



## **Nota técnica nº 0012/2024 – DIVE/LACEN/SUV/SES/SC**

**Assunto:** Implantação do fluxo de encaminhamento de amostra das unidades sentinelas para pesquisa da resistência medicamentosa em hanseníase.

Considerando a Nota técnica Nº21/2024-CGHDE/DEDT/SVSA/MS e a Nota Técnica Nº46/2024-CGLAB/SVSA/MS, que versam sobre as orientações quanto a implementação do teste molecular para investigação de mutações em genes do *Mycobacterium. l leprae* associados à resistência antimicrobiana na hanseníase, a Diretoria de Vigilância Epidemiológica (DIVE/SC), por meio da Gerência de IST, HIV/AIDS e Doenças Infecciosas Crônicas (GEDIC), em parceria o Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN/SC), orientam sobre o fluxo de encaminhamento de amostra biológica, para realizar a pesquisa da resistência medicamentosa em hanseníase, das unidades sentinelas que compõe a rede de vigilância do estado para o LACEN/SC.

### **Descrição e indicação**

O ensaio de sonda de linha, traduzido do inglês *Line Probe Assay* (LPA) é um teste qualitativo utilizado para avaliação da Resistência Antimicrobiana (RAM) por amplificação de DNA e hibridização reversa em fita de nitrocelulose. Este teste é capaz de detectar o DNA do *M. leprae* e, simultaneamente, mutações associadas com a resistência à rifampicina, ao ofloxacino e à dapsona, em amostras de biópsia de pele cuja baciloscopia do raspado intradérmico do sítio de coleta da biópsia foi positiva.

Além de aprimorar e ampliar a vigilância de cepas de *M. leprae* resistentes aos medicamentos utilizados no tratamento da hanseníase, o LPA é capaz de promover a celeridade no processo de investigação de RAM, uma vez que esta tecnologia pode ser implementada de forma descentralizada no país, tendo em vista a menor complexidade de recursos laboratoriais necessários para sua execução.



O LPA tem seu uso indicado no [Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas \(PCDT\) da Hanseníase](#), cujo os critérios para investigação da RAM são:

- a) Caso novo de hanseníase que no diagnóstico inicial apresente índice baciloscópico (IB)  $\geq 2,0$  (resistência primária);
- b) Persistência de hansenomas e/ou lesões infiltradas após o término da Poliquimioterapia Única (PQT-U), com aspecto clínico inalterado em relação ao momento do diagnóstico;
- c) Índice baciloscópico (IB) inalterado ou aumento do IB em relação ao exame anterior, respeitando os mesmos sítios de coleta e o intervalo mínimo de 1 ano entre os exames;
- d) Reações hansênicas reentrantes por mais de 3 anos após a alta por cura, não responsivas ao tratamento com corticosteroides sistêmicos ou talidomida;
- e) Abandono ao tratamento com PQT-U por mais de 6 meses para os casos multibacilares (MB);
- f) Casos de recidiva comprovada pelo reaparecimento de lesões cutâneas e/ou neurológicas compatíveis com hanseníase após 5 anos de tratamento prévio com PQT-U.

Os fluxogramas 5 e 6, do PCDT da Hanseníase (p. 131/132), detalham o curso da investigação de resistência medicamentosa primária e secundária no tratamento da doença.

### **Fluxo e Responsabilidades**

A investigação da RAM para hanseníase deve ser iniciada nas unidades sentinelas selecionadas pela Coordenação Estadual de Hanseníase, juntamente com seus municípios que compõem a rede de vigilância do estado, conforme quadro abaixo:



**GOVERNO DE SANTA CATARINA**  
**Secretaria de Estado da Saúde**  
**Sistema Único de Saúde**  
**Superintendência de Vigilância em Saúde**  
**Diretoria de Vigilância Epidemiológica**

<b>Código CNES</b>	<b>Nome da Unidade de Saúde</b>	<b>Município</b>
9087389	Centro Especializado em Tuberculose, Hanseníase e Hepatites Virais	Chapecó
2302950	Hospital Santa Teresa	São Pedro de Alcântara
0019259	Policlínica Municipal Continente	Florianópolis
2301938	Posto de assistência Médica de Caçador	Caçador
2511444	SAE Unidade Sanitária	Joinville
2411423	Unidade de Saúde da Família Central	Xaxim
2378698	Unidade de Saúde Posto Central	Guaraciaba
2304074	Unidade Sanitária Central	Concórdia
2504324	Unidade Sanitária Central de Lages	Lages
9040897	Vigilância Epidemiológica	Videira
0429031	Laboratório Regional São Miguel do Oeste	São Miguel do Oeste
9166610	Vigilância Epidemiológica Municipal de Joaçaba	Joaçaba

As unidades sentinelas devem pertencer a Atenção Especializada municipal, regional ou estadual e devem possuir os seguintes critérios:

- a) Realizar ou ter acesso ao exame de baciloscopia com capacidade de leitura do IB;
- b) Realizar ou ter acesso a coleta de biópsia de pele;
- c) Possuir local para armazenamento das amostras e fluxo de envio para o LACEN;
- d) Ter computador com conexão à rede de internet para acessar o **Sistema de Investigação da Resistência Antimicrobiana na Hanseníase (SIRH)**;
- e) Gerenciar e acompanhar as amostras de testagem para a investigação da RAM.

Os municípios que atenderem aos critérios estabelecidos poderão solicitar o cadastro da Unidade de Saúde no SIRH junto a Coordenação Estadual de Hanseníase.

O SIRH é um sistema online e tem como finalidade a notificação de pacientes acometidos pela hanseníase que serão investigados para RAM, bem como o registro do resultado laboratorial e acompanhamento dos casos com indicação de tratamento específico.



Portanto, cada uma das unidades de saúde envolvidas na investigação da RAM tem seu bloco específico de preenchimento.

**Cabe as unidades sentinelas:**

- a) Identificar os casos com indicação para investigação de resistência segundo os critérios do PCDT da hanseníase;
- b) Preencher a solicitação de teste para identificação de genes de resistência no DNA do *M. leprae*, conforme o [formulário](#) padrão;
- c) Coletar as amostras de maneira adequada;
- d) Cadastrar o paciente no bloco I (Dados da Investigação da Resistência) do SIRH, com as informações coletadas na solicitação;
- e) Inserir no GAL (Gerenciador de Ambiente Laboratorial) a requisição do exame Hanseníase, Teste de Sensibilidade Genotípico – Hibridização de Sonda em linha;
- f) Enviar a amostra para o LACEN, em até 5 dias a contar da data da coleta.

**Cabe ao LACEN SC:**

- a) Conferir e avaliar a qualidade da amostra recebida;
- b) Preencher o bloco II (Recebimento da amostra pelo LACEN) do SIRH;
- c) Realizar o teste LPA, de acordo com as indicações do fabricante e da Nota Técnica Nº 46/2024 CGLAB/SVSA/MS;
- d) Liberar o resultado no bloco III (Recebimento da amostra pelo laboratório) do SIRH e no GAL, no prazo máximo de 7 dias a contar da data do recebimento da amostra;
- e) Em caso de resultado indeterminado no LPA, cadastrar no GAL exame Hanseníase, teste de sensibilidade e enviar a amostra para o laboratório de referência para realização do sequenciamento.



## **Amostra biológica e transporte**

A fase pré-analítica, que envolve a coleta e transporte da amostra biológica, é indispensável para a garantia da qualidade dos exames laboratoriais.

Na investigação da resistência do *M. leprae* a antimicrobianos, a amostra biológica consiste em fragmento de pele da borda da lesão mais característica e de maior IB. A biópsia deverá ser realizada, preferencialmente, com punch de **6mm** e, na impossibilidade, deverão ser coletados dois fragmentos com punch de **4mm**.

A biópsia deverá ser armazenada em tubo de plástico novo e com tampa capaz de vedar perfeitamente. Recomenda-se utilizar microtubo ou tubo criogênico, de tampa com rosca e anel de silicone, para auxiliar a vedação, com capacidade para 1,5ml ou 2,0ml. Nunca utilizar frascos que não tenham uma boa vedação como, por exemplo, coletores de urina.

Recomenda-se a preservação das amostras em álcool a 70°GL ou 70% para transporte em temperatura ambiente. Em hipótese alguma deve-se colocar o fragmento de pele destinado à análise por técnicas de biologia molecular em formol (formalina 10%).

Para preservação em álcool a 70°GL ou 70%, os tubos devem ser previamente preenchidos com álcool a 70°GL ou 70% e não devem conter espaço vazio, garantindo assim que toda a amostra fique imersa para melhor preservá-la. Importante garantir que a tampa seja capaz de vedar perfeitamente o tubo e, além disso, envolvê-lo com plástico selador. Nestas condições, pode-se mantê-los em temperatura ambiente.

Quanto à identificação, os tubos devem ser devidamente etiquetados, com data da coleta, nome completo e legível do paciente, sem abreviações, de acordo com sua documentação. Caso o paciente tenha um resultado recente de baciloscopia, o IB deve



ser inserido no GAL e no SIRH. É importante ressaltar que a identificação (etiqueta) deve ser resistente a ação do álcool.

Orientações adicionais podem ser acessadas no [Manual Interativo de Exames - Biologia Médica](#).

Destaca-se que, para o caso novo com  $IB \geq 2,0$ , a amostra biológica deverá ser coletada preferencialmente no momento do diagnóstico ou, no máximo, até a segunda dose supervisionada da PQT-U. Nos casos de reingresso por reações hansênicas reentrantes, por mais de 3 anos após a alta por cura, não responsivas ao tratamento com corticosteroides sistêmicos ou talidomida; abandono do tratamento com PQT-U por mais de 6 meses para os casos MB e casos de recidiva, comprovada pelo reaparecimento de lesões cutâneas e/ou neurológicas compatíveis com hanseníase após 5 anos de tratamento prévio com PQT-U, a amostra deverá ser coletada antes da notificação e do tratamento, assim como o tratamento farmacológico deverá ser iniciado após o resultado da investigação da RAM.

### **Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL)**

O cadastro da amostra no GAL é de responsabilidade da unidade sentinela. O requisitante irá entrar na página do GAL e, no local identificado como “Laboratório”, irá preencher as informações “Usuário” e “Senha” previamente cadastrados.

No campo “Módulo” irá selecionar a opção “Biologia Médica” e no campo “Laboratório” irá buscar o nome de sua unidade sentinela. Após todos os campos preenchidos irá clicar no botão “Entrar” (**Figura 1**).



**Figura 1:** Página inicial de acesso ao GAL.

Área Restrita

**GAL**  
Gerenciador de Ambiente Laboratorial

Servidor: gal.fiocruz.sus.gov.br  
Versão: 2.19  
Reg. INPI: 09.382-1  
Cliente: Mozilla/5.0 (Windows NT 10.0; Win64; x64) AppleWebKit/537.36 (KHTML, like Gecko) Chrome/124.0.0.0 Safari/537.36

"Este Programa encontra-se protegido contra a utilização não autorizada, conforme preceitua a Lei nº 9.609, de 19 de fevereiro de 1998, regulamentada"

SUS + MINISTÉRIO DA SAÚDE GOVERNO FEDERAL BRASIL UNIÃO E RECONSTRUÇÃO

**Laboratório**

Usuário:   
Senha:   
Módulo: BIOLOGIA MEDICA  
Laboratório:

Entrar Limpar

**Administrador**

Usuário:   
Senha:

Entrar Limpar

Ao cadastrar nova requisição no GAL, deve-se preencher toda a ficha que é composta por seções que solicitarão informações da unidade requisitante, informações do paciente, informações clínicas e, uma última parte, onde serão incluídas informações sobre amostra coletada e cadastro da Pesquisa/Exame. Além disso, orienta-se a inclusão no campo "Observações" do IB proveniente de exame de baciloscopia recente.

A descrição do exame no sistema GAL consta como "Hanseníase, Teste de Sensibilidade Genotípico" e é esta opção que deve ser selecionada em "Nova pesquisa", na aba Pesquisa/Exames (**Figura 2**). O exame "Hanseníase, Teste de Sensibilidade Genotípico" está associado à metodologia "Hibridação com sonda em linha (LPA)".



**Figura 2:** Seção da ficha de solicitação de exame no GAL para cadastro da Pesquisa e Exame.

The screenshot shows the 'Incluir Requisição' (Include Request) form in the GAL system. The 'Amostras' (Samples) section has 'Biópsia' and 'Pele' selected in the 'Nova amostra' field, and 'Amostra: IN - Amostra in natura' selected in the 'Amostra' dropdown. Below this, there are fields for 'Data da Colet', 'Hora da Colet', 'Medicamento', and 'Qual medicamento utilizado?'. The 'Pesquisas/Exames' (Research/Exams) section has 'Hanseníase' selected in the 'Nova pesquisa' field. A dropdown menu is open, showing 'Hanseníase. Teste de Sensibilidade Genotípico' with a red arrow pointing to it. The form also includes a table with columns for 'Material', 'Localização', 'Amostra', 'Material Clínico', and 'Data c', and buttons for 'Salvar' (Save) and 'Cancelar' (Cancel).

## Referências

1. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente, Departamento de Doenças Transmissíveis, Coordenação Geral de Vigilância da Hanseníase e Doenças em Eliminação. [NOTA TÉCNICA Nº 21/2024-CGHDE/DEDT/SVSA/MS](#). Orientações para a assistência referentes à implementação do teste molecular de hibridização com sonda em linha, do inglês *Line probe assay* (LPA), para investigação de mutações em genes do *M. leprae* associados à resistência antimicrobiana na hanseníase - Código SIGTAP 02.13.01.074-7.
2. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente, Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública. [NOTA TÉCNICA Nº 46/2024-CGLAB/SVSA/MS](#). Orientações para realização do teste de hibridização com sonda em linha (LPA), utilizado no âmbito laboratorial para avaliação de genes de resistência aos antimicrobianos utilizados no tratamento da Hanseníase.



**GOVERNO DE SANTA CATARINA**  
**Secretaria de Estado da Saúde**  
**Sistema Único de Saúde**  
**Superintendência de Vigilância em Saúde**  
**Diretoria de Vigilância Epidemiológica**

3. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Hanseníase, 2022. 152p.

Florianópolis, 03 de outubro de 2024.

**Gerência de IST, HIV/AIDS e Doenças Infecciosas Crônicas**  
**GEDIC/DIVE/SUV/SES/SC**

**Diretoria de Vigilância Epidemiológica**  
**DIVE/SUV/SES/SC**

**Laboratório Central de Saúde Pública**  
**LACEN/SUV/SES/SC**