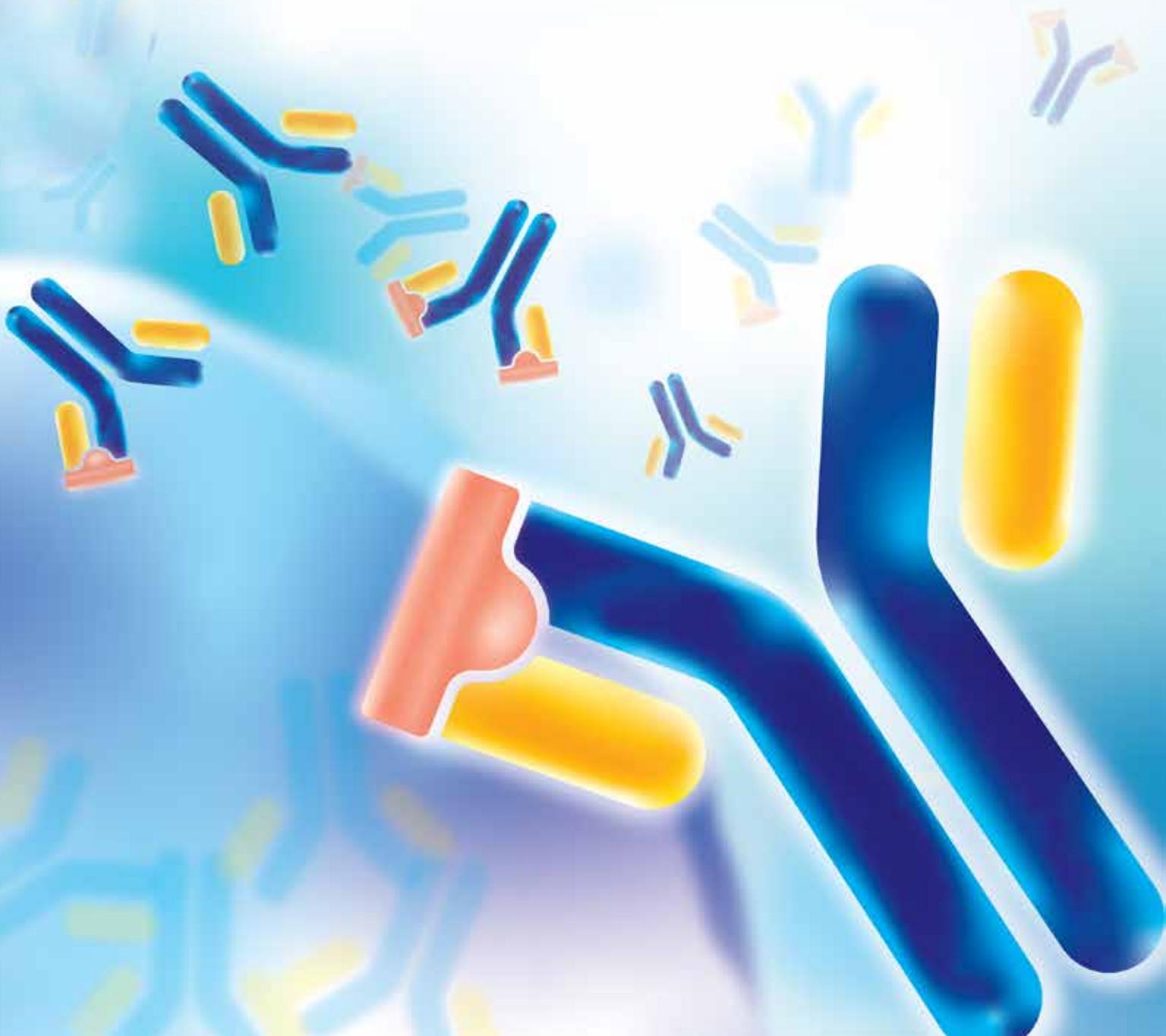


Implementação prática do ensaio de fluxo lateral do lipoarabinomanano (LF-LAM) na urina para detecção da tuberculose ativa em pessoas que vivem com VIH



Implementação prática do ensaio de fluxo lateral do lipoarabinomanano (LF-LAM) na urina para detecção da tuberculose ativa em pessoas que vivem com VIH



ÍNDICE

Prefácio	iv
Agradecimentos	v
Abreviaturas	vi
Público-Alvo	vii
Introdução	viii
Conceitos básicos sobre o Ensaio de Fluxo Lateral AlereLAM	3
Princípios do ensaio.....	3
AlereLAM: especificações do produto.....	5
Materiais necessários para o teste.....	5
Colheita e conservação de amostras.....	6
Procedimento.....	6
Leitura e interpretação.....	7
Boas práticas de biossegurança e eliminação de resíduos.....	8
Finalidade do AlereLAM nos algoritmos de diagnóstico da TB	9
Considerações sobre os algoritmos.....	9
Considerações para o lançamento do AlereLAM	15
Implementação nacional.....	15
Considerações sobre a implementação.....	15
Lições retiradas.....	17
Garantia da qualidade	20
Sistemas de garantia da qualidade.....	20
Manutenção e reparação de equipamentos.....	20
Visitas de supervisão no terreno.....	20
Testes de controlo da qualidade.....	21
Testes de proficiência.....	22
Monitorização e avaliação de indicadores de qualidade.....	22
Informações de aquisição	23
Informações do produto.....	23
Previsão das encomendas para o lançamento do AlereLAM.....	24
Testes de diagnóstico rápidos LF-LAM no pipeline.....	24
Referências	25
Anexos	29
Anexo 1. Resumo das alterações de política, 2015 e 2019.....	29
Anexo 2. Procedimento operacional de referência para executar o ensaio Alere Determine TB LAM Ag Lateral Flow Assay.....	31

PREFÁCIO

Este guia prático pretende ajudar os países a implementar e incorporar o ensaio Alere Determine™ TB LAM Ag (antigénio) no algoritmo de diagnósticos de rotina da tuberculose (TB). O guia contém novas evidências coligidas a partir de diversos estudos realizados após a publicação em 2015 da primeira política da Organização Mundial de Saúde (OMS) sobre o uso do teste de fluxo lateral para deteção do lipoarabinomanano (LF-LAM) na urina, a qual foi atualizada em novembro de 2019.

O LF-LAM irá ajudar no diagnóstico da TB ativa em adultos, adolescentes e crianças que vivem com VIH e que:

- cheguem às unidades de internamento com sinais e sintomas de TB, com VIH em estado avançado ou que estejam gravemente doentes; ou, independentemente de terem sinais e sintomas de TB, que apresentem uma contagem de CD4 inferior a 200 células/mm³ em contexto de internamento;
- cheguem às unidades de cuidados de ambulatório com sinais e sintomas de TB ou que estejam gravemente doentes; ou, independentemente de terem sinais e sintomas de TB, que apresentem uma contagem de CD4 inferior a 100 células/mm³ em contexto de ambulatório.

Este guia inclui novas recomendações acerca da incorporação deste teste nos algoritmos de diagnóstico, considerando critérios específicos para o testar em contexto de internamento e ambulatório e contendo outras informações sobre o procedimento laboratorial para efetuar o ensaio e as lições retiradas, que irão ajudar os países a implementar o teste de forma mais rápida e fácil.

Embora a OMS aprove o uso do LF-LAM e tenha reforçado as suas recomendações em 2019, o ensaio tem tido uma implementação e aceitação lentas, sobretudo em locais com elevada incidência de TB e VIH.

A Global Laboratory Initiative espera que este guia prático ajude os implementadores a compreender o funcionamento do ensaio LF-LAM e a encorajar os países a introduzi-lo nos cuidados de saúde habitualmente prestados nos locais de atendimento a pessoas que vivem com VIH, a fim de fazer o melhor uso das ferramentas disponíveis para reduzir o subdiagnóstico da TB nesta população e diminuir a mortalidade global.

AGRADECIMENTOS

O presente guia foi redigido pelo grupo principal da Global Laboratory Initiative (GLI). A sua elaboração foi liderada por Martina Casenghi (Elizabeth Glaser Pediatric AIDS Foundation, Genebra, Suíça), Kathleen England (consultora independente), Petra de Haas (Fundação para a Tuberculose KNCV, Haia, Holanda), Wayne van Gemert (Parceria Stop TB, Genebra, Suíça), Heather Alexander (Centros de Controlo e Prevenção de Doenças, Atlanta, GA, Estados Unidos) e Patricia Hall (Centros de Controlo e Prevenção de Doenças, Atlanta, GA, Estados Unidos) sob a coordenação da secretária do grupo de trabalho da GLI no âmbito do Programa Global Contra a TB da Organização Mundial de Saúde (OMS). A finalização deste guia coube a Marcela de Melo Freitas (consultora independente), sob a coordenação de Lice González-Angulo, Alexei Korobitsyn e Cecily Miller (Programa Global Contra a TB da OMS, Genebra, Suíça).

Uma palavra de agradecimento é dirigida aos seguintes membros do grupo principal da GLI e aos especialistas em saúde pública e ensaios laboratoriais: Maka Akhalaia, Uladzimir Antonenka, Khalide Azam, Roger Calderon, Sarabjit Singh Chadha, Fernanda Dockhorn Costa, Lucilaine Ferrazoli, Christopher Gilpin, Sarder Tanzir Hossain, Marguerite Massinga Loembe, Daniel Orozco, Kaiser Shen, Alena Skhrahina, Khairunisa Suleiman, Elisa Tagliani, Sabira Tahseen, Abiola Olajumoke Tubi e Hung Van Nguyen. Muito agradecemos também o feedback dado por Lara Vojnov dos Programas Globais contra a VIH, a Hepatite e as Infecções Sexualmente Transmissíveis da OMS.

A GLI é grata aos Médicos Sem Fronteiras, sobretudo a Helena Huerga e Zee Ndlovu por disponibilizarem os procedimentos operacionais de referência para realizar o ensaio Alere Determine™ TB LAM Ag e pela partilha das experiências de implementação do teste nos respetivos países.

Os autores tomaram todas as precauções razoáveis para verificar as informações contidas nesta publicação. No entanto, o material publicado é distribuído sem qualquer garantia expressa ou implícita. É da responsabilidade do leitor interpretar e usar o material. Em caso algum poderão os autores ser responsabilizados por danos decorrentes do seu uso.

Este guia foi editado por Miriam Pinchuk. A configuração e o design foram concebidos por Inís Communication.

A GLI é um grupo de trabalho da Parceria Stop TB. A elaboração e publicação deste documento foram possíveis graças ao apoio financeiro da Agência dos Estados Unidos para o Desenvolvimento Internacional.

ABREVIATURAS

Ag	antigénio
AlereLAM	ensaio Alere Determine™ TB LAM Ag
BAAR	bacilos álcool-ácido resistentes
CrAg	antigénio criptocócico
DMRR	diagnóstico molecular rápido recomendado pela OMS
DRR	diagnóstico rápido recomendado pela OMS
FIND	Foundation for Innovative New Diagnostics
GDF	Global Drug Facility
GLI	Global Laboratory Initiative
LAMP	amplificação isotérmica mediada por loop
LAM	proteína lipoarabinomanano
LF-LAM	ensaio de fluxo lateral para deteção do lipoarabinomanano
MTB	Mycobacterium tuberculosis
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	reação em cadeia da polimerase
PNCT	programa nacional contra a tuberculose
PS	profissionais de saúde
RXT	radiografia torácica
TAR	<i>terapêutica antirretroviral</i>
TB	tuberculose
TB-DR	TB resistente a medicamentos
TB-MDR	TB multirresistente
VEA	VIH em estado avançado
VIH	vírus da imunodeficiência humana

PÚBLICO-ALVO

O público-alvo deste guia prático abrange responsáveis pela elaboração de políticas nacionais e subnacionais, profissionais de saúde na linha da frente, coordenadores de programas de VIH e TB e os principais intervenientes em programas de TB, incluindo parceiros de implementação.

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é a principal causa de morte de seres humanos em todo o mundo por ação de um único agente infeccioso, o *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), superando o VIH/SIDA. Estima-se que aproximadamente 2 mil milhões de pessoas (25 % da população mundial) estejam infetadas com MTB, das quais 5 a 10 % têm um risco vitalício de desenvolver TB ativa a partir da infeção por TB (1). O mais recente relatório global de TB estimou que cerca de 10 milhões de pessoas desenvolveram TB ativa em 2019. A probabilidade de desenvolver TB ativa aumenta em proporção da presença de determinados fatores de risco ou comorbidades como a infeção por VIH. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2017, os 38 milhões de pessoas que vivem com VIH tinham um risco de desenvolver TB ativa 18 vezes superior ao da restante população mundial (1). Em 2019, foram notificados ao todo 456 426 casos de TB entre pessoas VIH positivas e cerca de 208 000 mortes pela doença na mesma população. Devido aos avanços recentes no diagnóstico e tratamento, registou-se na última década um decréscimo global no número de casos de TB e de casos de morte entre pessoas coinfectadas com TB e VIH. Contudo, ainda subsistem fortes lacunas e desafios no que toca à identificação precoce de todos os casos de TB entre pessoas VIH positivas. Em 2015, uma revisão sistemática da literatura sobre a prevalência da TB, identificada em autópsias, revelou que esta continua a ser a infeção oportunista com maior incidência sobre aquela população (2). A TB diagnosticada em autópsias foi responsável por quase 40 % dos óbitos relacionados com o VIH em adultos que ocorreram em unidades de saúde (2). Esta estimativa era superior à da ONUSIDA-OMS, segundo a qual a TB era responsável por 25 % dos óbitos relacionados com o VIH e a SIDA em todo o mundo. Em 2019, dos 815 000 casos de TB associados ao VIH estimados em todo o mundo, apenas 56 % foram declarados, em parte, possivelmente devido a subdiagnósticos e ao acesso subótimo a serviços de saúde (1).

Melhorar o acesso a um diagnóstico da TB precoce e rápido é um dos princípios fundamentais da luta contra a TB ativa e um pilar da estratégia «fim da TB» da OMS (3). O diagnóstico precoce da TB entre pessoas VIH positivas representa muitas vezes um desafio, já que as manifestações clínicas da TB ativa na presença concomitante de uma infeção por VIH dependem em grande medida do nível de imunossupressão (4).

Os testes convencionais de baciloscopia do escarro para diagnóstico da TB têm sensibilidade reduzida em pessoas VIH positivas, sobretudo se estas estiverem gravemente doentes (5).¹ Nas pessoas VIH positivas, a TB geralmente não produz lesões pulmonares cavitárias, pelo que o escarro pode ter uma baixa carga bacilar. Consequentemente, existe uma percentagem significativa de pessoas com baciloscopia negativa ou incapazes de produzir escarro. Além disso, existem outros desafios que dificultam o diagnóstico da TB (6), incluindo a sua manifestação clínica atípica, com elevada prevalência de TB extrapulmonar e formas de TB disseminada em pessoas com imunossupressão avançada.

Com o advento das tecnologias moleculares rápidas, existem agora diagnósticos de TB mais precisos e mais acessíveis a todos os doentes, incluindo os que têm TB com baciloscopia negativa e VIH associado (7). Há uma variedade de testes de amplificação de ácidos nucleicos como o da reação em cadeia da polimerase (PCR), o PCR em tempo real e o teste de amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) para diagnóstico da TB (8-12). Contudo, a eficácia de outros diagnósticos rápidos recomendados pela OMS como o TB-LAMP, o Truenat™ MTB e o Truenat™ MTB Plus (Molbio Diagnostics, Goa, Índia) não foi avaliada na íntegra para adultos e crianças que vivem com VIH (13). Outras tecnologias como o ensaio Xpert® MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, CA, Estados Unidos) e, mais recentemente, o ensaio Xpert® MTB/RIF Ultra são recomendados pela OMS como testes de diagnóstico inicial em adultos e crianças, incluindo nos casos em que há suspeita de TB associada ao VIH (11, 12). Enquanto o ensaio Xpert® MTB/RIF atinge uma sensibilidade agregada de 85 % em todos os adultos com TB pulmonar, esta sensibilidade diminui para 81 % em pessoas que vivem com VIH, decaindo ainda para 67 % em pessoas com TB com baciloscopia negativa e cultura positiva (13); porém, o ensaio Xpert MTB/RIF Ultra tem uma sensibilidade de mais 10 % em doentes com baciloscopia negativa e cultura positiva e de mais 7 % em pessoas VIH positivas.

Embora estes ensaios moleculares tenham ajudado a colmatar as lacunas no diagnóstico da TB ao facultarem resultados mais rápidos e sensíveis para detetar a doença entre pessoas que vivem com VIH, o acesso a um diagnóstico atempado e um tratamento eficaz continua a impor desafios. Na maioria dos países em que a TB é endémica, os dispositivos de GeneXpert para estes ensaios foram maioritariamente destinados aos laboratórios de nível distrital, sobretudo devido às infraestruturas requeridas e à necessidade de alocar um orçamento sustentável à aquisição e manutenção de ferramentas de diagnóstico, entre outras. Por conseguinte, o acesso ao ensaio Xpert® MTB/RIF no local de atendimento é restrito (14) onde haja recursos limitados e uma elevada incidência de TB. A falta de um fornecimento ininterrupto de eletricidade e de uma infraestrutura laboratorial adequada, o uso de algoritmos de diagnóstico restritos e a ineficácia ou insuficiência dos

¹ Um adulto ou adolescente gravemente doente é definido com base em quatro sinais de perigo: frequência respiratória > 30 respirações/minuto, temperatura > 39 °C, frequência cardíaca > 120 batimentos/minuto ou impossibilidade de caminhar sem auxílio. Uma criança gravemente doente é definida como tendo qualquer um dos seguintes sinais de perigo: letargia ou perda de consciência, convulsões, incapacidade de beber ou mamar ou vômitos constantes.

mecanismos de reenaminhamento de amostras são alguns dos desafios que limitam frequentemente o acesso dos doentes aos testes moleculares rápidos (15-18). Além disso, em pessoas VIH positivas, a natureza paucibacilar da TB e a escassa produção de escarro dificultam o uso dos testes moleculares baseados em amostras de escarro.

O lipoarabinomanano (LAM) é um fator de virulência imunogénico que é libertado por células bacterianas metabolicamente ativas ou em degradação, sendo específico das espécies de micobactérias (19). O LAM foi caracterizado pela primeira vez em 1980 como um potencial marcador da TB ativa (19), sendo o marcador biológico da TB mais estudado até hoje. Os fatores que tornam o LAM num biomarcador atrativo para a TB passam por este ser derivado e específico de espécies de micobactérias; é abundante na parede celular das bactérias do MTB; tem estabilidade térmica e protease estável; e tem epitopos que são únicos para o MTB. Além disso, diversos estudos demonstraram que, em doentes com TB, o LAM é encontrado na urina (24, 25), tal como no sangue e no escarro (20-23). Sabe-se que os níveis de LAM na urina são elevados em pessoas com coinfeção por VIH-TB e que aumentam com a diminuição da contagem das células CD4 (26). Os antígenos micobacterianos presentes no soro ou na urina captaram o interesse de investigadores, pois este tipo de biomarcador de TB não requer a colheita de uma amostra de escarro, podendo ser facilmente medido em testes rápidos na forma de imunoensaios de baixo custo. Estas características levaram ao desenvolvimento do ensaio de fluxo lateral para deteção do LAM (LF-LAM), que foi comercialmente disponibilizado como teste rápido para ser usado no local de atendimento, permitindo detetar o LAM micobacteriano em amostras de urina.

Em 2015, o Programa Global Contra a TB da OMS criou um grupo destinado a elaborar diretrizes para analisar evidências do uso do LF-LAM. O Grupo de Elaboração de Diretrizes recomendou a utilização do ensaio como teste simples a efetuar no local de atendimento para ajudar no diagnóstico da TB em adultos VIH positivos internados com sinais e sintomas de TB e com uma contagem de CD4 \leq 100 células/mm³ ou em pessoas VIH positivas que estejam gravemente doentes, independentemente da contagem de CD4, ou cuja contagem de CD4 seja desconhecida (27). Generalizando os dados dos doentes internados, esta recomendação também se aplicava a adultos VIH positivos tratados em contexto de ambulatório e que tivessem sinais e sintomas de TB (pulmonar, extrapulmonar ou ambas) e uma contagem de CD4 \leq 100 células/mm³ ou que estivessem gravemente doentes, independentemente da contagem de CD4. Com base na generalização dos dados de adultos, esta recomendação aplicava-se igualmente a crianças a viver com VIH que tivessem sinais e sintomas de TB (pulmonar, extrapulmonar ou ambas), reconhecendo, contudo, a escassez de dados e o receio motivado pela baixa especificidade do LF-LAM para este grupo populacional.

As evidências e recomendações aplicavam-se somente ao uso do ensaio Alere Determine™ TB LAM Ag (antígeno) (AlereLAM; Abbott Laboratories, Lake Bluff, IL, EUA). Além disso, em 2016, a OMS também emitiu diretrizes *consolidadas sobre o uso de medicamentos antirretrovirais para o tratamento e prevenção da infeção por VIH*, que recomendam o uso do LF-LAM para diagnóstico da TB em pessoas VIH positivas com baixas contagens de CD4 ou que estejam gravemente doentes (28).

Embora as evidências analisadas pelo Grupo de Elaboração de Diretrizes apoiassem o uso do LF-LAM como teste de diagnóstico da TB em adultos VIH positivos que preenchessem os requisitos supra indicados, evidências recentes levaram a OMS a rever e alargar as recomendações sobre o uso do LF-LAM e a divulgar em novembro de 2019 uma política atualizada (29).

A política atualizada (29) para o diagnóstico da TB ativa em pessoas VIH positivas inclui diversas alterações que alargam e consolidam o âmbito das recomendações anteriores, ampliam os critérios de teste e melhoram a qualidade das evidências (Quadro 1). No Anexo 1, poderá consultar um resumo das alterações à política de 2015 feitas na versão atualizada de 2019.

A nova revisão sistemática para atualização da política de LF-LAM avaliou o rigor do AlereLAM como teste de diagnóstico e o respetivo impacto sobre os efeitos importantes nos doentes como a mortalidade por TB (29). A taxa de risco agregado de mortalidade era de 85 % para doentes com VIH em estado avançado (VEA). A precisão foi avaliada em diferentes grupos, incluindo pessoas com ou sem sintomas, com base na respetiva contagem de CD4, bem como na contagem de CD4 juntamente com as circunstâncias do teste (i. e., teste efetuado num laboratório hospitalar em contexto de internamento ou por profissionais de saúde treinados em contexto de ambulatório). Os resultados desta revisão sistemática mostraram uma diferença ligeira e insignificante no rigor do teste comparativamente à política de 2015. A sensibilidade agregada do AlereLAM para adultos VIH positivos com sinais e sintomas de TB era de 42 % e a especificidade agregada era de 91 %. Contudo, as evidências analisadas mostraram a significância do teste para um grupo específico: o dos doentes internados com ou sem sinais e sintomas de TB e uma contagem de CD4 $<$ 200 células/mm³. A política de 2015 recomendava que o AlereLAM fosse usado como auxiliar de diagnóstico em pessoas com contagem de CD4 $<$ 100 células/mm³ ou que estivessem gravemente doentes; no entanto, a política de 2019 recomenda que todos os doentes internados com VIH em estado avançado (contagem de CD4 $<$ 200 células/mm³) e que sejam incapazes de produzir escarro sejam testados com o AlereLAM.

Atualmente, o AlereLAM é o único LF-LAM rápido aprovado pela OMS que está disponível no mercado para testar amostras de urina nos locais de tratamento, embora haja outros ensaios em desenvolvimento. Sendo um ensaio simples, rápido e de baixo custo que não requer instrumentos ou infraestruturas adicionais, incrementar a sua aceitação poderia melhorar o impacto e a utilidade do teste em áreas com recursos limitados onde o VIH ou a TB seja de natureza endémica.

Quadro 1. Política atualizada da OMS (2019) sobre o uso do ensaio Alere Determine™ TB LAM Ag (antigénio) (AlereLAM)

Em contexto de internamento

A OMS recomenda vivamente o uso do AlereLAM (lipoarabinomanano) para ajudar no diagnóstico da TB ativa em adultos, adolescentes e crianças VIH positivos:

- com sinais e sintomas de TB (pulmonar ou extrapulmonar) ou
- com VIH em estado avançado^a ou
- que estejam gravemente doentes ou
- independentemente de terem sinais e sintomas de TB, cuja contagem de CD4 seja inferior a 200 células/mm³.

Em contexto de ambulatório

A OMS sugere a utilização do AlereLAM para ajudar no diagnóstico da TB ativa em adultos, adolescentes e crianças VIH positivos:

- com sinais e sintomas de TB (pulmonar e/ou extrapulmonar) ou
- que estejam gravemente doentes ou
- independentemente de terem sinais e sintomas de TB, cuja contagem de CD4 seja inferior a 100 células/mm³.

Em contexto de ambulatório

A OMS **desaconselha** o uso do AlereLAM para ajudar no diagnóstico da TB ativa em adultos, adolescentes e crianças VIH positivos:

- sem avaliar os sintomas de TB
- sem sintomas de TB e com uma contagem de CD4 desconhecida ou
- sem sintomas de TB e com uma contagem de CD4 ≥ 200 células/mm³ ou
- sem sintomas de TB e com uma contagem de CD4 entre 100 e 200 células/mm³.

Observações

- As evidências e recomendações revistas aplicam-se apenas à utilização do AlereLAM, dado que os outros ensaios de LAM internos não foram adequadamente validados ou usados fora do âmbito restrito da investigação. Qualquer novo ensaio de LAM deve ser submetido a uma validação conveniente no contexto de utilização pretendido.
- Todos os doentes com sinais e sintomas de TB pulmonar que sejam capazes de produzir amostras de escarro devem fazer um teste rápido (i. e. Xpert®, Truenat™ ou TB-LAMP [teste de amplificação isotérmica mediada por loop])^b para diagnóstico inicial e pelo menos uma amostra de escarro deve ser submetida a um teste molecular rápido. Esta orientação abarca crianças e adolescentes VIH positivos que sejam capazes de produzir uma amostra de escarro.
- Estas recomendações aplicam-se igualmente a adolescentes e crianças VIH positivos, com base na generalização de dados de adultos, reconhecendo, contudo, a escassez de dados para aqueles grupos populacionais.
- O AlereLAM deve ser utilizado como complemento numa avaliação clínica em combinação com outros testes, e não como teste de substituição ou triagem.

^a Em adultos, adolescentes e crianças VIH positivos com idade ≥ 5 anos, o VIH em estado avançado define-se por uma contagem de CD4 < 200 células/mm³ ou por um estágio clínico 3 ou 4 segundo a classificação da OMS aquando da procura de tratamento. Deve considerar-se que todas as crianças com VIH que tenham menos de 5 anos estão em estado avançado quando procuram tratamento.

^b Subsistem dúvidas sobre o uso do teste Truenat em pessoas VIH positivas. Em doentes com baciloscopia negativa, a sensibilidade é menor do que em todos os outros doentes. Os dados indiretos sobre o rigor do teste em doentes com baciloscopia negativa permitiu extrapolar esta recomendação para doentes VIH positivos, devido à inexistência de dados sobre estes doentes. Todavia, quanto mais indiretas forem as evidências sobre o rigor do teste, menor o seu grau de certeza. A utilização do TB-LAMP em pessoas VIH positivas não foi inteiramente avaliada.

CONCEITOS BÁSICOS SOBRE O ENSAIO DE FLUXO LATERAL ALERELAM

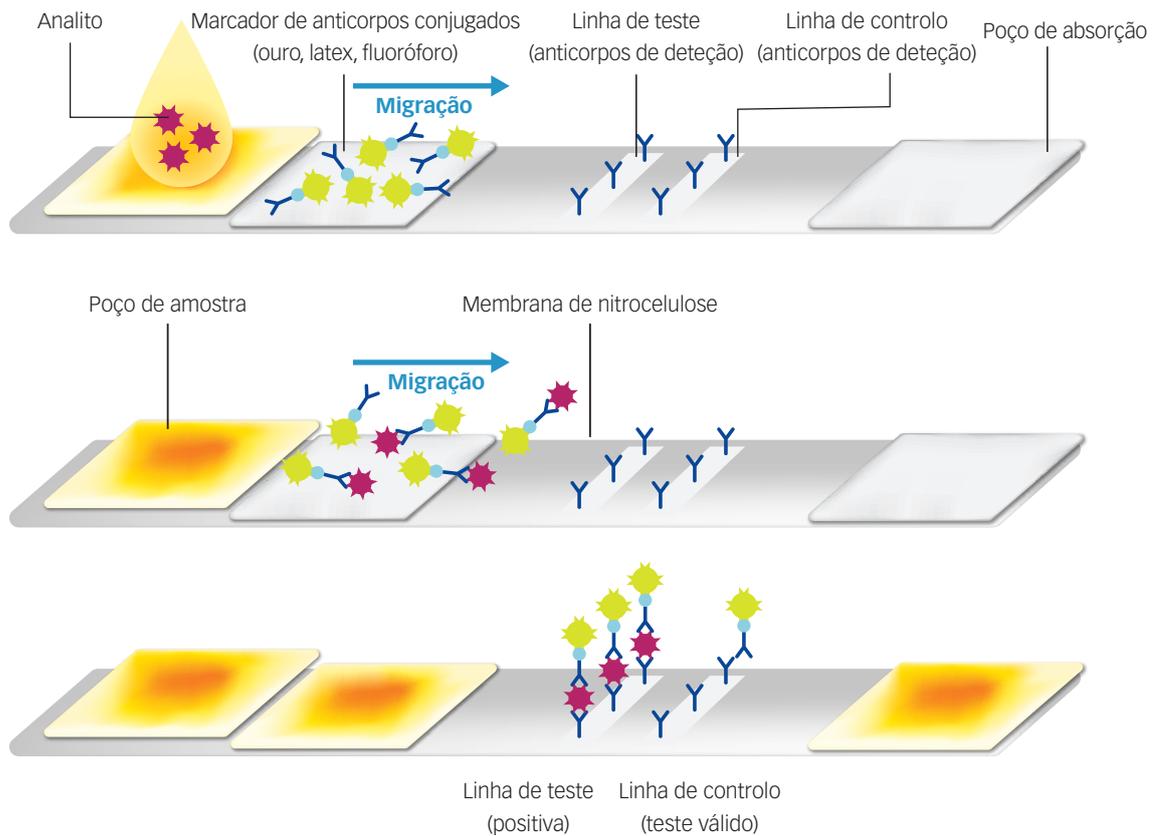
Princípios do ensaio

O AlereLAM consiste num ensaio imunocromatográfico para a deteção qualitativa do antígeno LAM em micobactérias a partir de amostras de urina humana. O LAM é um dos principais componentes lipossacarídeos da parede celular exterior das micobactérias. Trata-se de uma glicoproteína de 17,5 kDa presente na superfície da célula. Em pessoas que vivem com VIH e que estão gravemente doentes, a TB pode disseminar-se por vários órgãos. Uma vez que o LAM é filtrado pelos rins, é detetado na urina, sobretudo em doentes com VEA e TB disseminada. A deteção do LAM na urina é geralmente indicadora de doença grave, que requer tratamento imediato. Além disso, os doentes com TB que sejam imunocomprometidos carecem de uma resposta imunológica típica para conter os bacilos da TB, já que aquela fica comprometida devido ao nível baixo de células CD4. Por conseguinte, os bacilos podem ser degradados e excretados pelos processos metabólicos normais. Em ambos os cenários, o antígeno LAM MTB pode estar presente na urina, tornando a deteção viável para diagnóstico (24, 30).

O teste usa anticorpos policlonais altamente purificados para capturar moléculas LAM (o antígeno-alvo) com um ensaio de imunoabsorção enzimática de fluxo lateral em sandwich (Fig. 1). A amostra é adicionada à fita de teste e o antígeno LAM migra por capilaridade através da tira de modo que (a) se ligue a um anticorpo conjugado com ouro coloidal para formar um imunocomplexo; (b) o imunocomplexo migre por capilaridade através das janelas de controlo e do doente onde é capturado por um anticorpo anti-LAM imobilizado na membrana de nitrocelulose; e (c) a presença do LAM seja confirmada pelo marcador de ouro coloidal. Uma banda cinzento-arroxeadada na janela do doente indica um resultado positivo, mostrando que o antígeno LAM das micobactérias está presente na amostra numa concentração igual ou superior ao limite de deteção do teste (Fig. 2). Caso não haja nenhuma banda visível, o LAM ou não está presente ou poderá estar presente numa concentração inferior ao limite de deteção, pelo que o resultado se considera negativo. Foi adicionada uma janela de controlo para assegurar a validade do teste; deve haver uma linha visível na janela de controlo em todos os testes. A banda de controlo usa um anticorpo com especificidade para o ouro coloidal (31).

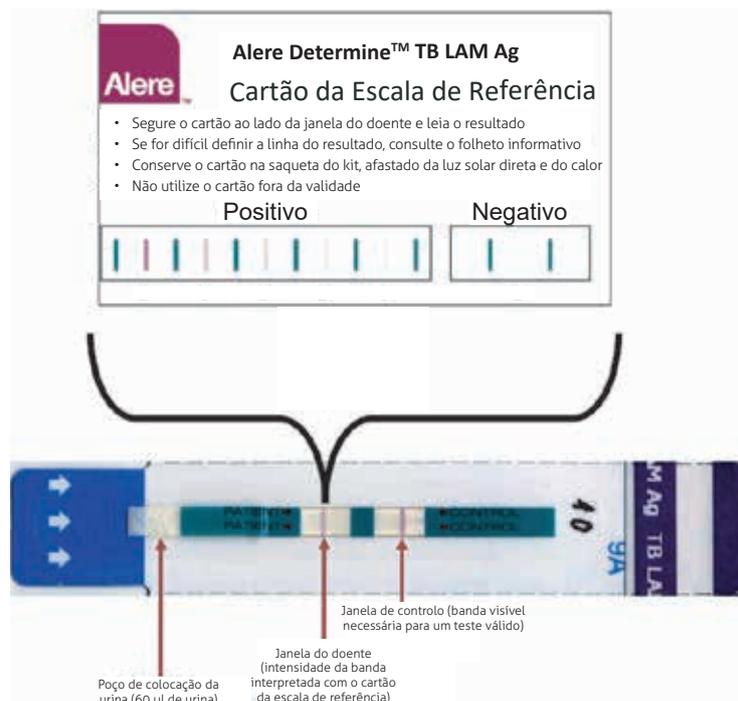
É importante notar que a molécula LAM pode ser encontrada em todas as micobactérias, pelo que o teste não pode distinguir, por exemplo, o MTB de outras espécies de micobactérias, incluindo a *M. leprae* e a *M. avium* (31). Contudo, em regiões de TB endémica e entre a população-alvo para a qual a OMS recomendou o uso do LF-LAM, um resultado positivo traduz com grande probabilidade uma infeção por MTB. Alguns estudos revelaram que a especificidade do AlereLAM varia consoante o teste escolhido para referência (32). A referência geralmente escolhida (i. e., a cultura) é pouco produtiva entre a população visada para o uso deste teste, devido à dificuldade destas pessoas de produzirem boas amostras de escarro e ao maior número de casos de TB disseminada. Por conseguinte, os dados de especificidade para o AlereLAM têm de ser interpretados com cautela, tendo em conta que o teste pode ser capaz de detetar MTB em casos não detetados pelo teste de referência. Embora se recomende sistematicamente efetuar testes de confirmação da TB (p. ex., um teste molecular rápido ou um exame cultural) (13, 29) quando há resultados discrepantes (i. e., AlereLAM positivo e teste molecular rápido negativo ou cultura negativa), a interpretação destes testes tem de considerar as limitações do ensaio Xpert MTB/RIF e da cultura em amostras de escarro paucibacilares (ver [Considerações sobre os algoritmos](#)).

Fig. 1. Princípios gerais* da detecção do antígeno lipoarabinomanano (LAM)



* Uma vez adicionada ao ensaio, a amostra que contém o analito de interesse migra por capilaridade através de uma membrana interna onde se irá ligar primeiro a anticorpos de captura que têm acoplada uma molécula repórter. O complexo analito-anticorpo continua a migrar até alcançar outro conjunto de anticorpos de detecção imobilizados na membrana, que se ligam às moléculas do complexo, congregando-as num local (linha de teste) para detecção. Quaisquer anticorpos de captura (remanescentes) não ligados continuam a migrar e formam um complexo com um segundo conjunto de anticorpos imobilizado numa linha de controle que valida o teste.

Fig. 2. Utilização do Cartão da Escalade Referência para determinar a intensidade das bandas e a validade do ensaio Alere Determine TB LAM Ag



Fonte: reproduzido com a autorização do editor da Eur Respir J. [Revista da Sociedade Respiratória Europeia] 2012;40;1211–20. doi:10.1183/09031936.00201711.

AlereLAM: especificações do produto

O AlereLAM consiste num teste de fluxo lateral para diagnóstico rápido que fornece um resultado em 25 minutos. Trata-se de um teste simples para ser usado no local de atendimento que requer infraestruturas mínimas e pouco treino. Pode ser realizado tanto num laboratório como em ambiente clínico por profissionais de saúde treinados, permitindo a divisão de tarefas na realização do teste e a sua descentralização para as unidades de cuidados de saúde primários. Podem obter-se volumes de amostra precisos usando dispensadores adequados (ver secção seguinte). O teste tem de ser conservado entre 2 e 30 °C, tendo uma validade após abertura de 18 meses. Os kits permanecem estáveis até ao termo da validade quando conservados adequadamente. O fabricante não recomenda a utilização do teste com nenhum tipo de amostra que não seja de urina.

Materiais necessários para o teste

O kit de teste AlereLAM contém 10 carteiras de 10 testes cada, um cartão com a Escala de Referência e um folheto informativo (Fig. 3).

Outros materiais necessários para o teste, mas não incluídos no kit são:

- frasco estéril para colheita de urina;
- pipeta ou outro dispositivo capaz de dispensar com precisão 60 µl de urina (pode ser uma micropipeta de 100 µl calibrada munida de pontas com filtro, uma micropipeta de 60 µl de dois bolbos ou uma Pastette);
- temporizador.

Fig. 3. Os materiais necessários para o ensaio Alere Determine TB LAM Ag incluem a carteira de testes, o Cartão da Escala de Referência, um frasco estéril para colheita de urina, uma pipeta e um temporizador



10 carteiras (10 testes/carteira)



Frasco para colheita de urina



Micropipeta de 100 µl com pontas

ou



Micropipeta de 60 µl de dois bolbos



Temporizador

Colheita e conservação de amostras

É altamente recomendado limpar a região urogenital com um toallete de limpeza antes de fazer a colheita da amostra de urina. A urina deve ser colhida, rejeitando a primeira porção, num típico frasco estéril para colheita de amostras de urina. Sempre que possível, devem testar-se amostras frescas, idealmente, logo após a colheita. Na impossibilidade de um teste imediato, a urina pode ser conservada até 8 horas à temperatura ambiente ou até 3 dias entre 2 e 8 °C. Se conservadas entre 2 e 8 °C, as amostras têm de ser postas a temperatura ambiente antes do teste. Para feitos de investigação, as amostras podem ser congeladas a -20 °C. Contudo, o congelamento pode originar a formação de precipitados incomuns. Logo, as amostras descongeladas requerem centrifugação a 10 000 g durante 5 minutos à temperatura ambiente, após o que se pode extrair uma alíquota de 60 µl do sobrenadante limpo para teste. Evite múltiplos ciclos de congelamento-descongelamento (i. e., mais de três) que podem deteriorar o antígeno LAM (31). Lembre-se de que alguns estudos indicaram que a reatividade do LAM na urina desaparece em amostras conservadas durante 3 anos a -20 °C (33). Até à data, ainda não se comparou a estabilidade da urina congelada com a de amostras frescas (34) para o teste AlereLAM.

O fabricante recomenda usar a primeira urina da manhã para garantir o melhor desempenho do teste. A altura ideal para a colheita da amostra foi estudada por Gina et al. na África do Sul (35); o estudo demonstrou que ao usar-se a primeira urina da manhã de doentes VIH positivos hospitalizados, a sensibilidade do teste aumentava em 14 % para doentes com TB provável e em 27 % para doentes com TB confirmada. Consequentemente, o momento de colheita da urina deve ser tido em conta para assegurar um resultado claro ou quando se repete um teste após um primeiro resultado inconclusivo.

Procedimento

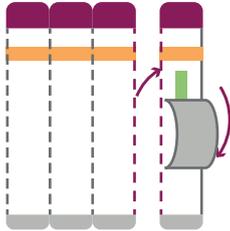
O procedimento básico está esquematizado na [fig. 4](#) e o procedimento operacional de referência está esquematizado no [Anexo 2](#). É importante usar a fita de teste nas primeiras 2 horas após remover a tira de proteção. Se testar mais de uma amostra, acautele a devida etiquetagem de todas as fitas de teste para que estas sejam corretamente associadas às respetivas amostras dos doentes. A bancada de trabalho deve estar livre de materiais não utilizados no teste e ser limpa com desinfetante. Para assegurar o rigor do teste, é importante seguir um fluxo de trabalho organizado em termos de execução e tempo.

As principais etapas são:

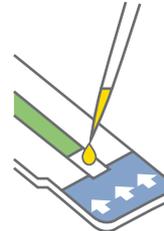
- (1) remover a tira de proteção de todas as fitas de teste necessárias e certificar-se de que as etiqueta devidamente, associando-as às respetivas amostras dos doentes;
- (2) adicionar 60 µl de urina ao poço de amostra usando uma pipeta de precisão ou dispositivo alternativo;
- (3) esperar 25 minutos e ler de seguida os resultados. Os resultados mantêm-se estáveis durante 35 minutos. Não os leia após 35 minutos;
- (4) verificar os resultados por comparação com o Cartão da Escala de Referência incluído no kit de teste.

Fig. 4. Procedimento do ensaio Alere Determine TB LAM Ag

- 1 Preparar o teste**
Destaque uma fita do lado direito e remova a proteção.



- 2 Adicionar a amostra**
Coloque 60 µl de urina no poço de amostra.



- 3 Ler os resultados**
Espere 25 minutos e leia os resultados.

	Linha	Reativo	Não reativo	Inválido
Controlo				
Doente				



- 4 Verificar os resultados**
Por comparação com o Cartão da Escala de Referência incluído.



Leitura e interpretação

O teste tem incorporada uma janela de controlo que atua como medida interna de controlo de qualidade (Fig. 5). Para que o teste seja válido, tem de existir sempre uma banda visível na janela de controlo. Se a banda de controlo não for visível, o teste é inválido e a amostra deve ser testada novamente. Todos os kits de teste incluem um cartão com a Escala de Referência que ajuda a interpretar os resultados (Fig. 2). Num teste positivo, deve ver-se uma banda cinzento-arroxeadada nas janelas de controlo e do doente. A cor da banda do doente deve ter uma intensidade igual ou mais escura do que qualquer uma das bandas positivas no Cartão da Escala de Referência. As bandas do doente e de controlo podem diferir em intensidade, mas ambas têm de estar presentes para que um resultado positivo seja válido. As diferentes intensidades de cor no cartão de referência remetem para uma classificação de positividade, sendo o grau 1 o menos intenso, correspondendo à menor concentração de LAM. Embora não seja um teste quantitativo, a intensidade da banda está geralmente relacionada com o nível de LAM presente na amostra. Níveis baixos de LAM que estejam próximos do limite de deteção podem ser difíceis de interpretar.

É importante ter em conta que na atual versão do teste pode surgir na janela do doente uma banda tênue mais clara que a primeira banda positiva do cartão de referência. Neste caso, o resultado do teste deve ser considerado negativo ou indeterminado. Os primeiros implementadores do AlereLAM relataram que um dos principais desafios operacionais na utilização do teste consistia na interpretação dos resultados cuja banda tivesse uma intensidade igual ou inferior ao grau 1. Por conseguinte, é crucial abordar esta questão em ações de formação e na avaliação de competências e debater a forma correta de relatar este tipo de resultados (Fig. 6).

Fig. 5. Procedimento interno de controlo da qualidade para garantir a validade do teste

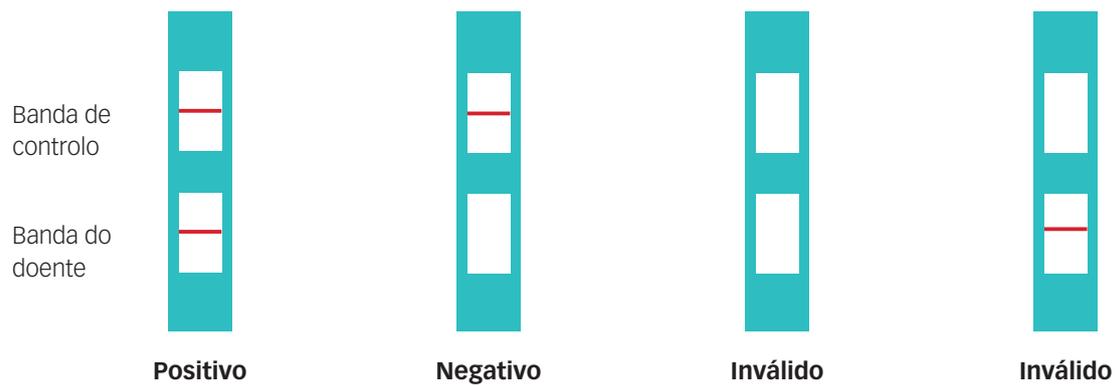


Fig. 6. Exemplo de uma banda com intensidade pouco clara ou dúbia, por vezes observada no ensaio Alere Determine TB LAM Ag, que dificulta a interpretação dos resultados



Boas práticas de biossegurança e eliminação de resíduos

À semelhança do que se faz para qualquer teste de amostras biológicas, devem adotar-se as boas práticas de biossegurança e gestão de resíduos em conformidade com as diretrizes de biossegurança de cada laboratório e o normal procedimento clínico. Recomenda-se o uso de equipamento de proteção individual para manusear amostras clínicas (p. ex., bata de laboratório, luvas). As áreas de trabalho para realização dos testes devem estar limpas e bem organizadas.

FINALIDADE DO ALERELAM NOS ALGORITMOS DE DIAGNÓSTICO DA TB

De harmonia com as diretrizes da OMS relativas ao tratamento da VEA e ao rápido início da terapêutica antirretroviral, o LF-LAM tem uma importante utilidade no pacote de serviços de saúde que devem ser prestados às pessoas com VEA ou VIH positivas que estejam gravemente doentes, independentemente da contagem de CD4 (36). O pacote de testes de diagnóstico para pessoas com VEA deve ser disponibilizado em todos os níveis do sistema de saúde, devendo incluir, entre outros, a contagem de células CD4, o teste ao antígeno criptocócico (CrAg) no soro, o LF-LAM e os diagnósticos moleculares rápidos da TB recomendados pela OMS. Não obstante as recomendações da política, a implementação do pacote de tratamento do VEA, incluindo o lançamento do LF-LAM, está a progredir lentamente (37).

As diretrizes revistas da OMS relativas à utilização do LF-LAM incluem evidências adicionais sobre a implementação do LF-LAM no diagnóstico da TB entre populações VIH positivas, bem como o enquadramento do teste e a sua importância para orientar o início do tratamento da TB (29). Seguidamente, resumem-se alguns dos achados destes estudos.

- (1) Um estudo efetuado em adultos VIH positivos no Quênia revelou que a inclusão do AlerelAM nos algoritmos de diagnóstico para tratar doentes hospitalizados ou externos gravemente doentes ou com baixa contagem de CD4 melhorou significativamente a qualidade do diagnóstico, sobretudo quando usado como teste complementar de algoritmos que apenas incluíam sinais clínicos e radiografias torácicas (RXT) (mais 36,6 % de deteções) ou sinais clínicos, RXT e baciloscopia (mais 19,9 % de deteções) (38). Verificou-se ainda um aumento no número de deteções ao adicionar-se o AlerelAM a um algoritmo de diagnóstico que incluía o ensaio Xpert MTB/RIF (mais 13,4 % de deteções), mostrando que um ensaio LAM pode ajudar no diagnóstico da TB em doentes em que esta não tenha sido detetada apenas com base no Xpert MTB/RIF (38).
- (2) Um ensaio multinacional publicado em 2016 revelou que o AlerelAM, quando adicionado a algoritmos de diagnóstico que incluíam baciloscopia ou o ensaio Xpert MTB/RIF, teve um papel crucial na redução do tempo de diagnóstico e no tempo até ao início do tratamento em doentes VIH positivos (39). Tal facto é especialmente relevante para doentes VIH positivos que têm maior risco de morte, mas que são incapazes de produzir escarro para uma avaliação de diagnóstico de rotina (5, 39, 40).
- (3) O mesmo ensaio multinacional concluiu que o AlerelAM contribuiu para o diagnóstico rápido e o início do tratamento da TB, tendo sido associado à redução da mortalidade ao fim de 8 semanas entre doentes VIH positivos com pelo menos um sintoma de TB e um estado de gravidade que requeria hospitalização (39).
- (4) Alguns estudos, incluindo a análise de custos e de rentabilidade comparando diferentes estratégias de diagnóstico para deteção da TB em pessoas que vivem com VIH, indicaram que adicionar um ensaio LAM a um algoritmo de diagnóstico da TB pode reduzir os custos inerentes a esse diagnóstico. O teste é altamente rentável quando comparado com os algoritmos de teste que incluem somente baciloscopia ou o ensaio Xpert MTB/RIF em regiões com elevada incidência de TB e VIH como Moçambique e o Uganda (41, 42).

Considerações sobre os algoritmos

Com base nas evidências dos estudos supra referidos e nas recomendações da OMS de 2019 sobre o uso do LF-LAM (29, 43) e a gestão de cuidados de saúde para pessoas com VEA (36), as seguintes considerações práticas devem complementar os algoritmos nacionais e as estratégias para implantar o AlerelAM.

- As populações-alvo que devem ser testadas com o AlerelAM são:

- doentes internados

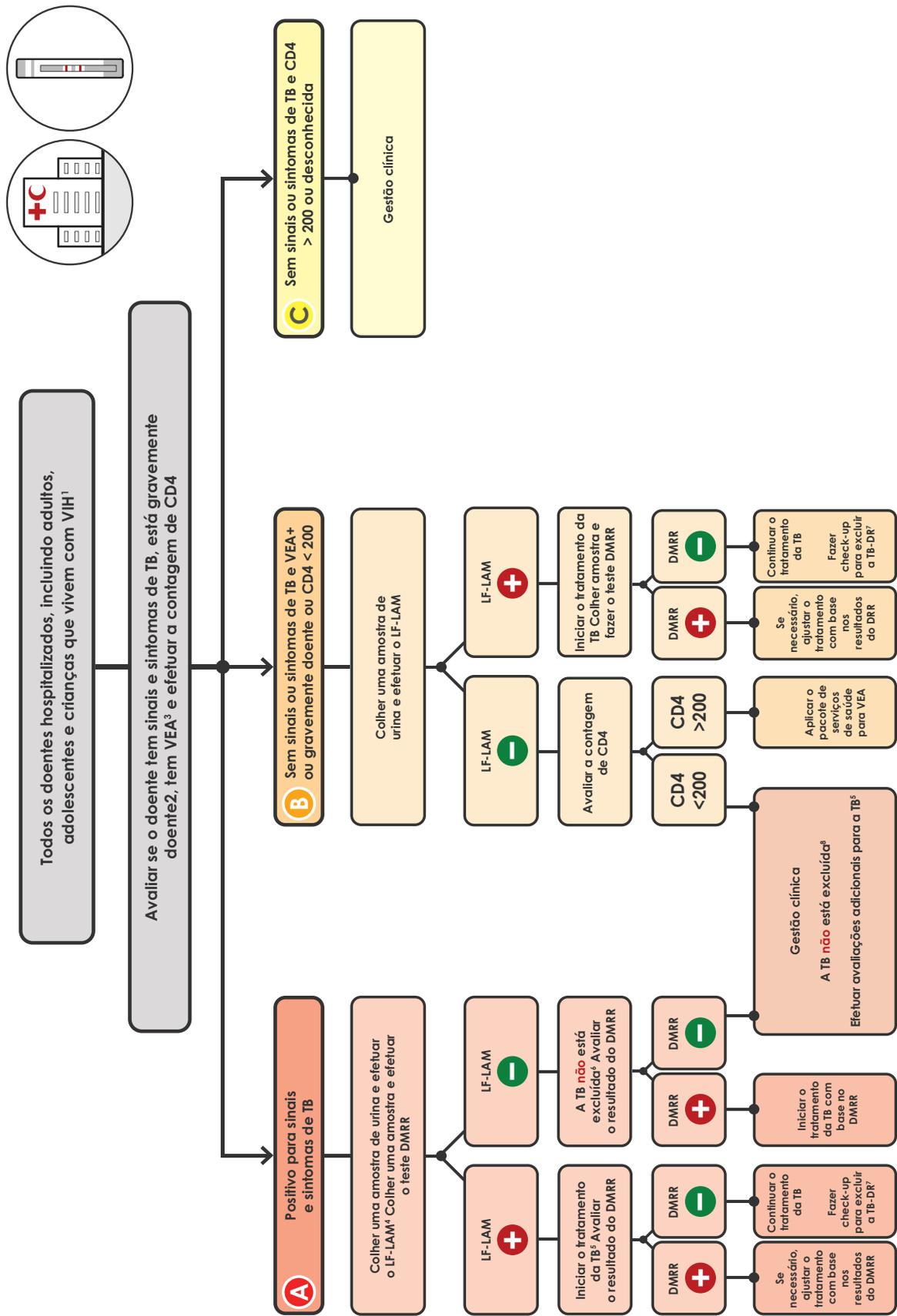
{	Doentes VIH positivos:
	• com sinais e sintomas de TB OU
	• com VEA OU
	• que estejam gravemente doentes
• independentemente de terem sintomas de TB, que tenham uma contagem de CD4 < 200 células/mm ³ ;	
- doentes externos

{	Doentes VIH positivos:
	• com sinais e sintomas de TB OU
	• que estejam gravemente doentes
	• independentemente de terem sinais e sintomas de TB, que tenham uma contagem de CD4 < 100 células/mm ³ .

- Devem considerar-se todas as crianças VIH positivas com idade ≤ 5 anos portadoras de VEA quando estas se apresentam na clínica. Desta forma, são elegíveis para o LF-LAM em qualquer contexto (de internamento ou ambulatório), independentemente de terem ou não sinais e sintomas de TB.
- Os diagnósticos moleculares rápidos recomendados pela OMS devem ser efetuados em paralelo com o LF-LAM nas populações-alvo mencionadas acima. Contudo, a fim de evitar atrasos, as decisões relativas ao tratamento imediato devem basear-se nos resultados do LF-LAM enquanto se aguardam os resultados de outros testes moleculares rápidos.
- No caso de pessoas internadas que estejam gravemente doentes ou acamadas, não sejam capazes de produzir escarro e pertençam a uma das populações-alvo supra mencionadas, o AlereLAM pode ser realizado à beira da cama para ajudar no diagnóstico rápido e na gestão clínica dos doentes em risco de rápida deterioração por TB e de morte. Os médicos devem iniciar de imediato o tratamento da TB com base num resultado de AlereLAM positivo e na sua avaliação clínica enquanto aguardam os resultados de um teste molecular rápido ou a confirmação de um exame cultural, se disponível.
- Os doentes com um resultado de AlereLAM positivo devem iniciar imediatamente o tratamento da TB. Consulte na [Fig. 7](#) a descrição detalhada das considerações sobre o acompanhamento do diagnóstico.

Um resultado negativo no LF-LAM não exclui a TB. Na presença de sinais e sintomas clínicos sugestivos de TB, devem efetuar-se outras avaliações de diagnóstico.

Fig. 7a. Ensaio de fluxo lateral do lipoarabinomanano (LF-LAM) para ajudar no diagnóstico da TB em pessoas VIH positivas em contexto de internamento



Fonte: WHO operational handbook on tuberculosis. Module 3: diagnosis – rapid diagnostics for tuberculosis detection (43)

VEA: VIH em estado avançado; TB-DR: tuberculose resistente a medicamentos; LF-LAM: ensaio de fluxo lateral para deteção do lipoarabinomanano; TB-MDR: tuberculose multirresistente; DMRR: diagnóstico molecular rápido recomendado pela OMS; TB: tuberculose; OMS: Organização Mundial de Saúde; DRR: diagnóstico rápido recomendado pela OMS.

1. As pessoas que vivem com VIH incluem pessoas que são VIH positivas ou cujo estado de VIH é desconhecido — mas que apresentam fortes evidências clínicas de infeção por VIH em cenários onde existe uma elevada prevalência do vírus — e membros de um grupo de risco para o VIH. Todas as pessoas com VIH em estado desconhecido devem ser submetidas a testes de VIH de acordo com as diretrizes nacionais. As pessoas VIH positivas com TB podem também apresentar sinais e sintomas de TB extrapulmonar, incluindo linfadenopatia, meningite ou outras manifestações atípicas que justifiquem uma avaliação.
2. Gravemente doente define-se com base em quatro sinais de perigo: frequência respiratória > 30 respirações/minuto, temperatura > 39 °C, frequência cardíaca > 120 batimentos/minuto ou impossibilidade de caminhar sem auxílio.
3. Para adultos, adolescentes e crianças com idade > 5 anos, VEA define-se por uma contagem de CD4 < 200 células/mm³ ou por um estágio de doença 3 ou 4 segundo a classificação da OMS aquando da procura de tratamento. Considera-se que todas as crianças com idade < 5 anos têm VEA.
4. Os testes LF-LAM e DMRR devem ser efetuados em paralelo. É provável que os resultados do LF-LAM (tempo de teste < 15 minutos) estejam disponíveis antes dos do DMRR; por conseguinte, as decisões sobre o tratamento devem basear-se no resultado do LF-LAM enquanto se espera pelos resultados de outros testes de diagnóstico.
5. Os doentes devem iniciar um regime de tratamento da TB de primeira linha de acordo com as diretrizes nacionais, salvo se apresentarem um risco elevado de ter TB-MDR. Nesse caso, os doentes devem iniciar um regime de tratamento da TB-MDR.
6. Um resultado negativo no LF-LAM não exclui a TB em pessoas sintomáticas. Logo que fique disponível, o resultado do teste DMRR deve ser avaliado para se decidir sobre o tratamento. Ver algoritmo 1 na referência 43 para interpretação dos resultados do DRR molecular.
7. Estão disponíveis métodos fenotípicos (cultura e teste de suscetibilidade aos antimicrobianos) e moleculares (p. ex., ensaios de sonda em linha, sequenciação de ADN e ensaios de elevada produtividade) para avaliar a resistência a medicamentos. Os métodos moleculares rápidos (p. ex., testes de diagnóstico Xpert® MTB/RIF ou Truenat™ MTB) são preferenciais.
8. Resultados negativos nos Xpert® MTB/RIF e LF-LAM não excluem a TB em pessoas sintomáticas. Efetuar avaliações clínicas adicionais para a TB. Estas podem incluir radiografia torácica, exames clínicos adicionais, incluindo a resposta clínica após tratamento com agentes antimicrobianos de espectro alargado e teste DRR ou cultura adicional. Pondere iniciar o tratamento contra infeções bacterianas e pneumonia *pneumocística* com antibióticos de atividade antibacteriana de espectro alargado (não devem usar-se fluoroquinolonas). A resposta clínica deve ser avaliada após 3 a 5 dias de tratamento.

VEA: VIH em estado avançado; TAR: terapêutica antirretroviral; TB-DR: tuberculose resistente a medicamentos; LF-LAM: ensaio de fluxo lateral para detecção do lipoarabinomanano; TB-MDR: tuberculose multirresistente; DMRR: diagnóstico molecular rápido recomendado pela OMS; RIF: rifampicina; TB: tuberculose; OMS: Organização Mundial de Saúde; DRR: diagnóstico rápido recomendado pela OMS.

1. As pessoas que vivem com VIH incluem pessoas que são VIH positivas ou cujo estado de VIH é desconhecido — mas que apresentam fortes evidências clínicas de infecção por VIH em cenários onde existe uma elevada prevalência do vírus — e membros de um grupo de risco para o VIH. Todas as pessoas com VIH em estado desconhecido devem ser submetidas a testes de VIH de acordo com as diretrizes nacionais. As pessoas VIH positivas com TB podem também apresentar sinais e sintomas de TB extrapulmonar, incluindo linfadenopatia, meningite ou outras manifestações atípicas que justifiquem uma avaliação.
2. Gravemente doente define-se com base em quatro sinais de perigo: frequência respiratória > 30 respirações/minuto, temperatura > 39 °C, frequência cardíaca > 120 batimentos/minuto ou impossibilidade de caminhar sem auxílio.
3. Para adultos, adolescentes e crianças com idade > 5 anos, VEA define-se por uma contagem de CD4 < 200 células/mm³ ou por um estágio de doença 3 ou 4 segundo a classificação da OMS aquando da procura de tratamento. Considera-se que todas as crianças com idade < 5 anos têm VEA.
4. Os testes LF-LAM e DMRR devem ser efetuados em paralelo. É provável que os resultados do LF-LAM (tempo de teste < 15 minutos) estejam disponíveis antes dos do DMRR; por conseguinte, as decisões sobre o tratamento devem basear-se no resultado do LF-LAM enquanto se espera pelos resultados de outros testes de diagnóstico.
5. Os doentes devem iniciar um regime de tratamento da TB de primeira linha de acordo com as diretrizes nacionais, salvo se apresentarem um risco elevado de ter TB-MDR. Nesse caso, os doentes devem iniciar um regime de tratamento da TB-MDR. Os regimes de tratamento devem ser adaptados às necessidades com base nos resultados do teste DMRR.
6. Um resultado negativo no LF-LAM não exclui a TB em pessoas sintomáticas. O resultado do teste DMRR deve ser avaliado logo que fique disponível (ver algoritmo 1 na referência 43 para interpretação de resultados do DRR).
7. Estão disponíveis métodos fenotípicos (cultura e teste de suscetibilidade aos antimicrobianos) e moleculares (p. ex., ensaios de sonda em linha, sequenciação de ADN e ensaios de elevada produtividade) para avaliar a resistência a medicamentos. Os métodos moleculares rápidos (p. ex., testes de diagnóstico Xpert® MTB/RIF ou Truenat™ MTB-RIF) são preferenciais. Os resultados do teste DRR devem ser interpretados conforme ilustrado nesta figura.
8. Resultados negativos nos Xpert® MTB/RIF e LF-LAM não excluem a TB em pessoas sintomáticas. Efetuar avaliações clínicas adicionais para a TB. Estas podem incluir radiografia torácica, exames clínicos adicionais e teste DRR ou cultura adicional. Pondere iniciar o tratamento contra infeções bacterianas e pneumonia pneumocística com antibióticos de atividade antibacteriana de espectro alargado (não com fluoroquinolonas). A resposta clínica deve ser avaliada após 3 a 5 dias de tratamento.

CONSIDERAÇÕES PARA O LANÇAMENTO DO ALERELAM

Implementação nacional

Previamente à implementação e ao lançamento, os países necessitam de desempenhar um conjunto de tarefas. Primeiramente, poderá ser necessário disponibilizar uma apresentação formal e uma descrição do teste aos representantes do Ministério da Saúde, membros dos programas de VIH e TB e à sociedade civil. Esta apresentação deve delinear as especificações e limitações do teste, estratégias de posicionamento eficazes, a exequibilidade e utilidade do teste em contextos específicos e o impacto do diagnóstico, conforme relatado por outros implementadores. Dependendo dos processos reguladores vigentes, os países poderão ter de elaborar protocolos internos de registo e validação antes de passarem à implementação teste. A previsão do número de testes a adquirir deve basear-se em dados anuais sobre as percentagens de testes de TB efetuados entre pessoas VIH positivas, o número de pessoas VIH positivas que são diagnosticadas com TB e o número de casos anuais de VEA (que se considera corresponderem a contagens de $CD4 < 200$ células/mm³). Os países devem destacar um grupo de trabalho existente ou criar um de raiz que fique encarregue de coordenar as políticas de TB e VIH e de definir diretrizes nacionais sobre o uso e implementação do LF-LAM. Será necessário configurar plataformas de treino para pessoal clínico e laboratórios com o intuito de disponibilizar informações sobre a forma correta de utilizar o teste de acordo com algoritmos elaborados pelos programas de TB e VIH, estabelecer as boas práticas de colheita de urina, finalizar os protocolos para laboratórios e centros de saúde, orientar a interpretação do teste considerando as suas limitações, assegurar a adequação dos testes de confirmação subsequentes, fornecer informações sobre as práticas de registo e elaboração de relatórios e facilitar a articulação imediata com o tratamento da TB para os doentes, sobretudo os que padecem de doença grave. O teste terá de integrar os formulários de requisição e os modelos de registo e relatório para assegurar o seu uso no diagnóstico rápido. Terão ainda de se estabelecer práticas de garantia da qualidade e eliminação de resíduos. Uma implementação eficiente e eficaz irá requerer uma forte colaboração não apenas entre os programas de TB e VIH, mas também entre estes e a sociedade civil, a fim de se beneficiar do impacto esperado no diagnóstico da TB em pessoas VIH positivas e naquelas que estejam gravemente doentes ou com VEA.

Com base nas diretrizes consolidadas da OMS de 2016 sobre o uso de terapêuticas antirretrovirais no tratamento e prevenção da infeção por VIH (28), bem como nas recomendações sobre o tratamento do VEA (36), os programas nacionais devem igualmente considerar o seguinte:

Todas as pessoas que apresentem VEA devem receber um pacote de serviços de saúde que inclui medidas-chave de diagnóstico, rastreio, profilaxia e adesão.

Considerações sobre a implementação

Registo do produto

O processo de registo deve ser iniciado atempadamente para que não bloqueie a implantação e o uso das ferramentas endossadas pela OMS. O registo interno das ferramentas recomendadas pela OMS não deve constituir uma barreira à introdução do LF-LAM, impedindo o diagnóstico da TB. Se o teste não tiver sido oficialmente registado, o Ministério da Saúde terá de contactar o fabricante para que este acompanhe o processo. Será necessário definir as etapas certas para garantir um processo harmonioso e eficiente que permita a rápida implementação do LF-LAM.

Validação interna

Nalguns países, os novos produtos têm de ser submetidos a estudos de validação internos específicos. Ainda que estes não sejam necessários para os produtos endossados pela OMS que passaram por uma avaliação exaustiva e análise especializada, as políticas nacionais podem exigir-los como complemento para avaliar o desempenho e a exequibilidade de um novo teste ou tecnologia de diagnóstico no seu contexto de atuação específico ou numa determinada população. Os países terão de planear estas atividades antecipadamente a fim de as agilizar e garantir um lançamento eficiente.

Previsão e aquisição

Com o intuito de aferir as necessidades anuais de aquisição, os programas de VIH e TB terão de rever os dados estatísticos sobre o VIH, a TB e o VEA e estratificar os doentes através das contagens de CD4 para avaliar a percentagem anual de pessoas VIH positivas com contagens de CD4 < 100 células/mm³ em contexto de ambulatório e de CD4 < 200 células/mm³ em contexto de internamento, obtendo assim uma estimativa de aquisição baseada em evidências. Estes dados podem ser difíceis de obter, porém, ao desenvolver-se um plano para iniciar o balanço anual, ter-se-ão projeções de aquisição mais precisas que irão orientar a orçamentação e o planeamento (ver [Informações de aquisição](#)).

Posicionamento do teste

Os locais de prestação de serviços onde se deve considerar o posicionamento do LF-LAM para o diagnóstico da TB são:

- para doentes internados: o teste pode ser posicionado em unidades de cuidados de saúde de nível 2 ou 3 ou em alas de internamento de hospitais públicos ou privados que tenham acesso a testes laboratoriais efetuados por profissionais treinados no LF-LAM para a TB;
- para doentes externos: o teste pode ser posicionado em unidades de cuidados de saúde primários de nível 1, centros de atendimento urgente e centros ou clínicas de tratamento do VIH. A colheita de amostras e o LF-LAM para a TB serão realizados por um profissional de saúde treinado.

Elaboração e revisão de documentos

Será necessário redigir ou rever diversos documentos de apoio aos testes, entre os quais:

- diretrizes e algoritmos nacionais
- planos estratégicos de implementação
- protocolos para colheita de urina
- procedimentos operacionais de referência e guias rápidos
- materiais para treino e aquisição de competências
- formulários de requisição, modelos de registo e formulários de relatório
- documentos que abordem as práticas de garantia da qualidade e de eliminação de resíduos.

Registos e elaboração de relatórios

As unidades de saúde e os programas nacionais contra a tuberculose (PNCT) devem registar e relatar um resultado positivo do LF-LAM como um caso de TB bacteriologicamente confirmado. O quadro de definições e divulgações da OMS para a tuberculose, atualizado em 2020 (44), inclui técnicas baseadas em biomarcadores — como o LF-LAM — como testes de diagnóstico rápido aprovados e capazes de determinar um caso de TB nas condições estabelecidas pelas diretrizes da OMS (13, 29).

Treino do pessoal

Os programas de treino devem incluir pessoal clínico que trabalhe com a TB e o VIH e pessoal de laboratório. À semelhança de qualquer nova tecnologia em fase de implementação, o pessoal clínico tem de conhecer globalmente a precisão e as limitações do teste, a sua posição no algoritmo de diagnóstico, o significado dos resultados e que testes subsequentes são necessários para garantir a qualidade do diagnóstico e do tratamento do doente. O pessoal clínico e de laboratório alocado à realização do teste tem de compreender na íntegra as etapas e os processos envolvidos na colheita de amostras, na aplicação do teste e na sua leitura visual. O [Anexo 2](#) apresenta um protocolo de referência que assegura uma leitura rigorosa das amostras e a obtenção de resultados fiáveis. Estes protocolos podem ser usados para criar materiais de treino. É aconselhável que cada executante faça um treino no terreno para compreender as especificidades de cada cenário, adquirindo a capacidade e a perceção necessárias. Recomenda-se efetuar meio dia de treino, seguido da observação do teste no dia seguinte. Os componentes e a preparação do treino devem incluir o seguinte:

- uma apresentação do teste ao pessoal clínico e de laboratório que o irá usar e executar (p. ex., por meio de slides ou outro material de treino). A apresentação deve fornecer uma perspetiva geral sobre como o teste é usado para diagnosticar a TB entre pessoas VIH positivas e enquadrá-lo com dados relevantes que demonstrem a redução da mortalidade, bem como a sensibilidade e especificidade na população-alvo. Deve também chamar a atenção para estudos de outros países. Por fim, a apresentação deve elucidar os princípios básicos do teste, as etapas para uma correta colheita de amostras e a interpretação dos resultados;

- elaboração e análise de guias de bancada que indiquem os passos necessários para realizar o teste e interpretar os resultados;
- realização prática de testes em amostras positivas e negativas conhecidas. Se forem usadas pipetas em contexto clínico, recomenda-se uma sessão dedicada ao desenvolvimento de competências de pipetagem. É crucial que o pessoal compreenda a importância da precisão com que se adiciona a amostra à fita de teste, que seja capaz de usar corretamente o Cartão da Escala de Referência e que saiba ler e interpretar o teste adequadamente, sobretudo em casos em que o resultado possa ser pouco claro;
- discussão das limitações do teste e das boas práticas para a sua execução. As informações fornecidas neste ponto devem incluir as razões de não ser possível usar o teste no rastreio de rotina de todas as pessoas VIH positivas;
- informações sobre como conservar e eliminar corretamente o teste em conformidade com as diretrizes nacionais e as recomendações do fabricante;
- determinação dos requisitos para o controlo da qualidade dos lotes de testes em cada nova remessa como primeiro passo para garantir o controlo da qualidade;
- práticas de gestão de inventário que se podem adotar na monitorização do inventário para definir taxas de consumo anuais e controlar as datas de validade em todos os locais de teste. Devem ainda abordar-se os métodos para efetuar a previsão adequada, bem como a quantificação e comunicação das necessidades;
- deve haver lugar para uma sessão de perguntas e respostas que vise esclarecer todas as dúvidas e dar espaço para sugestões de melhoria do programa de treino.

As competências devem ser avaliadas em intervalos regulares (i. e., 6 meses após o treino inicial e anualmente depois disso) a fim de aferir o nível de conhecimentos e aptidões.

Teste em contexto de ambulatório

A aceitabilidade e a procura ao nível comunitário são cruciais para a implantação dos testes de diagnóstico em unidades e cuidados de saúde primários. Certos grupos da sociedade civil podem ajudar a sensibilizar a comunidade para este teste.

Introdução gradual

Uma abordagem faseada é a melhor estratégia para implementar qualquer nova ferramenta de diagnóstico. Neste tipo de abordagem, é recomendável começar por posicionar o teste num cenário de internamento, em que a elaboração do diagnóstico será mais notória e reduzirá significativamente a mortalidade. Após 6 meses ou mais, o teste pode ser introduzido em unidades e clínicas de tratamento ambulatorial de nível inferior, sobretudo em centros e clínicas de tratamento do VIH. Os dados nacionais da primeira implantação em contexto de internamento devem ser partilhados com os prestadores de cuidados de ambulatório a fim de realçar a aceitabilidade do teste e o uso das ferramentas de registo e relatório.

Lições retiradas

Embora a maioria dos estudos realizados com o AlereLAM analisasse a precisão do teste, poucos se dedicaram igualmente a quantificar os desafios e os benefícios ou sucessos da implementação do AlereLAM através dos programas nacionais PNCT e VIH/SIDA ou diretamente através de instituições e unidades com recursos de diagnóstico escassos ou em que os doentes são incapazes de produzir escarro. Um estudo realizado em países com elevada incidência de TB e VIH avaliou a adoção do AlereLAM (45). A exequibilidade da implementação regular do AlereLAM foi também sistematicamente investigada em estudos operacionais empreendidos em diferentes países (46; Mathabire Rücker SC, Huerga H, Epicentro/Médicos Sem Fronteiras, relatórios no terreno não publicados da República Democrática do Congo, do Malawi e de Moçambique, 2017).

Seguidamente, apresentam-se alguns dos desafios, sucessos e lições retiradas dos estudos anteriores.

Desafios

- Orçamento limitado: a falta de verbas para financiar a adoção do AlereLAM foi referida por 10 dos 21 (48 %) países com elevada incidência de TB, que mencionaram barreiras à sua implementação (44).
- Estudos-piloto: alguns países declararam a necessidade de efetuar estudos-piloto e avaliações internas previamente à implementação. Este tipo de estudos pode elucidar os decisores acerca da melhor forma de usar e posicionar o teste nos algoritmos de diagnóstico nacionais, enquanto avalia a precisão e os constrangimentos operacionais do mesmo.

- O teste não é considerado prioritário: os programas PNCT e VIH/SIDA não esperam identificar números elevados de pessoas gravemente doentes que vivem com VIH, se estas contarem com programas consolidados, incluindo estratégias de teste e tratamento² (46) e terapêutica preventiva com isoniazida. Contudo, deve haver testes suficientes disponíveis para o número de casos previsto com base nas novas recomendações da OMS (Quadro 1). Deve calcular-se o número de pessoas que vivem com VIH que beneficiariam do LF-LAM (ver [Previsão das encomendas para o lançamento do AlerelAM](#)).
- Atrasos na aprovação de regulamentos para a implantação do teste: os países poderão enfrentar limitações coordenativas e administrativas nas aprovações necessárias para introduzir e lançar novos dispositivos médicos.
- Baixa sensibilidade: existe pouca confiança no AlerelAM devido à sua baixa sensibilidade. Porém, a sensibilidade do teste aumenta em condições específicas, por exemplo, quando este é usado em doentes com baixa contagem de CD4 (24). Desta forma, o AlerelAM é capaz de encurtar o tempo até ao início do tratamento, reduzindo assim a mortalidade global (Mathabire Rücker SC, Huerga H, Epicentro/Médicos Sem Fronteiras, relatório não publicado, Malawi, 2017).
- Limitações nas unidades de saúde: os doentes necessitam de lavabos ou outras instalações sanitárias limpas e privadas nos centros de saúde que lhes permitam colher uma amostra de boa qualidade sem risco de contaminação. Além disso, a inexistência de lavabos pode causar uma perceção negativa do teste. Um doente pode recusar-se a fazer o teste por falta de privacidade para a colheita de urina.
- Perturbação do curso do doente: foi relatado que os doentes VIH positivos não classificados como gravemente doentes com base em sinais e sintomas clínicos têm de ser submetidos a um teste às CD4, se os resultados pré-existentes tiverem mais de 3 meses, a fim de se determinar a sua elegibilidade para o AlerelAM. Tal pode traduzir-se num atraso para o doente, podendo implicar uma consulta de acompanhamento se a contagem de CD4 e o teste AlerelAM não puderem ser feitos no mesmo dia.

Benefícios e sucessos

Dos estudos empreendidos na República Democrática do Congo, no Quênia, no Malawi e em Moçambique tiraram-se as seguintes conclusões (38, 46).

- Fácil de usar: Constatou-se que o AlerelAM era fácil de usar, requerendo um treino mínimo dos profissionais de saúde.
- Validade após abertura: o teste podia ser conservado à temperatura ambiente, tendo uma validade após abertura de 1 ano.
- Não requer infraestrutura laboratorial: o teste podia ser efetuado no consultório, sem necessidade de nenhuma outra infraestrutura laboratorial, e os resultados eram disponibilizados no mesmo dia da consulta, permitindo iniciar de imediato o tratamento contra a TB.
- Mais doentes capazes de produzir urina do que escarro: os estudos no Quênia e no Malawi revelaram que 99 % e 100 % dos doentes, respetivamente, eram capazes de produzir urina para o teste. Contrariamente, apenas 75 % dos doentes eram capazes de produzir escarro para análise (38; Mathabire Rücker SC, Huerga H, Epicentro/Médicos Sem Fronteiras, relatório não publicado, Malawi, 2017).
- Tempo de resposta curto: o tempo de resposta variava de local para local. O estudo na República Democrática do Congo mostrou que o tempo de resposta médio para obtenção dos resultados do AlerelAM era de 75 minutos (intervalo interquartilico: 45-188) quando este era executado em consultório, embora o tempo fosse mais curto noutros locais. Comparativamente, outros testes de diagnóstico da TB, em particular o ensaio Xpert MTB/RIF e a microscopia, tinham um tempo de resposta médio de cerca de 2 dias (Mathabire Rücker SC, Huerga H, Epicentro/Médicos Sem Fronteiras, relatório não publicado, República Democrática do Congo, 2017).
- Elevada concordância na leitura dos resultados: os estudos no Malawi e em Moçambique evidenciaram uma concordância entre as leituras do Cartão da Escala de Referência do AlerelAM de 98,3 % e 98,9 %, respetivamente.

Lições retiradas

- Treino: é fundamental que o treino dos profissionais de saúde se foque na identificação e avaliação dos doentes elegíveis para o teste LF-LAM (i. e., implementação de algoritmos de diagnóstico).
- Eliminação adequada de amostras de urina: é importante assegurar um local adequado na unidade de saúde para eliminar as amostras de urina em segurança.

² «Testar e tratar» é uma intervenção estratégica em que as pessoas são testadas periodicamente para o VIH e recebem imediatamente terapêutica antirretroviral se forem VIH positivas, independentemente da contagem de CD4.

- Carga de trabalho extra para o pessoal: Embora o AlerreLAM acarrete uma carga de trabalho adicional mínima, pode requerer um tempo adicional em alas de internamento, caso seja necessário inserir cateteres urinários em pessoas gravemente doentes para a colheita de urina.
- Mensagens claras e educativas para os doentes a fim de evitar a recusa de outros testes de diagnóstico da TB: dada a facilidade em fornecer uma amostra de urina para o AlerreLAM, alguns doentes podem ter relutância em colher amostras diferentes (como o escarro) para realizar outros testes de TB, o que pode ser um grave problema, devido à baixa sensibilidade do AlerreLAM. Além disso, o AlerreLAM não foi concebido para detetar a resistência a medicamentos, razão pela qual a colheita de escarro continua a ser importante para aferir se existe resistência à rifampicina, sobretudo em países com elevada prevalência de TB multirresistente. É crucial educar os doentes sobre a importância de fornecer amostras de escarro, mesmo após efetuar o AlerreLAM; as organizações da sociedade civil podem auxiliar os profissionais de saúde na sensibilização para as vantagens e limitações deste teste.

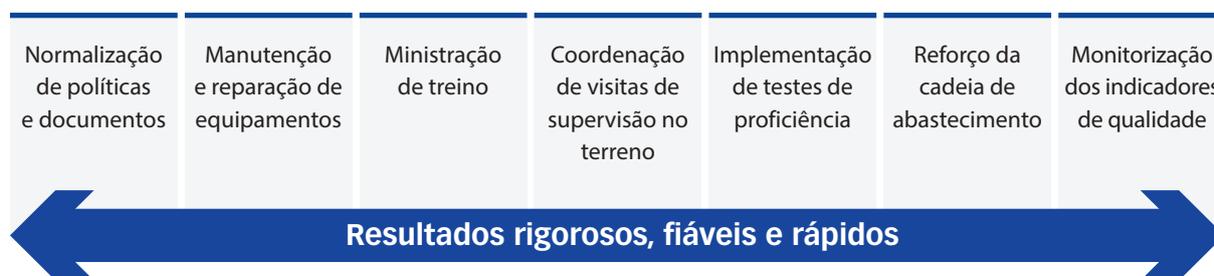
Fez-se um progresso notável na criação de evidências que ajudaram a esclarecer o posicionamento do LF-LAM, auxiliando a elaboração de políticas globais e avaliações nacionais. Este progresso refletiu-se não apenas nas recomendações da OMS, que foram alargadas em 2019, e nos algoritmos de diagnóstico subsequentes (43), mas também na adoção do AlerreLAM como um dos auxiliares de tomada de decisão na prestação de cuidados a pessoas VIH positivas em estado avançado (38) e na inclusão do teste no catálogo de diagnóstico da TB da Global Drug Facility (47) e na Primeira Lista Modelo de Diagnósticos Fundamentais In Vitro da OMS [First WHO Model List of Essential In Vitro Diagnostics] (48). Contudo, apesar destas alterações de política e da ação de grupos defensores no sentido de aumentar a consciencialização e a promoção do teste (49, 50), o LF-LAM ainda não está plenamente aceite e implementado a nível nacional. A lenta aceitação do AlerreLAM em países de rendimento médio e baixo foi atribuída a múltiplos fatores, incluindo atrasos na coordenação dos programas de TB e VIH (51, 52). Enquanto os programas nacionais abordam os desafios existentes e o *pipeline* de diagnóstico da TB evolui, a rápida introdução do AlerreLAM servirá não apenas como meio para reduzir a mortalidade por TB em pessoas VIH positivas, mas também para facilitar a adoção e disseminação generalizadas de novos testes baseados no LAM e de outras ferramentas que atualmente se idealizam para os locais de atendimento.

GARANTIA DA QUALIDADE

Sistemas de garantia da qualidade

A implementação de um sistema abrangente de garantia da qualidade é fundamental para acautelar o rigor, a fiabilidade e a prontidão do resultado de qualquer teste de diagnóstico para doentes e programas. Estabelecer um sistema de garantia da qualidade assegura que os testes são efetuados em conformidade com as políticas e regulamentos nacionais, as amostras recebidas para teste são adequadas e de volume suficiente, os profissionais de saúde prestam serviços sem interrupções causadas por ruturas de estoque ou por testes ou equipamentos danificados, os resultados dos testes são entregues atempadamente aos doentes e aos clínicos e a rede de teste é monitorizada e avaliada em termos do impacto que causa, sendo, por isso, continuamente otimizada. Os componentes fundamentais de um sistema de garantia da qualidade do LF-LAM (Fig. 8) incluem o desenvolvimento e a normalização de políticas e documentos, a manutenção e reparação de equipamentos (i. e., pipetadores e centrífugas), a ministração de treino inicial e contínuo a técnicos de laboratório e clínicos, a implementação de testes de proficiência, o reforço da cadeia de abastecimento e a monitorização dos indicadores de qualidade.

Fig. 8. Componentes fundamentais de um sistema de garantia da qualidade



Para mais informações acerca destes componentes fundamentais, incluindo a necessidade de políticas e documentos próprios para o LF-LAM, consulte as [Considerações sobre a implementação](#), para informações sobre o treino de profissionais, consulte o [Treino do pessoal](#) e para considerações sobre a gestão da cadeia de abastecimento e aquisição, consulte a [Colheita e conservação de amostras](#) e as [Informações de aquisição](#). Os restantes componentes fundamentais são analisados de seguida.

Manutenção e reparação de equipamentos

Os locais de teste que utilizem centrífugas ou pipetadores eletrónicos, automáticos ou calibrados, ou uma combinação destes, para tratar amostras de urina congelada devem assegurar que os dispositivos são recalibrados periodicamente de acordo com as instruções do fabricante a fim de garantirem o rigor e a fiabilidade dos resultados do LF-LAM. Todas as atividades de manutenção devem ser realizadas por técnicos autorizados, devendo a documentação ser guardada no local de teste para referência e para alicerçar um sistema sólido de gestão da qualidade.

Visitas de supervisão no terreno

Devem efetuar-se treinos regulares do pessoal e visitas periódicas de supervisão para determinar o desempenho do local de teste, fornecer aos executantes um treino de reciclagem e identificar quaisquer necessidades no local não detetadas nas práticas habituais de elaboração de relatórios. Os programas devem desenvolver novas listas de verificação ou modificar as existentes a fim de acautelarem o uso de uma ferramenta normalizada nas visitas de supervisão na rede, que permita comparar os achados ao longo do tempo e entre locais de teste. O uso do LF-LAM pode ser avaliado nos locais que já efetuem outros testes de diagnóstico da TB, e os respetivos relatórios, incorporados no calendário de visitas de supervisão. Em locais de teste novos, sobretudo locais de atendimento em unidades de saúde, os países poderão ter de designar e treinar supervisores para realizar visitas no terreno.

Testes de controlo da qualidade

Um controlo da qualidade abrangente passa por avaliar os resultados dos testes de controlo internos e externos.

Testes internos de controlo da qualidade

Os controlos da qualidade internos servem para demonstrar que um teste está a funcionar corretamente e a produzir resultados válidos. Cada fita de teste de AlereLAM inclui uma janela de controlo da qualidade interno e uma barra de resultado (Fig. 5) que devem ser avaliadas em cada teste, conforme descrito na secção seguinte e em [Leitura e interpretação](#), bem como no [Anexo 2](#).

Testes externos de controlo da qualidade

Enquanto os controlos internos visam avaliar a funcionalidade do teste, os controlos externos testam por seu turno a precisão e a fiabilidade do procedimento, ao exigirem que o pessoal avalie uma amostra conhecida e atinja um resultado aceitável. Não havendo atualmente nenhum produto convencionado como amostra para controlo da qualidade externo do AlereLAM, os países podem recorrer a amostras de urina com resultados bacteriológicos conhecidos — negativas e positivas para a TB —, que tenham sido preservadas nas condições de conservação recomendadas para o efeito (ver [Colheita e conservação de amostras](#)).

O controlo da qualidade externo deve ser efetuado de forma centralizada sempre que seja recebido um novo lote de kits de teste AlereLAM, antes da distribuição das fitas pelos locais de teste. A verificação dos novos lotes assegura que as condições de fabrico, remessa e conservação, como a temperatura e a humidade, não diminuíram a capacidade dos novos lotes de produzir um resultado preciso. As fitas de teste dos novos lotes de AlereLAM devem ser escolhidas aleatoriamente para verificação, usando amostras positivas e negativas de controlo da qualidade externo. Os resultados devem ser comparados com outros do mesmo lote ou do lote anterior e documentados num livro de registo de verificações dos novos lotes. Os novos lotes que não atinjam os resultados espectáveis não devem ser distribuídos ou usados para testar doentes.

Além da verificação dos novos lotes, deve efetuar-se semanalmente um controlo da qualidade externo em todos os locais de teste antes de a primeira amostra dessa semana ser analisada. Se nenhuma amostra for testada com o AlereLAM nessa semana, não é necessário efetuar o teste de controlo da qualidade. Todos os resultados de controlo da qualidade devem ser anotados num livro de registo de resultados do AlereLAM.

Siga os seguintes procedimentos para avaliar os resultados das amostras de controlo da qualidade interno e externo do AlereLAM.

Controlo positivo do AlereLAM

- Etiquete a fita de teste como controlo positivo do AlereLAM.
- Adicione 60 µl da amostra de controlo positivo do AlereLAM à fita de teste etiquetada.
- Leia os resultados após 25 minutos.
- Certifique-se de que a barra de controlo da qualidade surge na janela de controlo da qualidade.
 - Se a barra estiver presente, o resultado é aceitável. Caso se trate da amostra de um doente, deve observar-se a presença ou ausência da barra do doente na respetiva janela na fita de teste, devendo o resultado ser interpretado e relatado.
 - Se a barra não estiver presente, a amostra deve ser reanalisada com outro teste. Se a barra não surgir na segunda fita de teste, contacte o seu distribuidor local ou a assistência técnica da Alere (Abbott).

Controlo negativo do AlereLAM

- Etiquete a fita de teste como controlo negativo do AlereLAM.
- Adicione 2 gotas de solução salina ou água destilada à fita de teste etiquetada.
- Leia os resultados após 10 minutos.
- Certifique-se de que a barra de controlo da qualidade não surge na janela de controlo da qualidade.
 - Se a barra não estiver presente, o resultado é aceitável.
 - Se a barra estiver presente, o teste deve ser repetido com uma nova amostra de controlo negativo. Se a barra surgir no segundo teste, contacte o seu distribuidor local ou a assistência técnica da Alere (Abbott).

Testes de proficiência

Os testes de proficiência requerem que os avaliadores tratem, testem e relatem os resultados em amostras cegas e bem caracterizadas para efeitos de avaliação. Estes testes avaliam o rigor e a prontidão dos processos de pré-diagnóstico (i. e., recepção e preparação da amostra), diagnóstico (i. e., funcionalidade e proficiência do teste) e pós-diagnóstico (i. e., interpretação dos resultados e elaboração do relatório), constituindo uma ferramenta eficiente de monitorização e avaliação de redes de teste. Os programas de testes de proficiência do LF-LAM estão atualmente a ser desenvolvidos; contudo, os países devem acompanhar a sua disponibilização a fim de apoiarem a sua rápida implementação.

Monitorização e avaliação de indicadores de qualidade

Como em todos os novos testes de diagnóstico, os países devem desenvolver para o AlerreLAM novas normas de qualidade e indicadores de desempenho associados ou adaptar os existentes. O desempenho do AlerreLAM ao nível local e da rede deve ser avaliado regularmente através de dados recolhidos e relatados de forma sistemática (i. e., achados coligidos de visitas de supervisão, relatórios trimestrais ou outros canais de documentação). Qualquer alteração inesperada no desempenho ou uma prestação aquém dos padrões de qualidade esperados deve ser prontamente investigada e corrigida. O pacote de treino para reforço da rede de diagnóstico da GLI contém exemplos de normas de qualidade e indicadores de desempenho (53).

INFORMAÇÕES DE AQUISIÇÃO

Uma vez que o AlereLAM consiste num teste rápido baseado em fitas, a sua aquisição é relativamente simples quando comparada com outros testes de diagnóstico da TB que empregam múltiplos reagentes e consumíveis com diferentes validades após abertura e requisitos de conservação. Contudo, dado que o teste pode ser usado no local de atendimento, a sua distribuição generalizada num país requer uma gestão cuidadosa da cadeia de abastecimento para evitar ruturas de estoque e garantir que os testes são usados dentro do prazo, sobretudo em regiões periféricas. Esta secção fornece informações sobre os materiais e acessórios necessários para o teste, bem como orientações para prever o volume das encomendas.

Antes de efetuar uma encomenda, os países interessados em implementar o AlereLAM devem comunicar ao fabricante a sua intenção de adquirir o teste para que se dê início aos procedimentos reguladores adequados. Deve antecipar-se a necessidade do fabricante de desenvolver e submeter documentação e de fornecer qualquer informação complementar necessária.

Informações do produto

Informações fundamentais do produto:

- Nome do produto: ensaio Alere Determine™ TB LAM Ag;
- Fabricante: Abbott Laboratories (antes, Alere Inc.);
- Custo: 3,50 US\$ [2,87 €]/fita de teste (embaladas em kits de 100 fitas de teste: 350 US\$ [287 €]);
- N.º do artigo da Global Drug Facility (GDF): 106642 (<http://stoptb.org/assets/documents/gdf/drugsupply/GDFDiagnosticsCatalog.pdf>); para efetuar uma encomenda através da GDF, contacte gdf@stoptb.org;
- Validade após abertura: 18 meses;
- Condições de conservação: 2-30 °C.

A **Tabela 1** esquematiza o equipamento necessário para executar o AlereLAM que não é fornecido com o kit.

Tabela 1. Acessórios requeridos, mas não fornecidos no kit do ensaio Alere Determine TB LAM Ag

Equipamento necessário	Descrição no catálogo e número de código do produto da Global Drug Facility	Unidades por embalagem	Custo no catálogo (2020)
Frascos para colheita de urina	Frascos para colheita de amostras, 80 ml cada Código CDF do produto: 106525	1 000	83,30 US\$ [68,36 €]
Pipeta capaz de dispensar 60 µl	Pipeta capaz de dispensar 10-100 µl Código GDF do produto: 106055	1	226,94 US\$ [186,23 €]
Pontas de pipeta descartáveis	Pontas de pipeta capazes de dispensar 10-100 µl (1 000 pontas/embalagem) Código CDF do produto: 106388	10 × 96	72,75 US\$ [59,70 €]
Micropipeta de dois bolbos ^a	Pipetas de Pasteur de dois bolbos com 60 µl de volume para transferência exata de amostras Podem ser usadas pipetas não graduadas e não estéreis	Não disponível	Ainda não disponível. Os preços serão publicados no catálogo.
Temporizador	Temporizador mecânico Código CDF do produto: 106570	1	1,11 US\$ [0,91 €]

GDF: Global Drug Facility.

^a Prevê-se que venha a ser incluída no catálogo da GDF. Como alternativa à pipeta e respetivas pontas, e para facilitar o uso do teste em zonas periféricas, podem usar-se micropipetas de dois bolbos descartáveis. Porém, deve testar-se a precisão destas pipetas por comparação com uma pipeta calibrada antes de generalizar o seu uso.

Previsão das encomendas para o lançamento do AlereLAM

Os kits de teste AlereLAM têm uma validade após abertura de 18 meses, pelo que efetuar uma encomenda para um ano assegura uma reserva, caso a implementação progrida mais lentamente que o esperado. Dividir uma encomenda de um ano em duas entregas garante uma reserva ainda maior; a data da segunda entrega planeada pode ser adiada, se necessário. (A informação desta secção foi retirada da nota técnica da GDF http://www.stoptb.org/assets/documents/gdf/GDF_Technical_Information_Note_DetermineTM_TB_LAM_Ag_test_180604-SPREADS.pdf).

Independentemente do algoritmo usado, os clínicos têm de estar devidamente treinados para evitar por um lado a subutilização dos testes, que resulta em perda de validade e desperdício e, por outro, o seu uso excessivo, levando ao esgotamento prematuro dos recursos.

As etapas que se seguem devem ajudar a estimar o número de testes necessários para 1 ano com base na aplicação integral destas recomendações.

- O número de testes encomendados deve corresponder ao número de pessoas VIH positivas testadas para a TB no ano anterior nos locais de implementação (i. e., que apresentavam sinais e sintomas, tinham VEA ou estavam gravemente doentes), conforme a análise dos registos. Se a contagem de CD4 for feita de forma sistemática nos locais de teste, haverá outros doentes sem sinais ou sintomas de TB que devem, contudo, ser testados com LF-LAM com base no critério da contagem de CD4 especificado nas recomendações revistas para os contextos de internamento e ambulatório. A inclusão destes doentes pode justificar um aumento de cerca de 20 % no volume da encomenda, dado que se espera que a maioria dos doentes com baixas contagens de CD4 manifestem sinais e sintomas de TB num determinado ano.
- Na falta de dados de registo sobre o número de pessoas VIH positivas testadas para a TB no ano anterior, pode usar-se o fator 0,3 (30 %) como estimativa da população VIH positiva que será testada para a TB num determinado ano.³
- À medida que o país avança no sentido da implementação das recomendações de 2019 a nível nacional, as previsões subsequentes devem basear-se no número registado de pessoas que vivem com VIH no país e que foram testadas para a TB no ano anterior, devendo considerá-las como população-alvo para a implantação gradual ao longo do tempo. Os dados que ficam disponíveis sobre as taxas de consumo efetivo e a rapidez de aceitação em novos locais devem ser usados para aprimorar as previsões e os planos de encomenda.

Testes de diagnóstico rápidos LF-LAM no pipeline

Em setembro de 2018, a Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND) anunciou que um novo ensaio baseado na urina tinha sido desenvolvido em parceria com a Fujifilm (Tóquio, Japão). O teste é conhecido como o SILVAMP TB-LAM da Fujifilm, ou simplesmente FujiLAM; trata-se de um teste de diagnóstico rápido capaz de detetar baixas concentrações do antigénio LAM em pessoas com coinfeção por TB-VIH (54). Em 2019, foi aberta uma candidatura para ensaios com parceiros tendo em vista a avaliação prospetiva do teste. Complementarmente ao ensaio inicial da FIND, que definiu a sensibilidade e especificidade do teste recorrendo a amostras de urina em bancos biológicos, há outros ensaios em curso para avaliar a precisão, o desempenho e a exequibilidade do teste em condições programáticas. Contudo, o teste não se encontra comercialmente disponível, sendo ainda alvo de estudos de investigação. Além disso, existem outras iniciativas em curso na comunidade global de Investigação e Desenvolvimento para conceber o melhor teste de diagnóstico rápido TB LAM, que consiga, se possível, alargar o atual uso restrito e proporcionar um ensaio de FL rápido para diagnosticar a TB, independentemente do estado da VIH, em todas as faixas etárias e para todas as formas de TB ativa.

Por ora, a implementação do AlereLAM deve ser fortemente promovida, já que as evidências demonstram que este teste melhora a gestão do tratamento das pessoas VIH positivas (i. e., com VEA, baixa contagem de CD4 ou gravemente doentes) e aumenta a deteção da TB nesta população vulnerável, quando usado em conjunto com outros testes.

³ A OMS propõe um fator predefinido de 0,3 para estimar a população de pessoas VIH positivas com sinais ou sintomas de TB num determinado ano, assumindo que os doentes são clinicamente rastreados em média duas vezes por ano e que 15 % destes teriam sinais ou sintomas (55).

REFERÊNCIAS

1. Global tuberculosis report 2020. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/336069/9789240013131-eng.pdf?ua=1>, accessed 26 October 2020).
2. Gupta, RK, Lucas SB, Fielding KL, Lawn SD. Prevalence of tuberculosis in post-mortem studies of HIV-infected adults and children in resource-limited settings: a systematic review and meta-analysis. *AIDS*. 2015;29:1987–2002. doi:10.1097/QAD.0000000000000802.
3. WHO End TB Strategy. In: Tuberculosis (TB), World Health Organization [website]. Geneva: World Health Organization; 2020 (https://www.who.int/tb/post2015_strategy/en/, accessed 28 August 2020).
4. Trinh QM, Nguyen HL, Nguyen VN, Nguyen TVA, Sintchenko V, Marais B.J. Tuberculosis and HIV co-infection – focus on the Asia-Pacific region. *Int J Infect Dis*. 2015;32:170–8. doi:10.1016/j.ijid.2014.11.023.
5. Sabur NF, Esmail A, Brar MS, Dheda K. Diagnosing tuberculosis in hospitalized HIV-infected individuals who cannot produce sputum: is urine lipoarabinomannan testing the answer? *BMC Infect Dis*. 2017;17(1):803. doi:10.1186/s12879-017-2914-7.
6. Eddabra R, Benhassou HA. Rapid molecular assays for detection of tuberculosis. *Pneumonia*. 2018;10:4. doi:10.1186/s41479-018-0049-2.
7. Walzl G, McNERNEY R, du Plessis N, Bates M, McHugh TD, Chegou NN, Zumla A. Tuberculosis: advances and challenges in development of new diagnostics and biomarkers. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(7):e199–210. doi:10.1016/S1473-3099(18)30111-7.
8. The use of lateral flow urine lipoarabinomannan assay (LF-LAM) for the diagnosis and screening of active tuberculosis in people living with HIV: policy guidance. Geneva: World Health Organization; 2015 (WHO/HTM/TB/2015.25; <https://apps.who.int/iris/handle/10665/193633>, accessed 28 August 2020).
9. Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children. Policy update. Geneva: World Health Organization; 2013 (WHO/HTM/TB/2013.16; <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112472>, accessed 28 August 2020).
10. Xpert MTB/RIF for people living with HIV. Geneva: World Health Organization; 2014 (https://www.who.int/tb/challenges/hiv/Xpert_TBHIV_Information_Note_final.pdf, accessed 28 August 2020).
11. The use of loop-mediated isothermal amplification (TB-LAMP) for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Policy update. Geneva: World Health Organization; 2016 (WHO/HTM/TB/2016.11; <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/249154/9789241511186-eng.pdf?sequence=1>, accessed 28 August 2020).
12. WHO meeting report of a technical expert consultation: non-inferiority analysis of Xpert MTB/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF. Geneva: World Health Organization; 2017 (WHO/HTM/TB/2017.04; <https://apps.who.int/iris/handle/10665/254792>, accessed 28 August 2020).
13. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 3: diagnosis – rapid diagnostics for TB detection. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-3-diagnosis---rapid-diagnostics-for-tuberculosis-detection>, accessed 28 August 2020).

14. Hanson C, Osberg M, Brown J, Durham G, Chin DP. [Finding the missing patients with tuberculosis: lessons learned from patient-pathway analyses in 5 countries.](#) *J Infect Dis.* 2017;216(Suppl. 7):S686–95. doi:10.1093/infdis/jix388.
15. Piatek AS, Van Cleeff M, Alexander H, Coggin WL, Rehr M, Van Kampen S, et al. GeneXpert for TB diagnosis: planned and purposeful implementation. *Glob Health Sci Pract.* 2013;1:18–23. doi:10.9745/GHSP-D-12-00004.
16. Creswell J, Codlin AJ, Andre E, Micek MA, Bedru A, Carter EJ, et al. Results from early programmatic implementation of Xpert MTB/RIF testing in nine countries. *BMC Infect Dis.* 2014;14:2. doi:10.1186/1471-2334-14-2.
17. Albert H, Nathavitharana RR, Isaacs C, Pai M, Denkinger CM, Boehme CC. [Development, roll-out and impact of Xpert MTB/RIF for tuberculosis: what lessons have we learnt and how can we do better?](#) *Eur Respir J.* 2016;48(2):516–25. doi:10.1183/13993003.00543-2016.
18. Muttamba W, Ssengooba W, Sekibira R, Kirenga B, Katamba A, Joloba M. Accuracy of different Xpert MTB/Rif implementation strategies in programmatic settings at the regional referral hospitals in Uganda: evidence for country wide roll-out. *PLOS ONE.* 2018;13(3):e0194741. doi:10.1371/journal.pone.0194741.
19. Hunter SW, Gaylord H, Brennan PJ. Structure and antigenicity of the phosphorylated lipopolysaccharide antigens from the leprosy and tubercle bacilli. *J Biol Chem.* 1986;261(26):12345–51.
20. Cho SN, Shin JS, Kim JD, Chong Y. Production of monoclonal antibodies to lipoarabinomannan-B and use in the detection of mycobacterial antigens in sputum. *Yonsei Med J.* 1990;31:333–8. doi:10.3349/ymj.1990.31.4.333.
21. Sada E, Aguilar D, Torres M, Herrera T. Detection of lipoarabinomannan as a diagnostic test for tuberculosis. *J Clin Microbiol.* 1992;30:2415–8. doi:10.1128/JCM.30.9.2415-2418.1992.
22. Pereira Arias-Bouda LM, Nguyen LN, Ho LM, Kuijper S, Jansen HM, Kolk AHJ. Development of antigen detection assay for diagnosis of tuberculosis using sputum samples. *J Clin Microbiol.* 2000;38:2278–2283. doi:10.1128/JCM.38.6.2278-2283.2000.
23. Crawford AC, Laurentius LB, Mulvihill TS, Granger JH, Spencer JS, Chatterjee D, et al. 2016. Detection of the tuberculosis antigenic marker mannose-capped lipoarabinomannan in pretreated serum by surface-enhanced Raman scattering. *Analyst.* 142:186–96. doi:10.1039/C6AN02110G.
24. Peter J, Green C, Hoelscher M, Mwaba P, Zumla A, Dheda K. Urine for the diagnosis of tuberculosis: current approaches, clinical applicability, and new developments. *Curr Opin Pulmon Med.* 2010;16(3):262–70. doi:10.1097/MCP.0b013e328337f23a.
25. Sarkar P, Biswas D, Sindhvani G, Rawat J, Kotwal A, Kakati B. Application of lipoarabinomannan antigen in tuberculosis diagnostics: current evidence. *Postgrad Med J.* 2014;90:155–63. doi:10.1136/postgradmedj-2013-132053.
26. Shah M, Hanrahan C, Wang ZY, Dendukuri N, Lawn SD, Denkinger CM, et al. Lateral flow urine lipoarabinomannan assay for detecting active tuberculosis in HIV-positive adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;(5):CD011420. doi:10.1002/14651858.cd011420.pub2.
27. The use of lateral flow urine lipoarabinomannan assay (LF-LAM) for the diagnosis and screening of active tuberculosis in people living with HIV: policy guidance. Geneva: World Health Organization; 2015 (WHO/HTM/TB/2015.25; <https://apps.who.int/iris/handle/10665/193633>, accessed 28 August 2020).
28. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection: recommendations for a public health approach, second edition. Geneva: World Health Organization; 2016 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/208825>, accessed 28 August 2020).

29. Lateral flow urine lipoarabinomannan assay (LF-LAM) for the diagnosis of active tuberculosis in people living with HIV: policy update 2019. Geneva: World Health Organization; 2019 (WHO/CDS/TB/2019.16; <https://apps.who.int/iris/handle/10665/329479>, accessed 18 September 2020).
30. Lawn SD. Point-of-care detection of lipoarabinomannan (LAM) in urine for diagnosis of HIV-associated tuberculosis: a state of the art review. *BMC Infect Dis.* 2012;12:103. doi:10.1186/1471-2334-12-103.
31. Alere Determine™ TB LAM Ag [package insert]. In: Alere Determine™ TB LAM Ag, Product Documents. Scarborough (ME): Alere Scarborough; 2019 (<https://www.alere.com/en/home/product-details/determine-tb-lam.html>, accessed 21 September 2020.)
32. Lawn SD, Dheda K, Kerkhoff AD, Peter JG, Dorman S, Boehme CC, et al. Determine TB-LAM lateral flow urine antigen assay for HIV-associated tuberculosis: recommendations on the design and reporting of clinical studies. *BMC Infect Dis.* 2013;13:407. doi:10.1186/1471-2334-13-407.
33. Kroidl I, Clowes P, Reither K, Mtafya B, Ponce RG, Ntingiya NE, et al. Performance of urine lipoarabinomannan assays for paediatric tuberculosis in Tanzania. *Eur Respir J.* 2015;46(3):761–70. doi:10.1183/09031936.00003315.
34. Suwanpimolkul G, Kawkitinarong K, Manosuthi W, Sophonphan J, Gatechompol S, Ohata PJ, et al. Utility of urine lipoarabinomannan (LAM) in diagnosing tuberculosis and predicting mortality with and without HIV: prospective TB cohort from the Thailand Big City TB Research Network. *Int J Infect Dis.* 2017; 59:96–102. doi:10.1016/j.ijid.2017.04.017.
35. Gina P, Randall PJ, Muchinga TE, Pooran A, Meldau R, Peter JG, et al. Early morning urine collection to improve urinary lateral flow LAM assay sensitivity in hospitalised patients with HIV-TB co-infection. *BMC Infect Dis.* 2017;17(1):339. doi:10.1186/s12879-017-2313-0.
36. Guidelines for managing advanced HIV disease and rapid initiation of antiretroviral therapy. Geneva: World Health Organization; 2017 (<https://www.who.int/hiv/pub/guidelines/advanced-HIV-disease/en/>, accessed 28 August 2020).
37. Ndlovu Z, Burton R, Stewart R, Bygrave H, Roberts T, Fajardo E, et al. Framework for the implementation of advanced HIV disease diagnostics in sub-Saharan Africa: programmatic perspectives. *Lancet HIV.* 2020;7:e514–20. doi:10.1016/S2352-3018(20)30101-6.
38. Huerga H, Ferlazzo G, Bevilacqua P, Kirubi B, Ardizzoni E, Wanjala S, et al. Incremental yield of including Determine-TB LAM assay in diagnostic algorithms for hospitalized and ambulatory HIV-positive patients in Kenya. *PLOS ONE.* 2017;12(1):e0170976. doi:10.1371/journal.pone.0170976.
39. Peter JG, Zijenah LS, Chanda D. Effect on mortality of point-of-care, urine-based lipoarabinomannan testing to guide tuberculosis treatment initiation in HIV-positive hospital inpatients: a pragmatic, parallel-group, multicountry, open-label, randomised controlled trial. *Lancet.* 2016;387:1187–97. doi:10.1016/S0140-6736(15)01092-2.
40. Lawn SD, Kerkhoff AD, Burton R, Schutz C, Boulle A, Vogt M, et al. Diagnostic accuracy, incremental yield and prognostic value of Determine TB-LAM for routine diagnostic testing for tuberculosis in HIV-infected patients requiring acute hospital admission in South Africa: a prospective cohort. *BMC Med.* 2017;15(1):67. doi:10.1186/s12916-017-0822-8.

41. Shah M, Dowdy D, Joloba M, Ssengooba W, Manabe YC, Ellner J, et al [Cost-effectiveness of novel algorithms for rapid diagnosis of tuberculosis in HIV-infected individuals in Uganda](#). *AIDS*. 2013;27(18):2883–92. doi:10.1097/qad.000000000000008.
42. Orlando S, Triulzi I, Ciccacci F, Palla I, Palombi L, Marazzi MC, et al. Delayed diagnosis and treatment of tuberculosis in HIV+ patients in Mozambique: A cost-effectiveness analysis of screening protocols based on four symptom screening, smear microscopy, urine LAM test and Xpert MTB/RIF. *PLOS ONE*. 2018;13(7):e0200523. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200523>.
43. WHO operational handbook on tuberculosis. Module 3: diagnosis – rapid diagnostics for tuberculosis detection. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/332864>, accessed August 2020).
44. Definitions and reporting framework for tuberculosis – 2013 revision: updated December 2014 and January 2020. Geneva: World Health Organization; 2020. (WHO/HTM/TB/2013.2; <https://apps.who.int/iris/handle/10665/79199>, accessed 28 August 2020).
45. Singhroy DN, MacLean E, Kohli M, Lessem E, Branigan D, England K, et al. Adoption and uptake of the lateral flow urine LAM test in countries with high tuberculosis and HIV/AIDS burden: current landscape and barriers. *Gates Open Res*. 2020;4:24. doi:10.12688/gatesopenres.13112.2.
46. Mathabire Rücker SC, Cossa L, Harrison RE, Mpunga J, Lobo S, Kisaka Kimupelenge P, et al. Feasibility of using Determine TB-LAM to diagnose tuberculosis in HIV-positive patients in programmatic conditions: a multisite study. *Glob Health Action*. 2019;12(1):1672366. doi:10.1080/16549716.2019.1672366.
47. August 2020 diagnostics catalog. Geneva: Stop TB Partnership, Global Drug Facility; 2020 (<http://www.stoptb.org/assets/documents/gdf/drugsupply/GDFDiagnosticsCatalog.pdf>, accessed 23 October 2020).
48. First WHO model list of essential in vitro diagnostics. Geneva: World Health Organization; 2019 (WHO Technical Report Series, No. 1017; <https://apps.who.int/iris/handle/10665/311567>, accessed 21 August 2020).
49. Almeida A. The LAM test: vital for diagnosing TB in people with advanced HIV. New York: Treatment Action Group; 2017 (<https://www.treatmentactiongroup.org/wp-content/uploads/2017/09/LAM-Guide-V3-1.pdf>, accessed 21 August 2020).
50. Activists call on countries and donors to immediately scale up use of life-saving TB LAM test. Geneva: MSF Access Campaign; 2018 (<https://msfaccess.org/activists-call-countries-and-donors-immediately-scale-use-life-saving-tb-lam-test>, accessed August 2020).
51. Nathavitharana RR, Pai M. New strategies for inpatients with HIV and tuberculosis. *Lancet*. 2018;392:256–8. doi:10.1016/S0140-6736(18)31442-9.
52. Bulterys MA, Wagner B, Redard-Jacot M, Suresh A, Pollock NR, Moreau E, et al. Point-of-care urine LAM tests for tuberculosis diagnosis: a status update. *J Clin Med*. 2020;9(1):111. doi:10.3390/jcm9010111.
53. GLI training package: programme modules for network diagnostic strengthening. In: GLI, Stop TB Partnership [website]. Geneva: GLI Working Group Secretariat; 2020 (http://www.stoptb.org/wg/gli/TrainingPackage_Programme.asp, accessed 21 August 2020).
54. Broger T, Sossen B, du Toit E, Kerkhoff AD, Schutz C, Reipold EI, et al. Novel lipoarabinomannan point-of-care tuberculosis test for people with HIV: a diagnostic accuracy study. *Lancet Infect Dis*. 2019;19:P852–61. doi:10.1016/S1473-3099(19)30001-5.
55. Framework of indicators and targets for laboratory strengthening under the End TB Strategy. Geneva: World Health Organization; 2016 (WHO/HTM/TB/2016.18; <https://apps.who.int/iris/handle/10665/250307>, accessed 21 August 2020).

ANEXOS

ANEXO 1. RESUMO DAS ALTERAÇÕES DE POLÍTICA, 2015 E 2019

Tabela A1.1. Alterações das recomendações baseadas em evidências sobre o uso do ensaio de fluxo lateral para detecção do lipoarabinomanano (LF-LAM)^a

Uso do ensaio de fluxo lateral do lipoarabinomanano na urina (LF-LAM) para diagnóstico e rastreio da tuberculose ativa em pessoas que vivem com VIH: orientações da política (2015)^b	Ensaio de fluxo lateral do lipoarabinomanano na urina (LF-LAM) para diagnóstico da tuberculose ativa em pessoas que vivem com VIH: política atualizada em 2019^c	Alterações de 2015 para 2019
<p>Em contexto de internamento, o LF-LAM pode ser usado para ajudar no diagnóstico da TB em doentes adultos VIH positivos:</p> <ul style="list-style-type: none">• que tenham sinais e sintomas de TB (pulmonar ou extrapulmonar ou ambas); OU• que tenham uma contagem de CD4 ≤ 100 células/mm³; OU• que estejam gravemente doentes, independentemente da contagem de CD4, ou cuja contagem de CD4 seja desconhecida.	<p>Em contexto de internamento, a OMS recomenda vivamente o uso do LF-LAM para ajudar no diagnóstico da TB ativa em todos os adultos, adolescentes e crianças VIH positivos:</p> <ul style="list-style-type: none">• que tenham sinais e sintomas de TB (pulmonar ou extrapulmonar ou ambas); OU• que tenham VIH em estado avançado ou que estejam gravemente doentes, OU• que tenham uma contagem de CD4 < 200 células/mm³, independentemente de terem ou não sinais e sintomas de TB.	<p>Consolidação da recomendação.</p> <p>Melhoria da qualidade das evidências.</p> <p>Alargamento do âmbito da recomendação para incluir:</p> <ul style="list-style-type: none">• todos os doentes sintomáticos ou gravemente doentes, independentemente da contagem de CD4;• todos os doentes internados com VIH em estado avançado; e• doentes internados com ou sem sinais e sintomas de TB, que tenham uma contagem de CD4 < 200 células/mm³.
<p>O uso do LF-LAM também se aplica a adultos VIH positivos tratados em ambulatório que tenham sinais e sintomas de TB (pulmonar ou extrapulmonar) que:</p> <ul style="list-style-type: none">• tenham uma contagem de CD4 ≤ 100 células/mm³; OU• estejam gravemente doentes, independentemente da contagem de CD4, ou cuja contagem de CD4 seja desconhecida.	<p>Em contexto de ambulatório, a OMS sugere o uso do LF-LAM para ajudar no diagnóstico da TB ativa em todos os adultos, adolescentes e crianças VIH positivos que:</p> <ul style="list-style-type: none">• tenham sinais e sintomas de TB (pulmonar ou extrapulmonar ou ambas) OU que estejam gravemente doentes; OU• tenham uma contagem de CD4 < 100 células/mm³, independentemente de terem ou não sinais e sintomas de TB.	<p>Alargamento do âmbito da recomendação para incluir:</p> <ul style="list-style-type: none">• todos os doentes externos com sinais e sintomas de TB OU que estejam gravemente doentes; E• todos os doentes externos que tenham uma contagem de CD4 < 100 células/mm³, independentemente de terem ou não sinais e sintomas de TB.

<p>Salvo nas condições acima descritas especificamente para pessoas VIH positivas (i. e., com baixas contagens de CD4 ou que estejam gravemente doentes), o LF-LAM não deve ser usado para diagnosticar TB.</p>	<p>Em contexto de ambulatório, a OMS desaconselha o uso do LF-LAM para ajudar no diagnóstico da TB ativa em adultos, adolescentes e crianças VIH positivos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • sem avaliar os sintomas de TB; • que não tenham sintomas de TB e cuja contagem de CD4 seja desconhecida OU que não tenham sintomas de TB e tenham uma contagem de CD4 > 200 células/mm³; OU • que não tenham sintomas de TB e cuja contagem de CD4 esteja entre 100 e 200 células/mm³. 	<p>As populações de doentes estão definidas com mais clareza na recomendação que desaconselha o uso do LF-LAM.</p>
<p>O LF-LAM não deve ser usado como teste de rastreio da TB.</p>	<p>Ver as recomendações acima relativas a doentes internos e externos para situações em que é sugerido o uso do LF-LAM entre pessoas VIH positivas, independentemente de terem ou não sinais e sintomas de TB.</p> <p>Ver as recomendações anteriores relativas a doentes externos para situações em que a OMS desaconselha o uso do teste LF-LAM.</p>	<p>Clarificação da recomendação para o uso do LF-LAM entre pessoas VIH-positivas com e sem sinais e sintomas de TB:</p> <ul style="list-style-type: none"> • o LF-LAM é altamente recomendado para doentes VIH positivos em estado avançado que estejam internados e pessoas com uma contagem de CD4 < 200 células/mm³, independentemente de terem ou não sintomas de TB; E • o teste LF-LAM é sugerido para doentes VIH positivos externos com uma contagem de CD4 < 100 células/mm³, independentemente de terem ou não sintomas de TB.
<p>A recomendação inicial aplica-se igualmente a crianças VIH positivas com sinais e sintomas de TB (pulmonar ou extrapulmonar) e teve por base a generalização dos dados de adultos, reconhecendo, contudo, a escassez de dados e o receio motivado pela baixa especificidade do LF-LAM em crianças.</p>	<p>As novas recomendações também se aplicam a adolescentes e crianças VIH positivos e baseiam-se na generalização de dados de adultos, reconhecendo, contudo, a escassez de dados para aqueles grupos populacionais.</p>	

^a Esta tabela resume as orientações que constam das publicações da OMS de 2015 e 2019. Estas orientações contêm, entre outros, dados adicionais sobre a consolidação das recomendações.

^c Uso do ensaio de fluxo lateral do lipoarabinomanano na urina (LF-LAM) para diagnóstico e rastreio da tuberculose ativa em pessoas que vivem com VIH: orientações da política. Genebra: Organização Mundial de Saúde; 2015 (WHO/HTM/TB/2015.25; <https://apps.who.int/iris/handle/10665/193633>).

^e Ensaio de fluxo lateral do lipoarabinomanano na urina (LF-LAM) para diagnóstico da tuberculose ativa em pessoas que vivem com VIH: política atualizada em 2019. Genebra: Organização Mundial de Saúde; 2019 (WHO/CDS/TB/2019.16; <https://apps.who.int/iris/handle/10665/329479>).

ANEXO 2. PROCEDIMENTO OPERACIONAL DE REFERÊNCIA PARA EXECUTAR O ENSAIO ALERE DETERMINE TB LAM AG LATERAL FLOW ASSAY

Objetivo

O objetivo deste procedimento operacional de referência⁴ é especificar as etapas para a realização, interpretação e documentação corretas dos resultados válidos do ensaio Alere Determine™ TB LAM Ag (AlereLam). O AlereLam consiste num imunoensaio usado para detetar o antígeno (Ag) lipoarabinomanano (LAM) na urina humana e ajudar no diagnóstico da TB em pessoas que vivem com VIH.

Âmbito

Este procedimento operacional de referência aplica-se a todas as unidades de saúde que recorram ao AlereLam para ajudar no diagnóstico da TB em adultos VIH positivos que apresentem sinais e sintomas de TB (pulmonar ou extrapulmonar) e cuja contagem de CD4 seja < 100 células/mm³ ou que estejam gravemente doentes (estádio de doença 3 ou 4 segundo a classificação da OMS).

Responsabilidade e autorização

Os responsáveis pela realização deste teste são técnicos de laboratório e outro pessoal treinado (p. ex., enfermeiras, pessoas que efetuam testes de VIH e consultores).

Materiais

- Kit de teste AlereLam e Cartão da Escala de Referência
 - Fitas de teste do antígeno AlereLam
 - Amostra de controlo positivo para a TB do AlereLam (1 ml).
- Materiais necessários, mas não fornecidos com o kit
 - Temporizador
 - Luvas
 - Pipeta ou dispositivo capaz de dispensar com precisão 60 µl de urina (pode ser uma micropipeta calibrada munida de pontas com filtro ou uma pipeta de 60 µl de dois bolbos)
 - Pontas com filtro, caso se use uma micropipeta
 - Recipiente para eliminar objetos afiados
 - Esferográfica e marcador permanente
 - Sacos de eliminação de resíduos com risco biológico.

Segurança, saúde e ambiente

Trate todas as amostras de urina como potencialmente infecciosas e adote as precauções básicas universais. Envergue vestuário de proteção (i. e., bata ou avental e luvas) quando manusear as amostras.

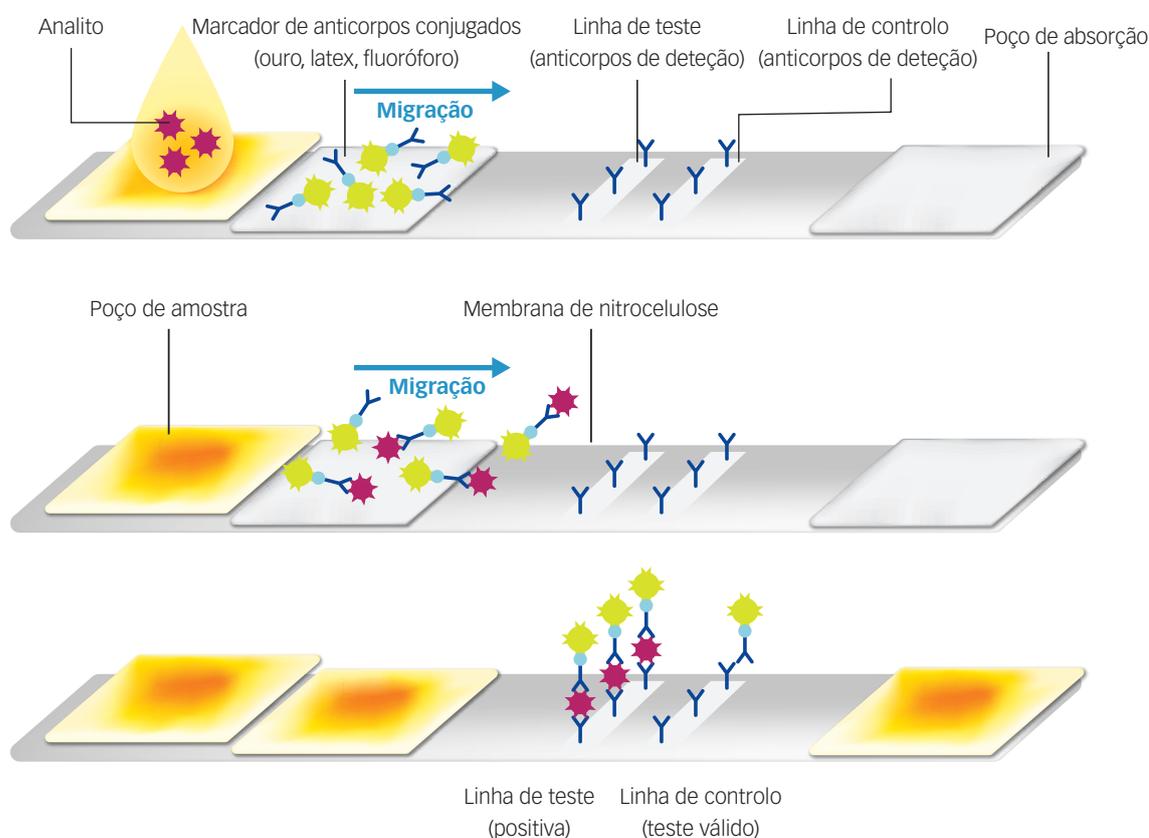
⁴ Este procedimento operacional de referência foi adaptado com base no dos Médicos Sem Fronteiras.

Princípios

O AlereLAM é um teste imunocromatográfico para detecção qualitativa do antígeno LAM em urina humana. O teste emprega anticorpos altamente purificados e específicos para o principal antígeno polissacarídeo das micobactérias: o LAM. Estes anticorpos são usados tanto para o marcador de captura como de detecção. Os anticorpos de captura são absorvidos pela membrana de nitrocelulose da fita de teste. O anticorpo de detecção é marcado por conjugação com partículas de ouro coloidal (Fig. A2.1).

Após adicionar uma amostra de urina à fita de teste, os anticorpos conjugados com ouro coloidal ligam-se ao antígeno LAM e são libertados da fita de teste pela amostra. O complexo imunológico é depois capturado pelos anticorpos anti-LAM imobilizado na membrana de nitrocelulose e tornado visível pela presença do marcador de ouro coloidal. Um resultado positivo (uma banda cinzento-arroxeadada) indica a presença do antígeno LAM na amostra numa concentração igual ou superior ao limite de detecção do teste; um resultado negativo (ausência da linha cinzento-arroxeadada) indica que o antígeno não está presente ou está presente numa concentração inferior ao limite de detecção. Para assegurar a validade do ensaio, o dispositivo tem incorporada uma janela de controlo procedimental.

Fig. A2.1. Princípios gerais* da detecção do antígeno lipoarabinomanano



* Uma vez adicionada ao ensaio, a amostra que contém o analito de interesse migra por capilaridade através de uma membrana interna onde se irá ligar primeiro a anticorpos de captura que têm acoplada uma molécula repórter. O complexo analito-anticorpo continua a migrar até alcançar outro conjunto de anticorpos de detecção imobilizados na membrana, que se ligam às moléculas do complexo, congregando-as num local (linha de teste) para detecção. Quaisquer anticorpos de captura (remanescentes) não ligados continuam a migrar e formam um complexo com um segundo conjunto de anticorpos imobilizado numa linha de controlo que valida o teste.

Colheita e conservação de amostras

Faça a colheita de urina, rejeitando a primeira porção, num frasco comum para colheita de urina. As amostras frescas de urina podem ser usadas por período de 8 horas, se conservadas à temperatura ambiente.

- (1) Se o teste for executado no espaço de 3 dias, as amostras devem ser conservadas entre 2 e 8 °C.
- (2) Se o teste for realizado após 3 dias, as amostras devem ser congeladas (-20 °C ou inferior). As amostras congeladas ou refrigeradas devem ser postas à temperatura ambiente 1 hora antes de serem usadas. As amostras congeladas podem conter agregados.
- (3) Todas as amostras descongeladas têm de ser centrifugadas a 10 000 g durante 5 minutos à temperatura ambiente; a amostra de teste de 60 µl deve ser cuidadosamente extraída do sobrenadante limpo. Evite ciclos repetitivos de congelamento-descongelamento. As amostras que tenham sido congeladas e descongeladas mais de três vezes não podem ser usadas.

Conservação e preparação de reagentes

As carteiras de testes AlereLAM têm de ser conservadas entre 2 e 30 °C até que sejam usadas. Os componentes do kit permanecem estáveis até ao fim do prazo de validade, desde que devidamente manuseados e conservados. Não utilize os componentes de um kit que esteja fora de validade. Volte a selar imediatamente os testes não usados na saqueta laminada que contém o dessecante pressionando o fecho de ponta a ponta. Não use fitas que tenham ficado molhadas ou cuja embalagem tenha sido danificada.

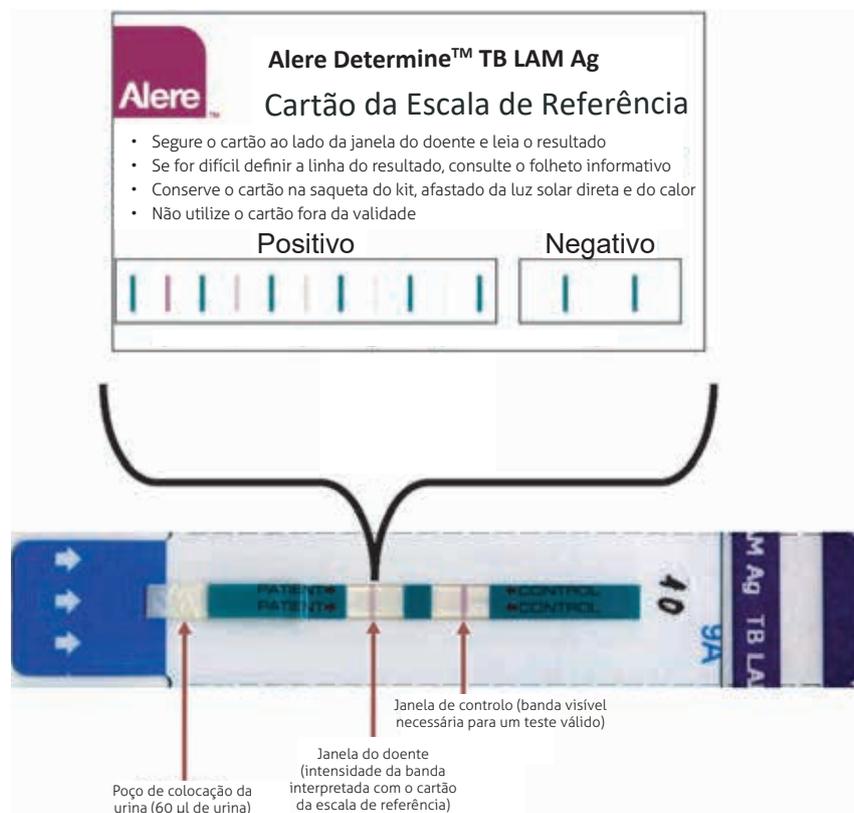
Procedimento de teste

- (1) Destaque da carteira de 10 testes o número de fitas de teste desejado dobrando e rasgando pelo picotado. As fitas devem começar a ser removidas do lado direito da carteira, preservando o número do lote indicado no lado esquerdo.
- (2) Remova a tira de proteção de cada fita de teste. Etiquete a fita com o número único de identificação do doente. O ensaio deve ser iniciado no espaço de 2 horas após remover a tira de proteção da fita de teste.
- (3) Adicione 60 µl da amostra (ou 2 gotas de urina) à fita de teste (Fig. A2.1; o poço branco assinalado com o símbolo de uma seta).
- (4) Aguarde entre 25 e 35 minutos e leia de seguida o resultado. Avalie a fita em condições normais de iluminação interior ou à sombra. Não o faça sob a luz solar direta. Os resultados permanecem estáveis até 35 minutos após a aplicação da amostra. Não leia a fita após 35 minutos.

Interpretação dos resultados

Para o auxiliar na leitura e interpretação dos resultados, segure o Cartão da Escala de Referência incluído no kit ao lado da janela do doente (Fig. A2.2).

Fig. A2.2. Utilização do Cartão da Escala de Referência para determinar a intensidade das bandas e a validade do ensaio Alere Determine TB LAM Ag



Fonte: reproduzido com a autorização do editor da Eur Respir J. [Revista da Sociedade Respiratória Europeia] 2012;40;1211–20. doi:10.1183/09031936.00201711.

Resultado positivo para o antígeno LAM (duas bandas visíveis: a de controlo e a do doente)

Num teste positivo, surgem duas bandas cinzento-arroxeadas na fita: uma na janela de controlo e outra na janela do doente. Lembre-se de que o resultado é positivo mesmo quando a banda do doente aparece mais clara ou mais escura do que a banda de controlo.

Nota: O cartão de referência tem de ser usado para identificar corretamente a intensidade das bandas que surgem na janela do doente. Uma banda mais clara que as do retângulo positivo do cartão de referência é considerada um resultado negativo ou indeterminado. Apenas se pode considerar positiva uma banda que seja tão ou mais escura que a primeira banda no retângulo positivo do cartão de referência.

Resultado negativo (apenas uma banda visível)

O resultado é negativo se apenas surgir uma banda cinzento-arroxeadada na janela de controlo da qualidade da fita e nenhuma banda ou apenas uma banda de grau 1 surgir na janela do doente.

Resultado inválido (nenhuma banda)

O teste é inválido se não surgir nenhuma banda cinzento-arroxeadada na janela de controlo da qualidade da fita, mesmo que surja uma banda na janela do doente; neste caso, deve repetir-se o teste. Se o problema persistir, contacte o seu distribuidor local ou a assistência técnica da Alere.

Resultado indeterminado

O resultado é indeterminado se surgir uma banda cinzento-arroxeadada na janela de controlo da fita, havendo uma banda pouco nítida ou incompleta na janela do doente. Para assegurar uma melhor decisão clínica, deve repetir-se o teste. Em alternativa, colha uma nova amostra de urina do doente noutra dia e teste-a. Recomenda-se a primeira urina da manhã.

Testes de controlo da qualidade

Faça semanalmente o teste de controlo da qualidade ao AlereLAM antes de a primeira amostra da semana ser analisada. Se nenhuma amostra for testada com o ensaio AlereLAM, não é necessário proceder ao teste de controlo da qualidade para essa semana. Assente os resultados dos testes de controlo da qualidade no livro de registo de resultados do TB LAM.

Para avaliar os controlos da qualidade do AlereLAM, deve adotar-se o procedimento que se segue.

Para o controlo positivo do AlereLAM:

- (1) comece por etiquetar a fita de teste como controlo positivo do TB LAM;
- (2) adicione 1 gota do controlo positivo do TB LAM Ag à fita de teste etiquetada;
- (3) leia os resultados após 25 minutos.

Para o controlo negativo do AlereLAM:

- (1) comece por etiquetar a fita de teste como controlo negativo do TB LAM;
- (2) adicione 2 gotas de solução salina ou água destilada;
- (3) leia os resultados após 10 minutos.

Poderá consultar mais informações no folheto informativo da embalagem do Alere Determine LAM Ag, também disponível em <https://www.alere.com/en/home/product-details/determine-tb-lam.html>.

