



Boas práticas no diagnóstico da Tuberculose

Anabela Santos Silva

Responsável LNR Micobactérias e WHO SRLN TB

Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge

9 abril 2026

Sumário

01

Introdução

02

Amostras

- Colheita
- Estabilidade
- Transporte

03

Diagnóstico

- Exame direto
- TAAN
- Exame cultural

04

Garantia da qualidade

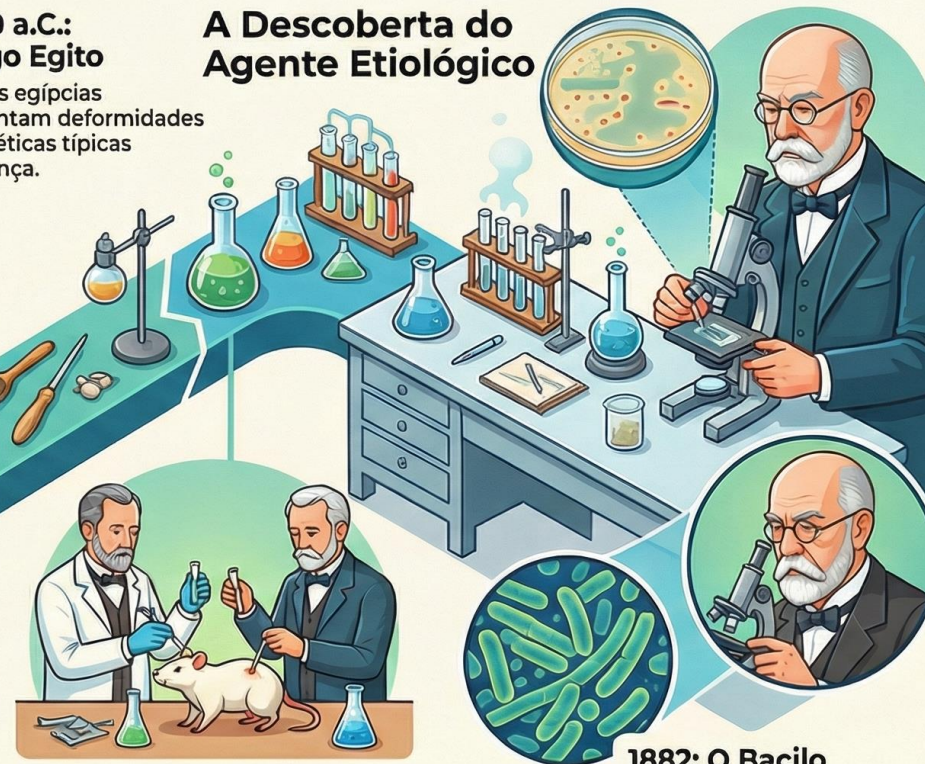
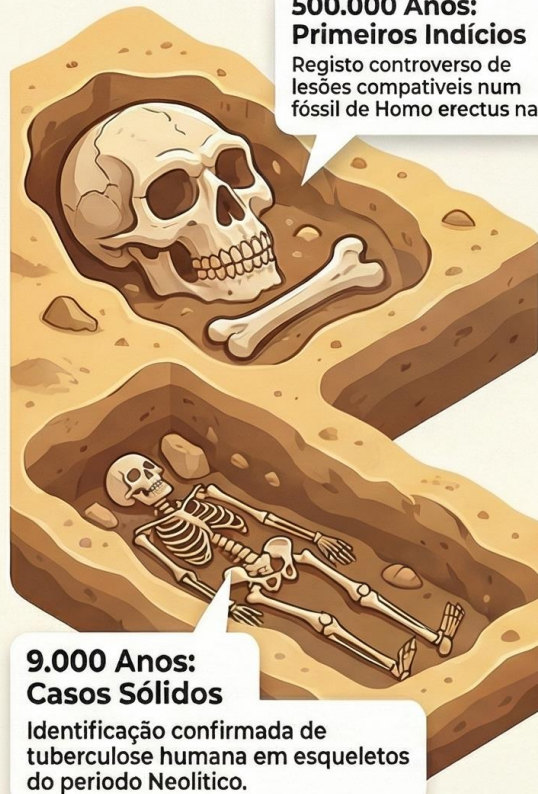
- Validação lotes
- Controlo interno
- AEQ

05

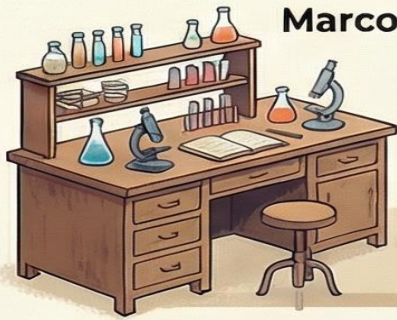
Considerações finais

A Jornada da Tuberculose: Da Pré-História à Ciência

Evidências Arqueológicas e Pré-Históricas

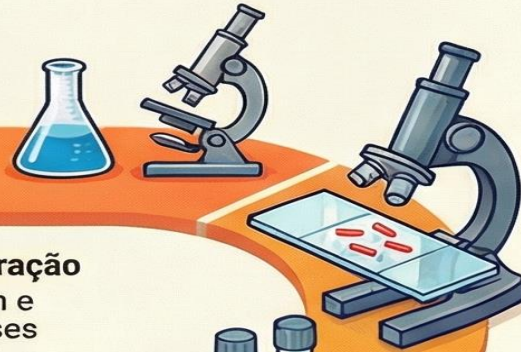


Marcos Históricos do Diagnóstico



1883 – 1915: Métodos de Coloração

Franz Ziehl, Friedrich Neelsen e Joseph Kinyoun criam as bases da microscopia para TB.



Anos 30 – 50: Culturas e Antibiogramas

Surge o meio Löwenstein-Jensen e os primeiros testes de sensibilidade aos antibióticos.



Anos 80 – 90: Revolução Molecular

Introdução de meios de cultura líquidos (MGIT) e dos primeiros testes moleculares LPA.

O Presente e o Futuro Digital



Deteção em 24-48 Horas
Utilização de GeneXpert e PCR para identificação rápida de MTC e resistências genéticas.



Sequenciação Total do Genoma (WGS)

Permite prever a suscetibilidade a todos os antibióticos após isolamento em cultura.



O Futuro: Sequenciação Direta

O próximo passo é realizar a sequenciação genómica diretamente da amostra do doente.

Metodologia Certa → Diagnóstico Certo

colheita correta da amostra
aplicação de métodos moleculares e microbiológicos

1º passo para diagnóstico certo

AMOSTRAS

**colheita
conservação
estabilidade
transporte**

AMOSTRAS PRECIOSAS



Líquidos biológicos



LCR



Biópsias



Exsudados pus

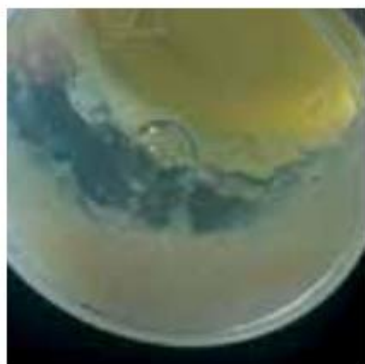


Suco gástrico

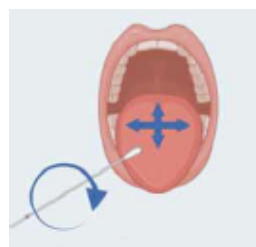


Lavado brônquico broncoalveolar

OUTRAS AMOSTRAS



Expetoração



Esfregaço língua



Fezes



Urina



COLHEITA

Contentor estéril, seco, inquebrável e estanque

Exceções:

Biópsias - adicionar soro fisiológico estéril

CONSERVANTES

Exsudados/pus - seringa

 zaragatoa adicionar gotas soro fisiológico estéril

Suco gástrico - adicionar 100 mg de bicarbonato de sódio

Urina - urina jato médio após higiene genitais



COLHEITA

Volume mínimo

LCR – 2 a 3 mL

Expetoração – 3 a 5 mL

Suco gástrico – 5 a 10 mL

Lavados (LB/LBA) – 20 a 50 mL

Líquidos pleural – 20 a 50 mL

Urina – 15 a 30 mL

Fezes – 1 g



CONSERVAÇÃO

2 – 8°C

Entrega laboratório logo que possível

Entrega
imediate

{ amostras paucibacilares
suco gástrico sem neutralização
urina - centrifugar 3000 rpm/15' e conservar sedimento 2-8°C



ESTABILIDADE

Até 5 dias conservadas a 2 – 8°C

5.3.2 Storage of specimens

Specimens should be correctly collected and delivered as quickly as possible to the laboratory. Every effort must be made to organise and expedite specimen transportation and processing. Although TB bacilli can survive in sputum for one week in the absence of preservatives, the probability of successfully culturing the bacilli decreases with time and this is especially critical for paucibacillary specimens. If specimens cannot be transported to the laboratory within one hour, it is recommended to store them at 4°C. This does not apply to whole blood specimens, which are not to be refrigerated. On arrival at the laboratory, specimens should again be refrigerated until they can be processed. The delay between collection and inoculation should not exceed seven days.

European Centre for Disease Prevention and Control. Handbook on tuberculosis laboratory diagnostic methods in the European Union – Updated 2022. Stockholm: ECDC; 2023.

delay in transport of the specimen to the laboratory was the only independent factor significantly associated with increase in culture contamination.

Ellappan, Kalaiarasan et al. “Evaluation of factors influencing Mycobacterium tuberculosis complex recovery and contamination rates in MGIT960.” *The Indian journal of tuberculosis* vol. 67,4 (2020): 466-471. doi:10.1016/j.ijtb.2020.07.016



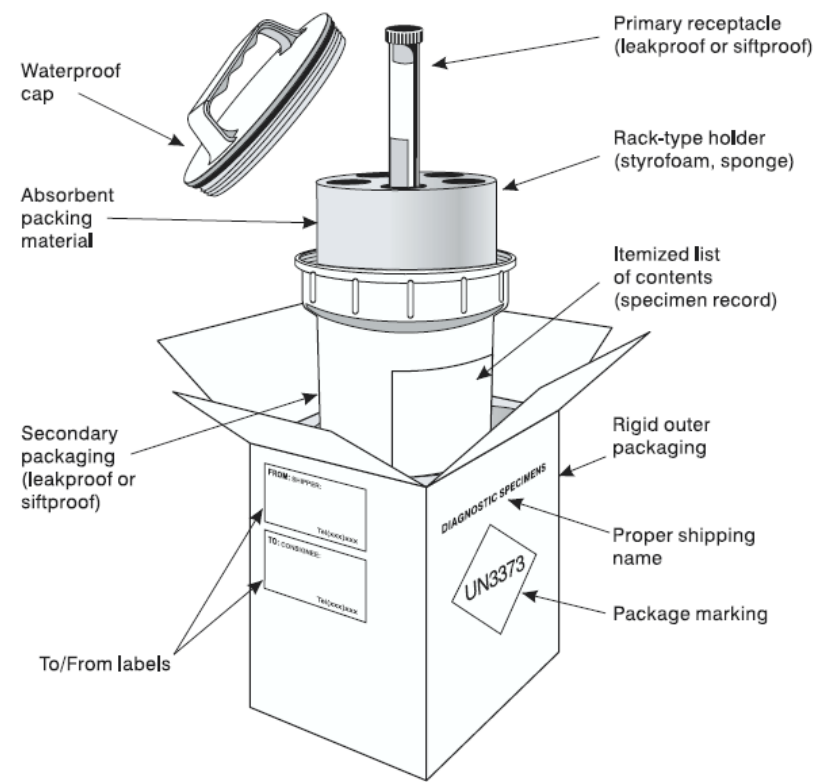
UN 3373 “Biological Substance, Category B”



instruções de embalagem **P650**

TRANSPORTE

Packing and labelling of Category B infectious substances



DECISÃO DA COMISSÃO

de 28 de Abril de 2008

que altera a Decisão 2002/253/CE que estabelece definições de casos para a notificação de doenças transmissíveis à rede comunitária ao abrigo da Decisão n.º 2119/98/CE do Parlamento Europeu e do Conselho

Critérios laboratoriais

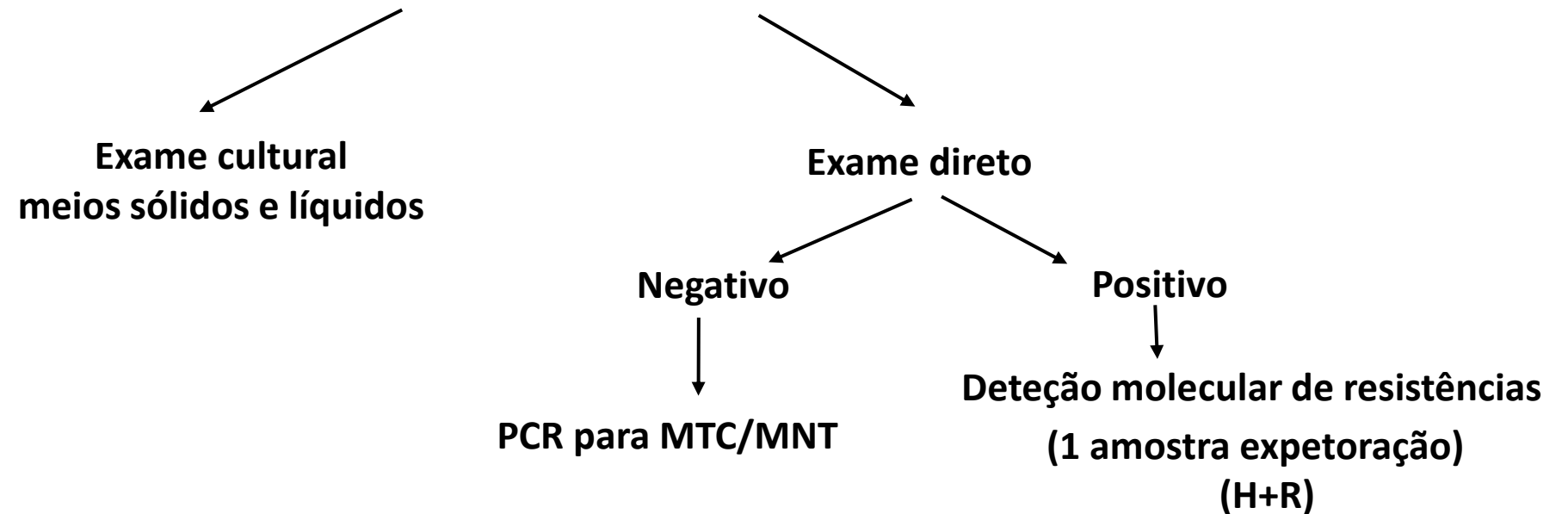
— Critérios laboratoriais para confirmação do caso:

Pelo menos um dos dois critérios seguintes:

- isolamento do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (com exclusão de *Mycobacterium bovis*-BCG) numa amostra clínica,
- detecção de ácidos nucleicos do complexo *Mycobacterium tuberculosis* numa amostra clínica E baciloscopia positiva por microscopia óptica convencional ou fluorescente.

AMOSTRA BIOLÓGICA

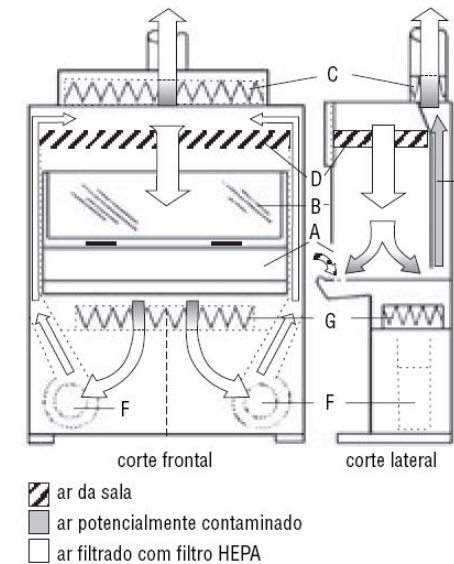
2 amostras expetoração
(colhidas no dia consulta; intervalo mínimo 30 minutos)



MÉTODOS DE DESCONTAMINAÇÃO

Objetivos:

- eliminar a flora associada
- libertar as micobactérias aprisionadas
- concentrar as micobactérias



Métodos:

- **Kubica (N-acetil – L – cisteína / hidróxido de sódio)**
- Tacquet e Tison (Lauril sulfato de sódio / hidróxido de sódio)
- Petroff (Hidróxido de sódio)
- Ácido oxálico
- Ácido sulfúrico

MÉTODOS DE DESCONTAMINAÇÃO

Escolha do método depende:

- produto a descontaminar
- meio de cultura a usar



Fundamental:

respeitar todas as indicações do método escolhido

tempo de contacto

velocidade de centrifugação

tempo de centrifugação

EXAME DIRETO

Vantagens:

- fácil execução
- rápido – resposta em 24h
- técnica pouco dispendiosa

- deteção casos infecciosos



Limitações:

- baixa sensibilidade – são necessários $\simeq 10^4$ bacilos por ml de amostra para que sejam detetados
- não é específico para *M. tuberculosis* – deteta bacilos álcool-ácido resistentes

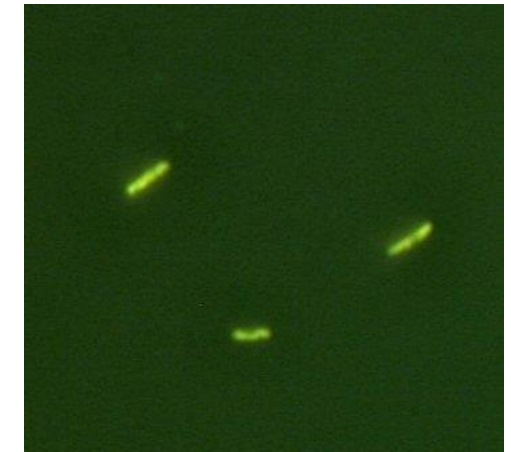
EXAME DIRETO – MÉTODOS DE COLORAÇÃO

Colorações fluorescentes

- coloração de Degommier (auramina / vermelho de tiazina)
- coloração de Holst, Mitchison e Radha-Krishna (auramina / permanganato de potássio)

Colorações pela fucsina fenicada

- colorações a frio
 - método de Kinyoun (fucsina saturada)
 - método de Gabbett (combina descoloração e coloração de contraste)
 - método de Tan Thiam Hok (combina fucsina saturada com modificação de Gabbett)
- colorações a quente
 - método clássico de Ziehl-Neelsen (fucsina a 1% - 10`)
 - método rápido de Ziehl-Neelsen (fucsina a 1% - 3`)
 - método d` Armand (fucsina a 1% e corante d`Armand)



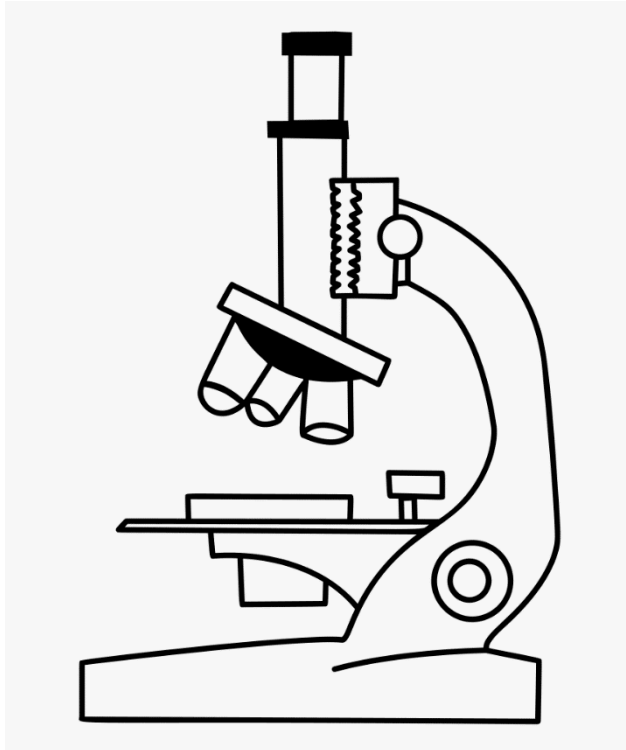
EXAME DIRETO

Tabela de conversão entre diferentes colorações e ampliações

1 Carbol Fuchsin 1 000x	2 Report	3 Fluorechent microscopy magnification*		
		250x	450x	630x
0	No acid-fast bacilli seen	0	0	0
1-9 / 100 fields	Report exact count	Divide observed count by 10	Divide observed count by 4	Divide observed count by 2
10-99/100 fields	+1			
1-10/field	+2			
>10 / field	+3			

* To adjust for altered magnification of fluorescent microscope divide the number of organisms seen by the factor provided and refer to column 1 for range and column 2 for what to report.

World Health Organization. Laboratory Service in Tuberculosis Control. Part II:Microscopy. Geneva,1998



EXAME DIRETO

Prevenção de falsos positivos

- marcar corretamente e conferir todas as requisições com os contentores das amostras e as respetivas lâminas
 - usar sempre lâminas novas
 - não permitir que as lâminas toquem entre si durante a coloração
 - não usar água da torneira
 - não permitir que o aplicador do óleo de imersão toque no esfregaço
 - limpar sempre a objetiva após cada observação
- registrar e enviar os resultados corretamente

Prevenção de falsos negativos

- cumprir corretamente os tempos de coloração e de descoloração
- utilizar um controlo positivo em cada serie de colorações
- observar todo o esfregaço, pelo menos 100 campos (ampliação 1000x), para considerar uma lâmina como negativa

MÉTODOS MOLECULARES - TAAN

Vantagens:

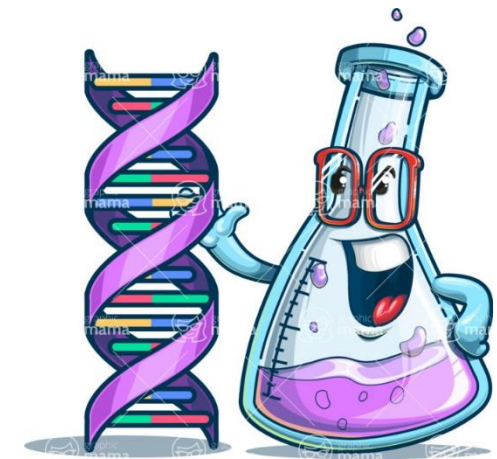
- rápido
- específico – identifica o *Mycobacterium tuberculosis* complex
- alguns permitem também deteção de mutações

Limitações:

- sensibilidade variável
- apenas diagnóstico
- menos sensível do que cultura → resultado negativo não exclui TB

Não substitui o exame cultural:

- execução das provas de sensibilidade
- identificação de micobactérias não tuberculosas



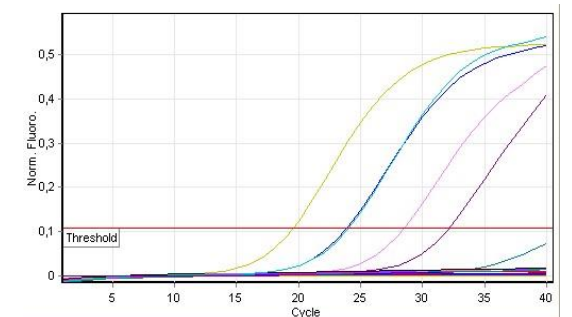
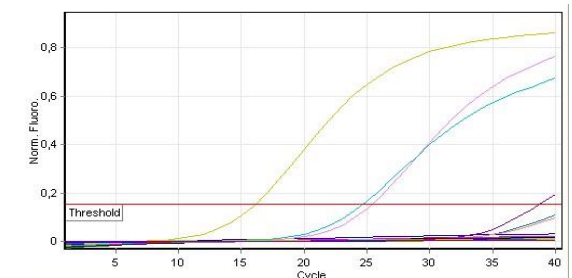
MÉTODOS MOLECULARES - TAAN

Deteção molecular de resistências

- Detetar DNA do complexo *M. tuberculosis*
- Pesquisar mutações mais frequentes associadas a resistências
(H+R)
(2ª linha)

PCR

- Detetar DNA do complexo *M. tuberculosis*
- Detetar DNA do género *Mycobacterium*



MÉTODOS MOLECULARES - TAAN

In 2008, WHO approved the use of commercial LPAs for detecting MTBC in combination with resistance to rifampicin and isoniazid in sputum smear-positive specimens (direct testing) and in cultured isolates of MTBC (indirect testing).



WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 3: diagnosis - rapid diagnostics for tuberculosis detection, 2021 update

Rapid Implementation of the Xpert MTB/RIF diagnostic test

Technical and operational 'How-to'
Practical considerations



March 2011

- The Xpert MTB/RIF assay provides the foundation for a revolution in the diagnosis of TB and drug-resistant TB.
- Global roll-out of the Xpert MTB/RIF assay and associated GeneXpert instruments has started. By 30 June 2011, 26 of the 145 countries that are eligible to purchase instruments and Xpert MTB/RIF cartridges at concessional prices had done so.

Global tuberculosis control: WHO report 2011 (WHO/HTM/TB/2011.16)

MÉTODOS MOLECULARES - TAAN

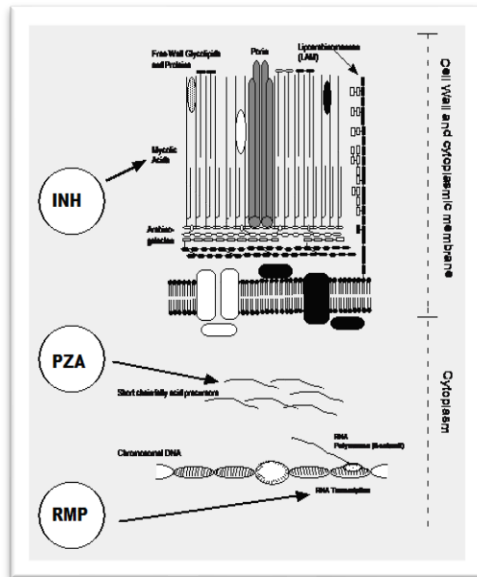
WHO Meeting Report of a Technical Expert
 Consultation: Non-inferiority analysis of Xpert MTB/RIF
 Ultra compared to Xpert MTB/RIF



2017

This has resulted in Ultra having a limit of detection (LOD) of 16 bacterial colony forming units (cfu) per ml (compared to 114 cfu per ml for Xpert MTB/RIF).

MÉTODOS MOLECULARES - TAAN



Isoniazida:

resistência:

- mutação no gene *KatG* (codão 315)
- mutação no gene *inhA* (região reguladora)
- mutação no gene *ahpC*, *oxyR*, *kasA*

Rifampicina:

resistência:

- mutações no gene *rpoB* (codão 531, 526, 516)



Antibiotics	Code	Gene(s)
Second line/aminoglycosides		
Amikacin	AMK	<i>rrs</i> / <i>eis</i>
Kanamycin	KAN	<i>rrs</i> / <i>eis</i>
Capreomycin	CAP	<i>rrs</i> / <i>tlyA</i>
Fluoroquinolones		
Moxifloxacin/Levofloxacin	MFX/LFX	<i>gyrA</i> / <i>gyrB</i>
Ofloxacin		<i>gyrA</i> / <i>gyrB</i>
Ciprofloxacin	CIP	<i>gyrA</i> / <i>gyrB</i>

MÉTODOS MOLECULARES - TAAN

Sistema GeneXpert – PCR tempo real

- identificação MTC
- rifampicina

- isoniazida (etionamida), fluoroquinolonas e injetáveis

Exames diretos
negativos

Sistema GenoType – LPA (amplificação e hibridização reversa)

- identificação MTC
- multirresistência (etionamida)

- fluoroquinolonas e injetáveis

Exames diretos
positivos

MÉTODOS MOLECULARES - TAAN

Exames diretos negativos

Sistema GeneXpert – PCR tempo real

- identificação MTC
- rifampicina

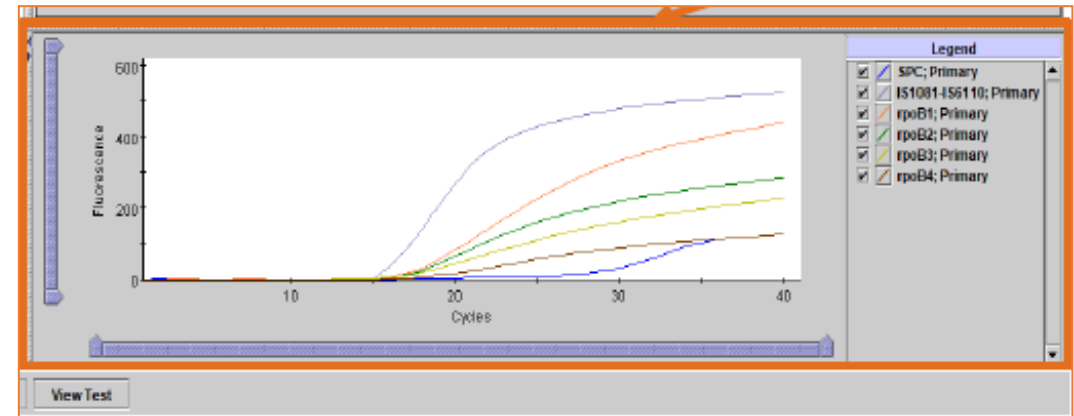


Xpert MTB/RIF Ultra

- isoniazida (etionamida), fluoroquinolonas e injetáveis 2ª linha



Xpert MTB/XDR



MÉTODOS MOLECULARES - TAAN

Pesquisa DNA de MTC + Detecção molecular de resistência à rifampicina

Xpert® MTB/RIF Ultra



Targets

rpoB gene
IS6110 & *IS1081*

MÉTODOS MOLECULARES - TAAN

Pesquisa DNA de MTC + Detecção molecular de resistência à isoniazida e aos fármacos 2ª linha

Xpert® MTB/XDR



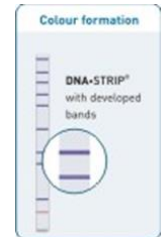
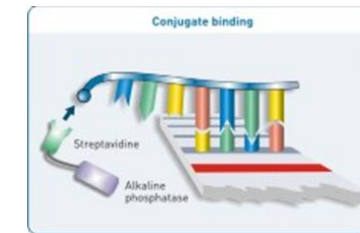
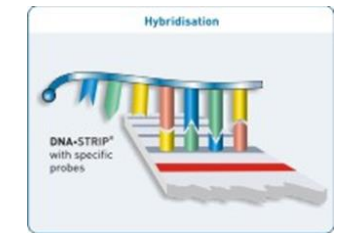
Table 2.3.1. Drug-related gene targets, codon regions and nucleotide sequences that determine presence of variants associated with drug resistance in the Xpert MTB/XDR assay (35)

Drug	Gene target	Codon regions	Nucleotide
Isoniazid	<i>inhA</i> promoter	Not applicable	-1 to -32 intergenic region
	<i>katG</i>	311-319	939-957
	<i>fabG1</i>	199-210	597-630
	<i>oxyR-ahpC</i> intergenic region	Not applicable	-5 to -50 intergenic region (or -47 to -92 ^a)
Ethionamide	<i>inhA</i> promoter	Not applicable	-1 to -32 intergenic region
Fluoroquinolones	<i>gyrA</i>	87-95	261-285
	<i>gyrB</i>	531-544 (or 493-505 ^a)	1596-1632
Amikacin, capreomycin and kanamycin	<i>rrs</i>	Not applicable	1396-1417
Amikacin and kanamycin	<i>eis</i> promoter	Not applicable	-6 to -42 intergenic region

^a Codon numbering system according to Camus et al. (2002) (36).

MÉTODOS MOLECULARES - TAAN

Exames diretos positivos



Sistema GenoType – LPA (amplificação e hibridização reversa)

- identificação MTC
- multirresistência (etionamida)



GenoType MTBDRplus

- fluoroquinolonas e injetáveis 2ª linha

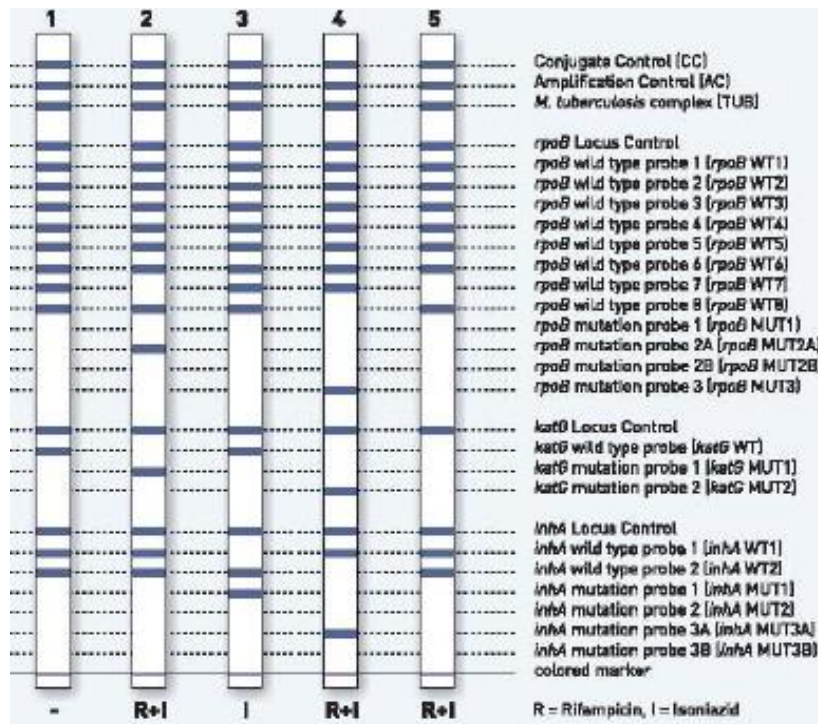


GenoType MTBDRsl

MÉTODOS MOLECULARES - TAAN

Pesquisa DNA de MTC + Detecção molecular de resistência à isoniazida e à rifampicina

GenoType MTBDRplus



Sondas "wild type"

Sondas mutação

Sonda "wild type"

Sondas mutação

Sondas "wild type"

Sondas mutação

rpoB → rifampicina

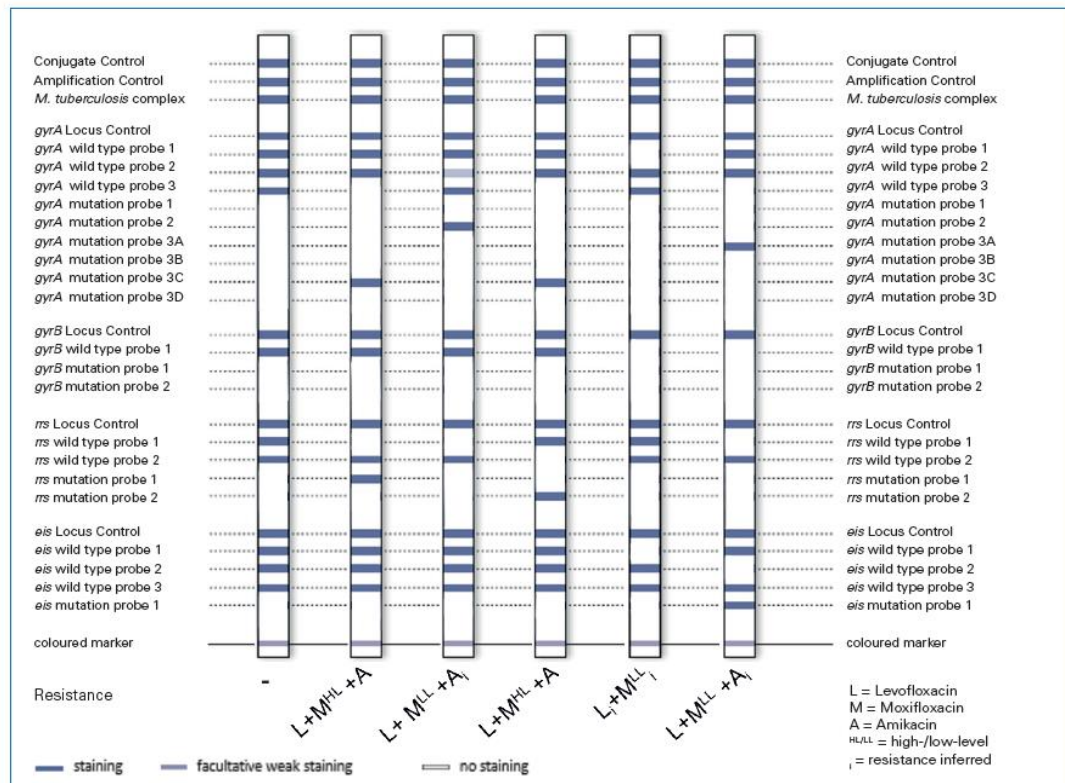
katG → isoniazida

inhA → isoniazida

MÉTODOS MOLECULARES - TAAN

Pesquisa DNA de MTC + Detecção molecular de resistência aos fármacos 2ª linha

GenoType MTBDRplus



Sondas "wild type"

Sondas mutação

Sonda "wild type"

Sondas mutação

Sondas "wild type"

Sondas mutação

Sondas "wild type"

Sondas mutação

fluoroquinolonas

fármacos injetáveis

MÉTODOS MOLECULARES - TAAN

It is important to note that, like other molecular tests currently endorsed by WHO, LPAs have some limitations:

- Although LPAs can detect the mutations most frequently identified in resistant strains, some mutations that confer resistance are outside the regions covered by the test and resistance cannot be completely excluded, even in the presence of all WT probes. Thus, in some cases additional phenotypic DST may be necessary for a full assessment of the presence of a resistant strain.
- LPA is less efficient than conventional culture-based DST in detecting resistance in samples that harbour both drug-susceptible and -resistant bacteria (i.e., heteroresistance). Specifically, LPA can be used to identify resistant bacteria with mutations detected by the MUT probes if resistant bacteria represent at least 5% of the total population; however, resistant bacteria with mutations inferred by the absence of WT probes would probably be missed if the resistant population represents less than 95% of the total bacterial population (13, 14).

Line probe assays for detection of drug-resistant tuberculosis: interpretation and reporting manual for laboratory staff and clinicians

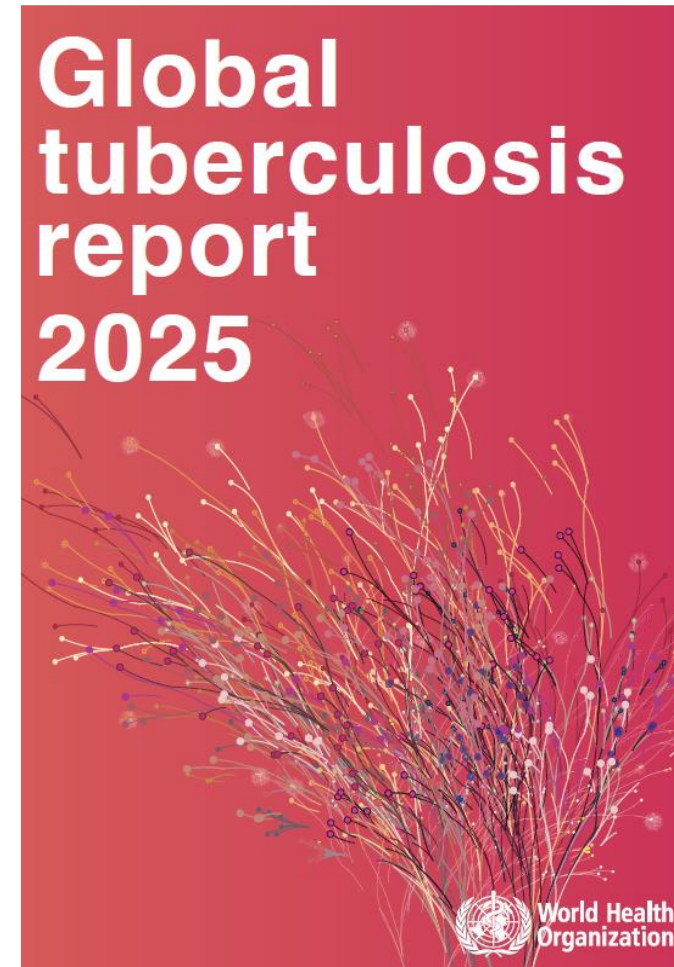
ISBN 978-92-4-004666-5 (electronic version)

ISBN 978-92-4-004667-2 (print version)

© World Health Organization 2022

Diagnostic tests for TB disease have improved substantially in recent years. There are now several rapid molecular tests recommended by WHO as the initial diagnostic test for TB, some of which can detect drug resistance simultaneously (3). These tests can be used at the lower levels of the health system. A point-of-care lateral-flow test performed on urine is also recommended by WHO; its main use is to assist with diagnosis of TB in people with advanced HIV disease, in combination with rapid molecular tests. There are additional rapid molecular tests specifically for the detection of resistance to a variety of first- and second-line anti-TB drugs, while sequencing technologies can be used to provide a comprehensive individual profile of drug resistance. The older method of sputum smear microscopy (developed >100 years ago) is still used for TB diagnosis in low and middle-income countries but is increasingly being replaced with rapid tests.

Culture testing remains the reference standard for TB diagnosis. In addition, culture is required for the detection of resistance to newer anti-TB drugs and may also be used as a confirmatory test in settings and situations in which people have a low pre-test probability of having TB disease. Following diagnosis, culture or smear (as opposed to rapid molecular tests) are necessary to monitor an individual's response to treatment.



Global tuberculosis report 2025. Geneva: World Health Organization; 2025. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

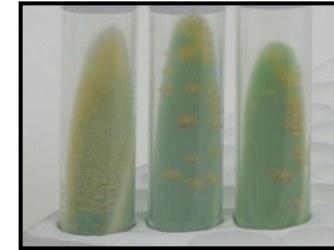
EXAME CULTURAL

Vantagens:

- maior sensibilidade do que exame direto
 - meios sólidos (10 a 100 bacilos/ml para cultura positiva) **MONITORIZAÇÃO TRATAMENTO**
 - meios líquidos (10% mais sensíveis) **DIAGNÓSTICO**
- permite identificação da espécie
- permite avaliação da sensibilidade aos fármacos
 - confirmação resultados moleculares
 - outros fármacos
 - micobactérias não tuberculosas

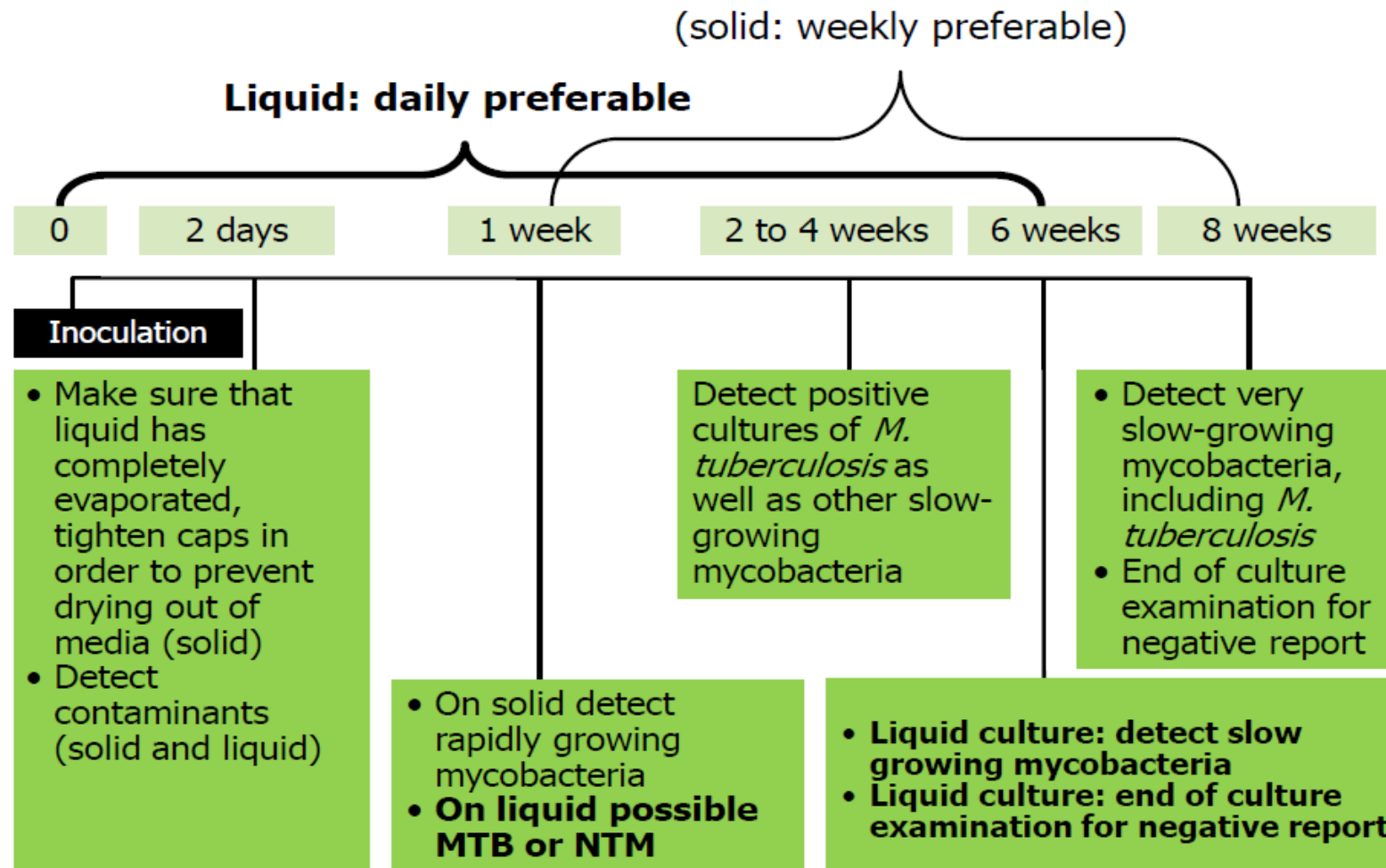
Limitações:

- método lento



EXAME CULTURAL

Figure 5.1 Minimal examination schedule



European Centre for Disease Prevention and Control. Handbook on TB laboratory diagnostic methods for the European Union, Stockholm: ECDC; 2016

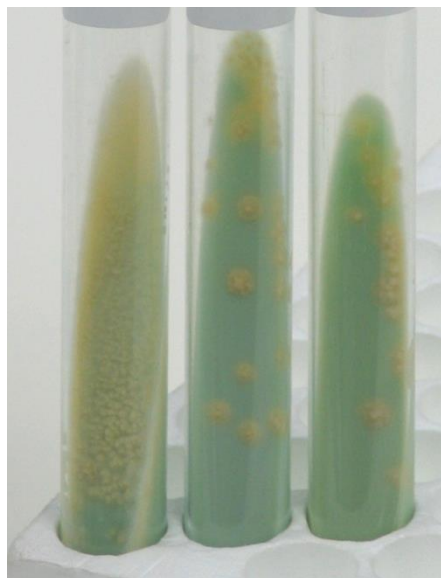
EXAME CULTURAL

Cultura positiva

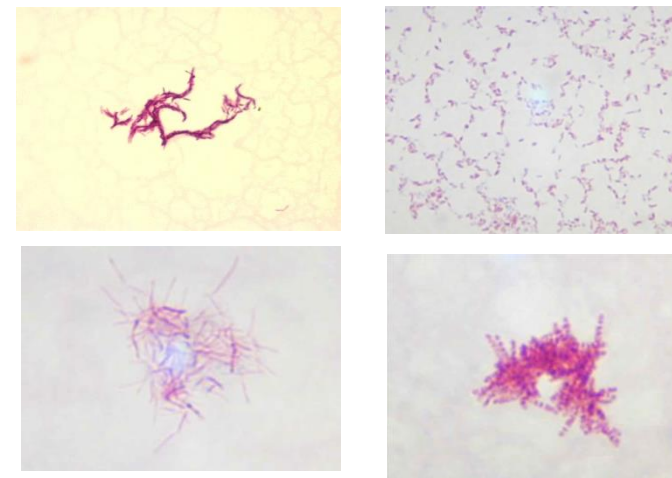
Meios sólidos e/ou meios líquidos

Confirmar a presença de BAAR

Morfologia das colónias nos meios sólidos



Exame microscópico das culturas



(ampliação 1000 x)

A identificação das estirpes é obrigatória

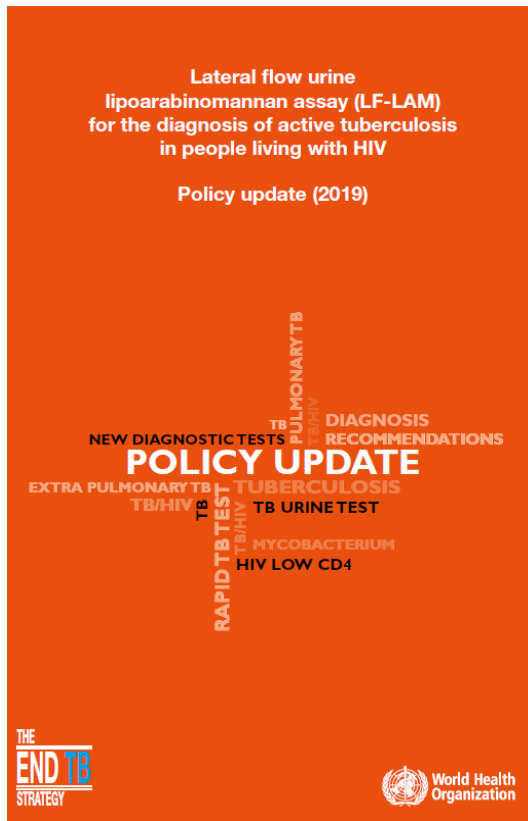
LF - LAM

Tests based on the detection of mycobacterial lipoarabinomannan (LAM) antigen in urine have emerged as potential point-of-care tests for TB. The currently available urinary LAM assays have suboptimal sensitivity, and are therefore not suitable as diagnostic tests for TB in all populations. However, unlike traditional diagnostic methods, urinary LAM assays demonstrate improved sensitivity for the diagnosis of TB among individuals coinfecting with HIV. The estimated sensitivity is even greater in patients with lower CD4 cell counts. Currently, the urine lateral flow LAM assay (LF-LAM) strip-test – the Alere Determine™ TB LAM Ag, United States of America (USA), hereafter referred to as AlereLAM – is the only commercially available urinary LAM test.

Remarks

All patients with signs and symptoms of pulmonary TB who are capable of producing sputum should have as their initial diagnostic test at least one sputum specimen submitted for Xpert® MTB/RIF (Ultra) assay. This also includes children and adolescents living with HIV who are able to provide a sputum sample.

LF-LAM should be used as an add-on to clinical judgement in combination with other tests. It should not be used as a replacement or triage test.



LF - LAM

WHO policy recommendations

In inpatient settings, WHO strongly recommends using LF-LAM to assist in the diagnosis of active TB in HIV-positive adults, adolescents and children:

- with signs and symptoms of TB (pulmonary and/or extrapulmonary) (**strong** recommendation; moderate certainty in the evidence about the intervention effects) [1];³ or
- with advanced HIV disease⁴ or who are seriously ill⁵ (**strong** recommendation; moderate certainty in the evidence about the intervention effects) [1]; or
- irrespective of signs and symptoms of TB and with a CD4 cell count of less than 200 cells/mm³ (**strong** recommendation; moderate certainty in the evidence about the intervention effects) [2].

In outpatient settings, WHO suggests using LF-LAM to assist in the diagnosis of active TB in HIV-positive adults, adolescents and children:

- with signs and symptoms of TB (pulmonary and/or extrapulmonary) or seriously ill (**conditional** recommendation; low certainty in the evidence about test accuracy) [3]; and
- irrespective of signs and symptoms of TB and with a CD4 cell count of less than 100 cells/mm³ (**conditional** recommendation; very low certainty in the evidence about test accuracy) [4].

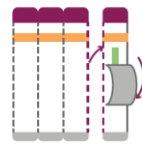
LF - LAM


In outpatient settings, WHO recommends **against** using LF-LAM to assist in the diagnosis of active TB in HIV-positive adults, adolescents and children:

- without assessing TB symptoms (**strong** recommendation; very low certainty in the evidence about test accuracy) [5];
- without TB symptoms and unknown CD4 cell count or without TB symptoms and CD4 cell count greater than or equal to 200 cells/mm³ (**strong** recommendation; very low certainty in the evidence about test accuracy) [6]; and
- without TB symptoms and with a CD4 cell count of 100–200 cells/mm³ (**conditional** recommendation; very low certainty in the evidence about test accuracy) [7].

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				

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



Garantia da Qualidade:

- Procedimentos de trabalho, treino e manutenção de competências
- Verificação/Calibração e Manutenção dos equipamentos
- Verificação e/ou validação dos métodos
- Validação dos lotes de reagentes
- Controlo qualidade interno
- Avaliação Externa da Qualidade



VALIDAÇÃO DOS LOTES DE REAGENTES

Exame direto

- Avaliação de cada novo lote de corantes
 - 3 esfregaços positivos (1+)
 - 3 esfregaços negativos (corados 3X)



Métodos Moleculares - TAAN

- Avaliação de cada novo lote de reagentes
 - 1 amostra positiva
 - 1 amostra negativa

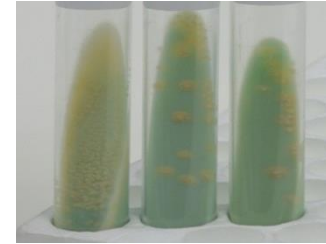


VALIDAÇÃO DOS LOTES DE REAGENTES

Exame cultural

Controlo do meio de cultura (Meio sólido - Lowenstein-Jensen)

- cor
- textura
- homogeneidade
- sensibilidade: - 5 tubos do lote em uso + 5 tubos do novo lote
 - inocular 0,2 mL (diluição 10^{-4}) de suspensão McFarland 1 de uma estirpe de *M. tuberculosis* (H37Rv)
 - leituras aos 20 e 60 dias
- esterilidade: - 5 tubos novo lote
 - incubados 48 horas 37°C + 48 horas temperatura ambiente

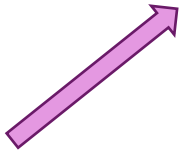


Controlo do meio de cultura (Meio líquido - MGIT)

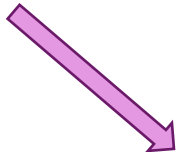
- cor
- sensibilidade: - 1 tubo de cada caixa
 - inocular 0,5 mL (diluição 10^{-4}) de suspensão McFarland 1 de uma estirpe de *M. tuberculosis* (H37Rv)
 - confirmar presença de BAAR quando positivar



CONTROLO QUALIDADE INTERNO

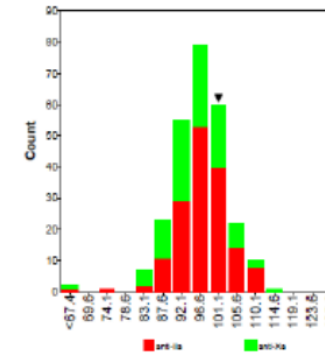
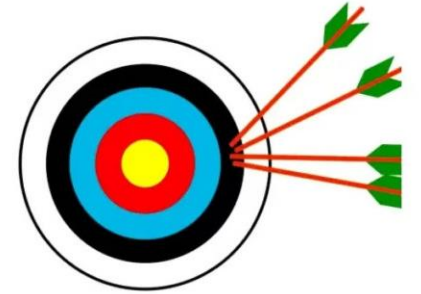
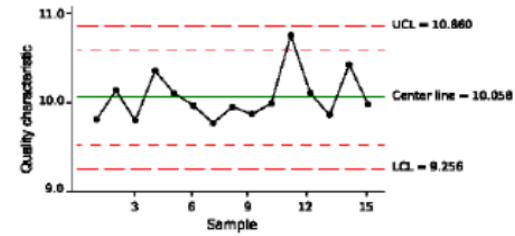


CONTROLO QUALIDADE



AVALIAÇÃO EXTERNA QUALIDADE

PRECISÃO



EXATIDÃO

CONTROLO QUALIDADE INTERNO

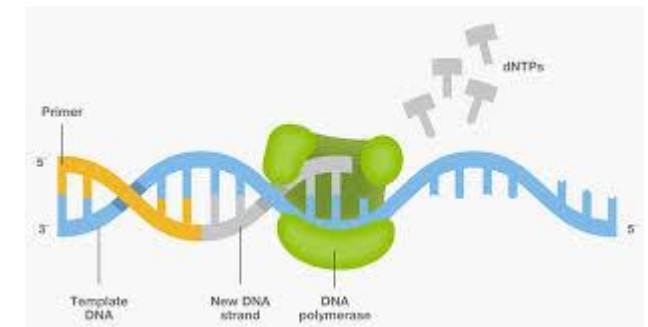
Exame direto

- Controlo diário em cada serie de colorações
1 esfregaço positivo
1 esfregaço negativo



Métodos Moleculares - TAAN

- Controlo em cada serie de testes (PCR e LPA)
1 amostra positiva/conhecida
1 amostra negativa (H₂O Ultrapura)
- Controlo de inibidores (PCR e LPA)



CONTROLO QUALIDADE INTERNO

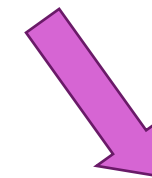
Exame cultural

Indicadores de Desempenho do Laboratório
Permitem detetar erros sistemáticos

Contributo da cultura para o diagnóstico

• Contributo da cultura para o diagnóstico = $\frac{c}{a + b + c + d + e + f} \times 100$

- a - direto positivo e cultura positiva
- b - direto positivo sem cultura
- c - direto negativo e cultura positiva
- d - direto positivo e cultura negativa
- e - direto positivo e cultura contaminada
- f - sem direto e cultura positiva



≈ 20 %

CONTROLO QUALIDADE INTERNO

Exame cultural

Indicadores de Desempenho do Laboratório
Permitem detetar erros sistemáticos

Contributo da cultura para o diagnóstico

- Valor normal: 20%
 - Valor mais elevado → investigar possíveis causas:
 - falsos negativos nos diretos
 - elevada percentagem de casos de TB numa fase muito precoce e de TB pediátrica
 - doentes de grupos muito específicos
 - Valor mais baixo → investigar possíveis causas:
 - demora excessiva entre a colheita e o processamento da amostra
 - descontaminação muito agressiva (concentração da solução; tempo de contacto)
 - velocidade de centrifugação baixa ou aquecimento da centrifuga
 - baixa sensibilidade do meio de cultura
 - incubação a temperatura muito alta ou muito variável
- } NÃO SÃO PROBLEMA

CONTROLO QUALIDADE INTERNO

Exame cultural

Indicadores de Desempenho do Laboratório
Permitem detetar erros sistemáticos

Percentagem de diretos positivos com culturas negativas

- Percentagem de diretos positivos com culturas negativas

$$= \frac{d}{a + b + c + d + e + f} \times 100$$

- a - direto positivo e cultura positiva
- b - direto positivo sem cultura
- c - direto negativo e cultura positiva
- d - direto positivo e cultura negativa
- e - direto positivo e cultura contaminada
- f - sem direto e cultura positiva

2-3%

CONTROLO QUALIDADE INTERNO

Exame cultural

Indicadores de Desempenho do Laboratório
Permitem detetar erros sistemáticos

Percentagem de diretos positivos com culturas negativas

- Valor normal: 2 –3 %
- Valor mais elevado → investigar possíveis causas:
 - falsos positivos nos diretos
 - demora excessiva entre a colheita e o processamento da amostra
 - descontaminação muito agressiva (concentração da solução; tempo de contacto)
 - velocidade de centrifugação baixa ou aquecimento da centrifuga
 - baixa sensibilidade do meio de cultura
 - incubação a temperatura muito alta ou muito variável
- Valor mais baixo → NÃO É PROBLEMA

CONTROLO QUALIDADE INTERNO

Exame cultural

Indicadores de Desempenho do Laboratório
Permitem detetar erros sistemáticos

Percentagem de contaminações

- Percentagem de contaminações = $\frac{\text{tubos contaminados}}{\text{todos tubos semeados}} \times 100$

3-4 % (LJ)
5-10 % (Líquidos)





CONTROLO QUALIDADE INTERNO

Exame cultural

Indicadores de Desempenho do Laboratório
Permitem detetar erros sistemáticos

Percentagem de contaminações

- Valor normal: 3 – 4 % (LJ)
5 -10 % (meios líquidos)
- Valor mais elevado  investigar possíveis causas:
 - amostras não refrigeradas
 - demora excessiva entre a colheita e o processamento da amostra
 - descontaminação pouco eficaz (concentração da solução; tempo de contacto)
- Valor mais baixo  investigar possíveis causas:
 - descontaminação muito agressiva (concentração da solução; tempo de contacto)
 - concentração elevada do verde de malaquite no meio de LJ

AVALIAÇÃO EXTERNA QUALIDADE

- ✓ Avaliar, monitorizar retrospectivamente e comparar de forma independente o desempenho dos participantes nas diferentes valências da sua atividade;
- ✓ Avaliar tendências;
- ✓ Detetar erros sistemáticos;
- ✓ Identificar situações não conformes, sugerir ações de melhoria e confirmar a eliminação de problemas;
- ✓ Validar novas metodologias;
- ✓ Qualificar colaboradores;
- ✓ Avaliar as necessidades de formação;

AVALIAÇÃO EXTERNA QUALIDADE

O PNAEQ tem cerca de 300 participantes nacionais e internacionais, nomeadamente na Europa, África e América do Sul e disponibiliza mais de 300 programas de AEQ em 8 áreas, desde a clínica, à nutrição e ao ambiente.

- Clínica

- Point-of-care testing (POCT)

- Genética

- Fases Extra Analíticas

- Anatomia Patológica

- Microbiologia Ambiental

- Microbiologia de Alimentos

- Microbiologia de Águas

AVALIAÇÃO EXTERNA QUALIDADE

Micobacteriologia PNAEQ

Micobacteriologia – Ensaio de Microscopia: 1997 a 2020
retomar 2027

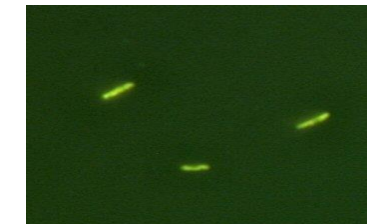
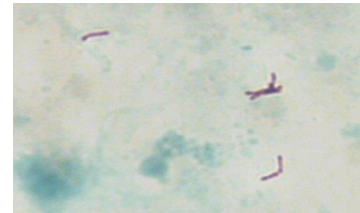
Micobacteriologia - Testes de Sensibilidade aos fármacos de 1ª linha para *M. tuberculosis*: 2009

Micobacteriologia – Detecção molecular de multiresistência para *M. tuberculosis*: 2011

Marcha Diagnóstica

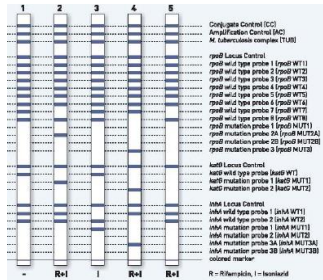
24 a 48 horas

Exame direto

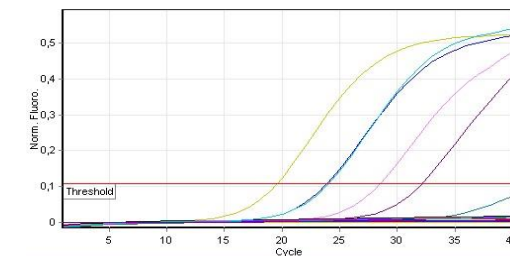
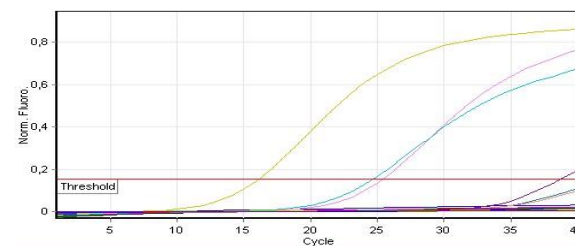


Deteção molecular resistências

- amplificação e hibridização reversa – GenoType MTBDR plus e MTBDR sl (ED +)
- PCR em tempo real - Xpert MTB/RIF + Xpert MTB/XDR (ED -)



PCR (MTC e MNT)



WHO Meeting Report of a Technical Expert Consultation: Non-inferiority analysis of Xpert MTB/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF



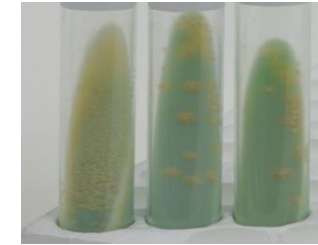
World Health Organization

2017

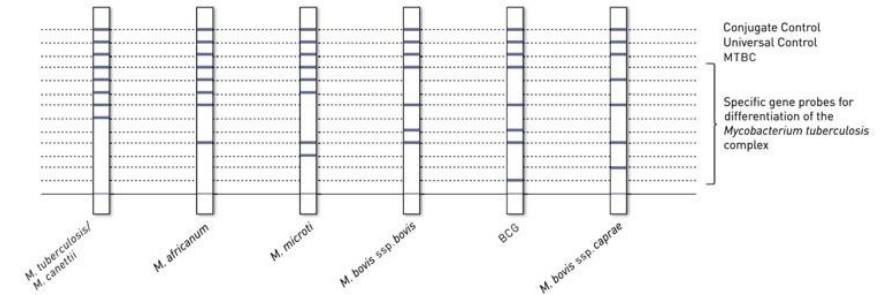
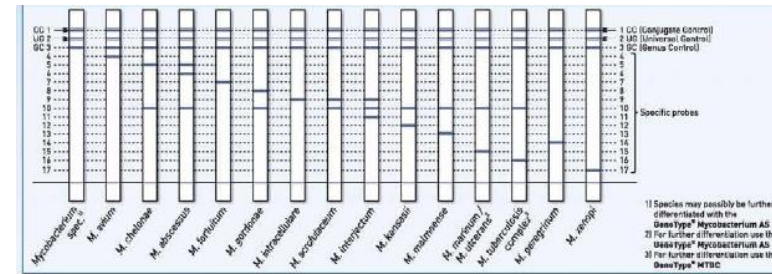
Marcha Diagnóstica

7 a ... dias

Exame cultural – meios sólidos: LJ e LJP
meios líquidos: MGIT

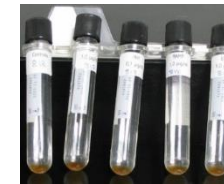


Identificação – método imunocromatográfico
método molecular: GenoType CM + GenoType MTBC



15 a ... dias (após cultura positiva) Testes fenotípicos de sensibilidade aos fármacos de 1ª e 2ª linha – meio líquido (MGIT)

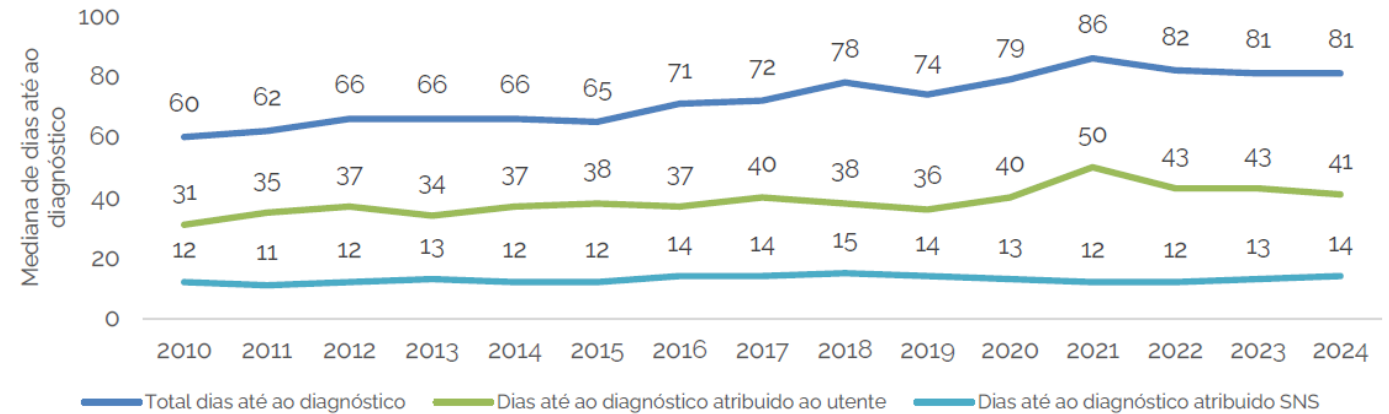
Sequenciação total genoma (TB MDR)



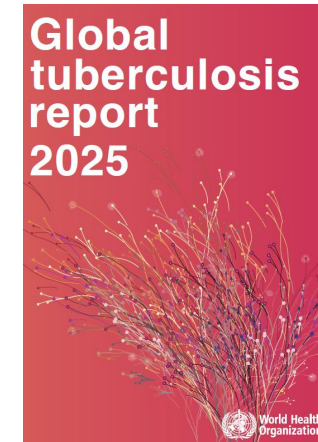


Relatório de vigilância e monitorização da tuberculose em Portugal 2025

Figura 9. Evolução da mediana de dias até ao diagnóstico de tuberculose, 2010-2024



Tuberculosis (TB) is a preventable and usually curable disease. Nonetheless, more than 10 million people continue to fall ill with TB every year and more than 1 million die from the disease, making it the world's leading cause of death from a single infectious agent and among the top 10 causes of death worldwide.



Yes! We can End TB!

MUITO OBRIGADA

anabela.silva@insa.min-saude.pt