Para outras amostras pulmonares ou extrapulmonares, a indicação é realização do LPA somente a partir do isolado de cultura.

2.4. **RESULTADOS PARA O LPA**

Os fluxogramas para uso e interpretação do LPA estão nas figuras 1, 2 e 3 desta nota e os resultados e interpretações estão apresentadas no Quadro 1 e Quadro 2.

Figura 1: Fluxograma de uso do teste de hibridização de sonda em linha (LPA) em pessoas com suspeita de tuberculose (TB) pulmonar com Teste Rápido Molecular para tuberculose (TRM-TB) com resultado “Detectado” sem resistência à rifampicina, ou baciloscopia positiva



EB – esquema básico de tratamento da tuberculose; LPA - teste de hibridização de sonda em linha; RIF – rifampicina; TB – tuberculose; TRM-TB - Teste Rápido Molecular para Tuberculose; TS – teste de sensibilidade.

1- TS genotípico (LPA) pode ser realizado a partir de amostra de escarro, desde que tenha um resultado prévio de TRM-TB ou baciloscopia e a amostra precisa ser encaminhada ao laboratório executor em, no máximo, até 4 dias após a coleta;

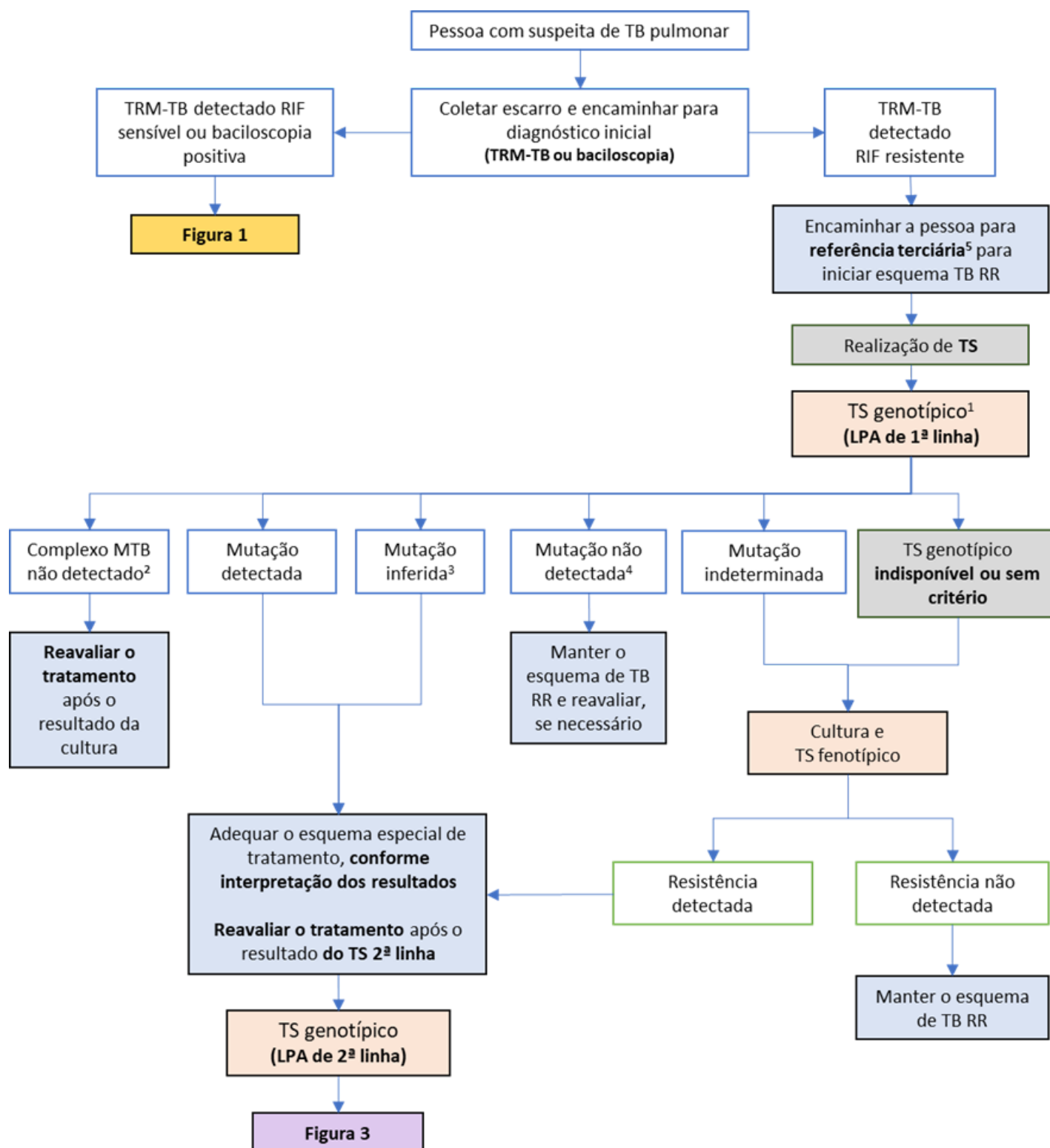
2- Quando realizado TS genotípico direto de amostra de escarro, poderá não ser bactéria do complexo MTB, deve-se investigar MNT;

3- Se for identificada somente uma mutação inferida no gene *inhA*, sem mutação no gene *katG*, recomenda-se realizar o TS fenotípico;

4- Em caso de forte suspeita de TB drogarrresistente, recomenda-se avaliar clinicamente e considerar o TS fenotípico, para exclusão de resistências em outros genes não abarcados pelo teste;

5- Referência terciária é o ambulatório especializado em tratamento de tuberculose drogarrresistente. A pessoa deve chegar à referência terciária imediatamente após o diagnóstico de resistência. Nesse serviço, a avaliação médica e a conduta adequada deverão ser tomadas em até sete dias

Figura 2: Fluxograma de uso do teste de hibridização de sonda em linha (LPA) em pessoas com suspeita de tuberculose (TB) pulmonar com Teste Rápido Molecular para tuberculose (TRM-TB) “Detectado” com resistência à rifampicina.



LPA - teste de hibridização de sonda em linha; RIF – rifampicina; TB – tuberculose; TB RR – tuberculose resistente à rifampicina pelo TRM-TB; TRM-TB - Teste Rápido Molecular para Tuberculose; TS – teste de sensibilidade.

1- TS genotípico (LPA) pode ser realizado a partir de amostra de escarro, desde que tenha um resultado prévio de TRM-TB ou baciloscopia e a amostra precisa ser encaminhada ao laboratório executor em, no máximo, até 4 dias após a coleta;

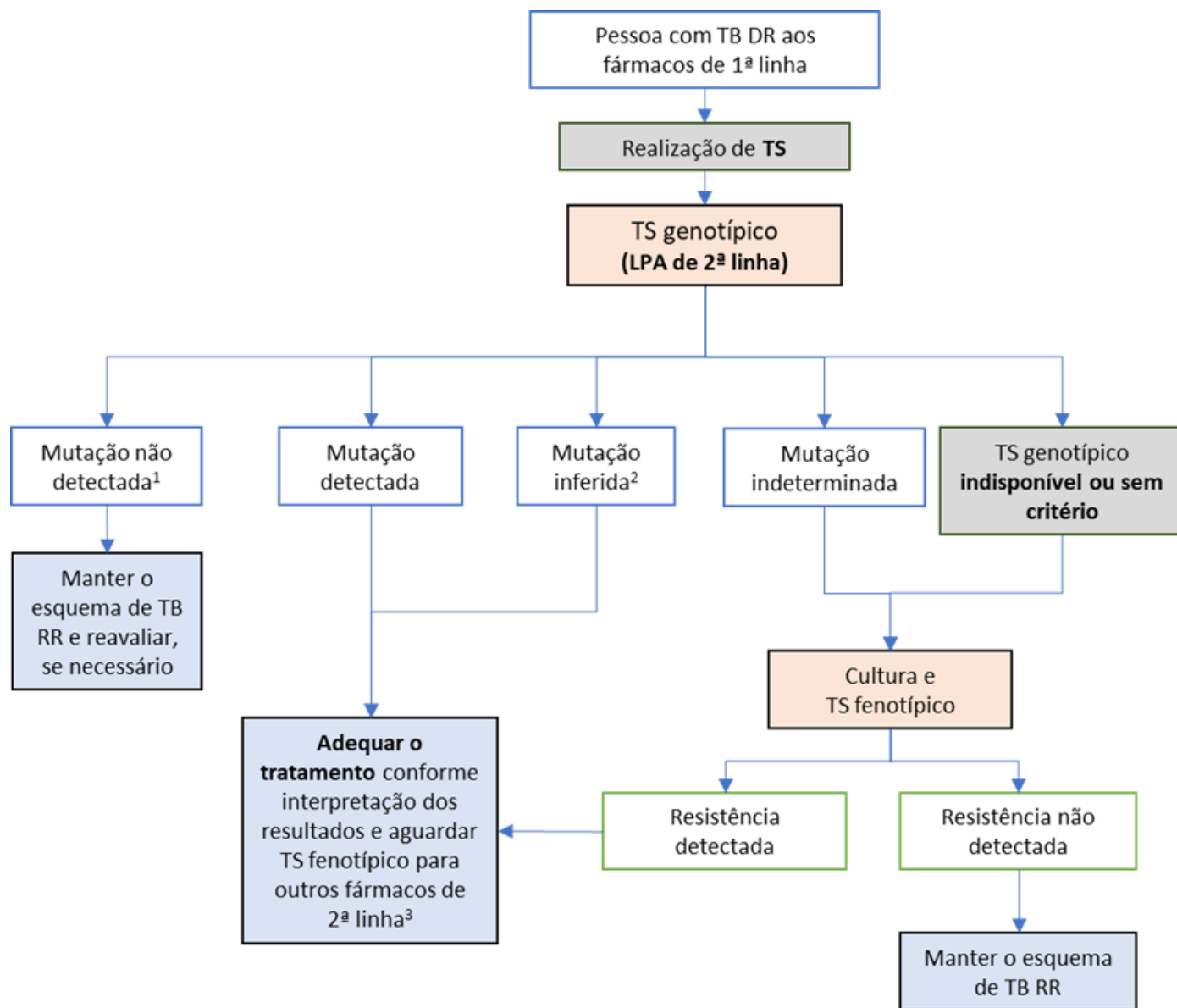
2- Quando realizado TS genotípico direto de amostra de escarro, poderá não ser bactéria do complexo MTB, deve-se investigar MNT;

3- Se for identificada somente uma mutação inferida no gene *inhA*, sem mutação no gene *katG*, recomenda-se realizar o TS fenotípico;

4- Em caso de forte suspeita de TB drogaresistente, recomenda-se avaliar clinicamente e considerar o TS fenotípico, para exclusão de resistências em outros genes não abarcados pelo teste;

5- Referência terciária é o ambulatório especializado em tratamento de tuberculose drogaresistente. A pessoa deve chegar à referência terciária imediatamente após o diagnóstico de resistência. Nesse serviço, a avaliação médica e a conduta adequada deverão ser tomadas em até sete dias.

Figura 3: Fluxograma de uso do teste de hibridização de sonda em linha (LPA) em pessoas com tuberculose drogarresistente (TB DR) aos fármacos de 1ª linha.



LPA - teste de hibridização de sonda em linha; TB - tuberculose; TB DR - tuberculose drogarresistente; TB RR - tuberculose resistente à rifampicina pelo Teste Rápido Molecular para Tuberculose; TS - teste de sensibilidade

1- Caso seja identificada mutação no gene *gyrA* e/ou *gyrB*, responsáveis por conferir resistência de baixo nível à moxifloxacino, recomenda-se realizar o TS fenotípico, a depender da interpretação laboratorial;

2- Se for identificada mutação inferida no LPA 2ª linha, recomenda-se realizar o TS fenotípico;

3- Outros fármacos de segunda linha: clofazimina, linezolida, bedaquilina e delamanida.

Quadro 1. Resultados e interpretações dos laudos referentes ao teste de hibridização com sonda em linha (LPA) de 1ª linha.

RESULTADO	INTERPRETAÇÃO	RECOMENDAÇÃO
Mutação NÃO detectada	→ Resistência não detectada; → A isoniazida, rifampicina e etionamida são eficazes;	Iniciar Esquema Básico de tratamento. Em caso de forte suspeita de TB DR, recomenda-se avaliar clinicamente e considerar o TS fenotípico para isoniazida, para exclusão de resistências em outros genes não abarcados pelo teste
Mutação indeterminada	→ Resultado inconclusivo.	Recomenda-se fazer TS fenotípico.
Mutação detectada no gene <i>inhA</i>	→ Resistência à etionamida detectada. A etionamida não é eficaz; → Resistência de baixo nível à isoniazida. A isoniazida pode ser eficaz em altas doses.	Avaliar esquema especial de tratamento e encaminhar para TS de 2ª linha.
Mutação inferida no gene <i>inhA</i>	→ Resistência à etionamida detectada. A etionamida não é eficaz; → Resistência de baixo nível inferida à isoniazida. A isoniazida pode ser eficaz em altas doses.	Recomenda-se fazer TS fenotípico quando ocorrer mutação inferida isolada no gene <i>inhA</i> .
Mutação detectada no gene <i>katG</i>	→ Resistência à isoniazida detectada; → A isoniazida não é eficaz, mesmo em doses altas.	Iniciar esquema para TB DR conforme perfil de resistência e encaminhar para TS de 2ª linha.
Mutação inferida no gene <i>katG</i>	→ Resistência à isoniazida inferida; → A isoniazida não é eficaz, mesmo em doses altas.	Iniciar esquema para TB DR conforme perfil de resistência e encaminhar para TS de 2ª linha.
Mutação detectada no gene <i>rpoB</i>	→ Resistência à rifampicina detectada; → A rifampicina não é eficaz.	Iniciar esquema para TB DR conforme perfil de resistência e encaminhar para TS de 2ª linha.
Mutação inferida no gene <i>rpoB</i>	→ Resistência à rifampicina inferida; → A rifampicina não é eficaz.	Iniciar esquema para TB DR conforme perfil de resistência e encaminhar para TS de 2ª linha.

TB – tuberculose; TS – Teste de sensibilidade; DR – drogaresistente.

Fonte: adaptado de GLI, 2022

Quadro 2. Resultados e interpretações dos laudos referentes ao teste de hidridização com sonda em linha (LPA) de 2ª linha.

RESULTADO	INTERPRETAÇÃO	RECOMENDAÇÃO
Mutação NÃO detectada	→ Resistência não detectada; → Moxifloxacino, levofloxacino, amicacina são eficazes.	Manter Esquema Básico de tratamento.
Mutação indeterminada	→ Resultado inconclusivo.	Aguardar resultado do TS fenotípico.
Mutação detectada no gene <i>gyrA</i> (1)	→ Resistência a levofloxacino detectada. Levofloxacino não é eficaz; → Resistência de baixo nível a moxifloxacino detectada. Moxifloxacino pode ser eficaz em altas doses.	Recomenda-se reavaliar o tratamento para TB DR e fazer TS fenotípico.
Mutação detectada no gene <i>gyrA</i> (2)	→ Resistência a levofloxacino e moxifloxacino detectada. Levofloxacino e moxifloxacino não são eficazes.	Recomenda-se reavaliar o tratamento para TB DR.
Mutação inferida no gene <i>gyrA</i>	→ Resistência a levofloxacino inferida. Levofloxacino não é eficaz; → Resistência de baixo nível a moxifloxacino inferida. Moxifloxacino pode ser eficaz em altas doses.	Recomenda-se reavaliar o tratamento para TB DR e fazer TS fenotípico.
Mutação detectada no gene <i>gyrB</i>	→ Resistência a levofloxacino detectada. Levofloxacino não é eficaz; → Resistência de baixo nível a moxifloxacino detectada. Moxifloxacino pode ser eficaz em altas doses.	Recomenda-se reavaliar o tratamento para TB DR e fazer TS fenotípico.
Mutação inferida no gene <i>gyrB</i>	→ Resistência a levofloxacino inferida. Levofloxacino não é eficaz. → Resistência de baixo nível a moxifloxacino inferida. Moxifloxacino pode ser eficaz em altas doses.	Recomenda-se reavaliar o tratamento para TB DR e fazer TS fenotípico.
Mutação detectada no gene <i>rrs</i>	→ Resistência à amicacina detectada. Amicacina não é eficaz.	Recomenda-se reavaliar o tratamento para TB DR.
Mutação inferida no gene <i>rrs</i>	→ Resistência inferida à amicacina. Amicacina pode não ser eficaz.	Recomenda-se reavaliar o tratamento para TB DR e fazer TS fenotípico.
Mutação detectada no gene <i>eis</i>	→ Resistência à amicacina detectada. Amicacina não é eficaz.	Recomenda-se reavaliar o tratamento para TB DR.
Mutação inferida no gene <i>eis</i>	→ A amicacina é eficaz (a mutação inferida no gene <i>eis</i> não influencia na ação da amicacina).	Manter Esquema Básico de tratamento ou iniciar esquema para TB DR conforme perfil de resistência aos outros fármacos.

TB – tuberculose; TS – Teste de sensibilidade; DR – drogaresistente.

Fonte: adaptado de GLI, 2022

3. CONCLUSÕES

3.1. Considerações importantes

- I - O TS genotípico cobre as principais mutações que conferem resistência aos fármacos de tratamento para o CMTB. Por se tratar de um teste que busca genes específicos do DNA das bactérias do complexo, a baciloscopia positiva e um resultado indeterminado ou inconclusivo para o LPA pode ser sugestivo a infecção por MNT. Recomenda-se a investigação para suspeita de MNT.
- II - A associação de mutação detectada ou inferida nos genes *inhA* e *katG* confere resistência à isoniazida (mesmo em altas doses) e à etionamida.
- III - Se for identificada somente uma mutação inferida no gene *inhA*, sem mutação no gene *katG*, recomenda-se realizar o TS fenotípico.
- IV - Mesmo na ausência de mutações no gene *inhA*, a resistência a etionamida não pode ser excluída pois há o envolvimento de outros genes não avaliados.
- V - Caso seja identificada mutação no gene *gyrA* e/ou *gyrB*, responsáveis por conferir resistência de baixo nível à moxifloxacina, recomenda-se realizar o TS fenotípico, a depender da interpretação laboratorial.
- VI - Uma mutação inferida no gene *rrs* pode não ter relação com a resistência à amicacina e ela pode ser eficaz.
- VII - Para fins de monitoramento dos insumos utilizados para diagnóstico dos agravos de interesse em saúde pública fornecidos pela Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública, preconiza-se a utilização da base de dados do Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL). Além, o sistema GAL possibilita a otimização, o acompanhamento das etapas de realização dos exames, a emissão de relatórios quantitativos, gerenciais e epidemiológicos e subsidia a tomada de decisão deste Ministério da Saúde no direcionamento de ações em saúde pública.
- VIII - Para a realização do LPA direto de amostra de escarro, há a necessidade de fluxo de transporte de amostra e estrutura laboratorial adequada, com equipamentos específicos, assim, o teste estará disponível em locais pré-definidos localmente. Para verificar a disponibilidade do LPA na sua rede assistencial, entrar em contato com a coordenação de TB do estado, e Lacen.
- IX - Informações adicionais e detalhadas sobre as questões laboratoriais de execução do teste, poderão ser encontradas no OFÍCIO CONJUNTO CIRCULAR Nº 17/2022/CGLAB/DAEVS/CGDR/DCCI/SVS/MS.
- X - Para informações sobre o tratamento da TB DR, consultar NOTA INFORMATIVA Nº 9/2021-CGDR/.DCCI/SVS/MS.

Referências:

1. GLI, Global Laboratory Initiative. Line probe assays for detection of drug-resistant tuberculosis: interpretation and reporting manual for laboratory staff and clinicians. Geneva: World Health Organization; 2022.
2. Hain Lifescience GmbH. Instruções de uso GenoType MTBDRplus. Disponível em https://www.biometrix.com.br/wp-content/uploads/2017/07/MTBDRplusV2_0615_304A-06-06.pdf.
3. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. Manual de Recomendações para o Diagnóstico Laboratorial de Tuberculose e Micobactérias não Tuberculosas de Interesse em Saúde Pública no Brasil. – Brasília: Ministério da Saúde, 2022.
4. WHO. The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to isoniazid and rifampicin. Geneva, World Health Organization, 2016.
5. WHO. The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs. Policy guidance. Geneva, Suíça: World Health Organization 2016.
6. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologias e Insumos Estratégicos. Portaria nº 43. Incorporar os testes comerciais de sondas em linha para detecção do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) e de mutações nas regiões determinantes de resistência à rifampicina e isoniazida (1ª linha) e a fluoroquinolonas e aminoglicosídeos (2ª linha), no âmbito do Sistema Único de Saúde – SUS
7. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. Coordenação-Geral de Vigilância das Doenças de Transmissão Respiratória de Condições Crônicas. OFÍCIO CIRCULAR Nº 12/2021/CGDR/.DCCI/SVS/MS. Recomendações de biossegurança laboratorial no contexto do diagnóstico laboratorial de tuberculose (TB).

PATRÍCIA BARTHOLOMAY OLIVEIRA
Coordenadora-Geral Substituta
Coordenação-Geral de Vigilância das Doenças de Transmissão Respiratória de Condições Crônicas

GERSON FERNANDO MENDES PEREIRA
Diretor
Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis

THIAGO FERREIRA GUEDES
Coordenador-Geral
Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública

BRENO LEITE SOARES
Diretor
Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde



Documento assinado eletronicamente por **Patrícia Bartholomay Oliveira, Coordenador(a)-Geral de Vigilância das Doenças de Trans. Resp. de Condições Crônicas substituto(a)**, em 28/12/2022, às 10:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º, do art. 4º, do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#); e art. 8º, da [Portaria nº 900 de 31 de Março de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gerson Fernando Mendes Pereira, Diretor(a) do Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis**, em 28/12/2022, às 14:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º, do art. 4º, do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#); e art. 8º, da [Portaria nº 900 de 31 de Março de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Ferreira Guedes, Coordenador(a)-Geral de Laboratórios de Saúde Pública**, em 29/12/2022, às 14:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º, do art. 4º, do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#); e art. 8º, da [Portaria nº 900 de 31 de Março de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Breno Leite Soares, Diretor(a) do Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde**, em 29/12/2022, às 16:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º, do art. 4º, do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#); e art. 8º, da [Portaria nº 900 de 31 de Março de 2017](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.saude.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0031046166** e o código CRC **97AF2363**.

Brasília, 27 de dezembro de 2022.

Referência: Processo nº 25000.176707/2022-31

SEI nº 0031046166

Coordenação-Geral de Vigilância das Doenças de Transmissão Respiratória de Condições Crônicas - CGDR
SRTV 702, Via W5 Norte - Bairro Asa Norte, Brasília/DF, CEP 70723-040
Site - <http://www.aids.gov.br/>