

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**Aplicação do XPERT® MTB/RIF Ultra pelo método *pool* como estratégia
para o controle da tuberculose nas prisões**

PAULO CÉSAR PEREIRA DOS SANTOS

Dourados - MS

2021

PAULO CÉSAR PEREIRA DOS SANTOS

**Aplicação do XPERT[®] MTB/RIF Ultra pelo método *pool* como estratégia
para o controle da tuberculose nas prisões**

Exame de Defesa apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde

Área de concentração: Doenças Crônicas e Infecto-Parasitárias

Orientador: Prof. Dr. Júlio Henrique Rosa Croda

Dourados - MS

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S237a Santos, Paulo Cesar Pereira Dos

Aplicação do XPERT® MTB/RIF Ultra pelo método pool como estratégia para o controle da tuberculose nas prisões. [recurso eletrônico] / Paulo Cesar Pereira Dos Santos. -- 2021.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Julio Henrique Rosa Croda.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2021.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Tuberculose. 2. Triagem Sistemática. 3. Xpert MTB/RIF. 4. Pool. I. Croda, Julio Henrique Rosa. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



UFGD

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
DA SAÚDE

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA POR, PAULO CÉSAR PEREIRA DOS SANTOS DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO “DOENÇAS CRÔNICAS E INFECTO-PARASITÁRIAS”.

Aos vinte e oito dias do mês de junho de dois mil e vinte e um, às 15 horas e 30 minutos, em sessão pública, realizou-se por videoconferência a defesa de dissertação de Mestrado intitulada “Aplicação do Xpert® MRB/RIF Ultra pelo método *pool* como estratégia para o controle da tuberculose nas prisões” apresentada pelo aluno **Paulo César Pereira dos Santos**, do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, à Banca Examinadora constituída pelos membros: Prof. Dr. Júlio Henrique Rosa Croda - PPGCS/UFGD (presidente), Dr.^a Anamaria Mello Miranda Paniago/UFMS e Dr.^a Simone Simionatto - PPGCS/UFGD. Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer ao candidato e aos integrantes da Banca as normas a serem observadas na apresentação da dissertação. Após o candidato ter apresentado a sua explanação, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a Defesa, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido o candidato considerado **APROVADO**, fazendo *jus* ao título de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**. **O presidente da banca abaixo-assinado atesta que as doutoras Anamaria Mello Miranda Paniago e Simone Simionatto participaram de forma remota desta defesa de dissertação, conforme o § 3º do Art. 1º da Portaria RTR/UFGD n. 200, de 16/03/2020 e a Instrução Normativa PROPP/UFGD Nº 1, de 17/03/2020, considerando o candidato APROVADO, conforme declarações anexas.** Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelo presidente da Comissão Examinadora.

Dourados, 28 de junho de 2021.

Dr. Júlio Henrique Rosa Croda - PPGCS/UFGD-UFMS _____

Dr.^a Anamaria Mello Miranda Paniago/UFMS (participação remota)

Dr.^a Simone Simionatto - PPGCS/UFGD (participação remota)

ATA HOMOLOGADA EM: ____/____/____, PELA PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA / UFGD.

Pró-Reitoria de Ensino de Pós-Graduação e Pesquisa
Assinatura e Carimbo

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

BAAR	Bacilo Álcool-Ácido Resistente
BCG	Bacilo Calmette-Guérin
EB	Esquema básico
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana (da sigla em inglês HIV - <i>human immunodeficiency virus</i>)
ILTB	Infecção Latente da Tuberculose
mL	Mililitro
MTB	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase (do inglês – <i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PNI	Programa Nacional de Imunizações
PPL	População Privada de Liberdade
PVHIV	Pessoas Vivendo com HIV
RFLP-IS6110	Polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição (da sigla em inglês - <i>Restriction Fragment Length Polymorfism</i>)
RIF	Rifampicina
SARS-CoV-2	Coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (do inglês - <i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2</i>)
SR	Sintomas Respiratórios
TB	Tuberculose
TRM	Teste Rápido Molecular
TRM-TB	Teste Rápido Molecular para Tuberculose
UFC	Unidade formadora de colônia

APLICAÇÃO DO XPERT® MTB/RIF ULTRA PELO MÉTODO *POOL* COMO ESTRATÉGIA PARA O CONTROLE DA TUBERCULOSE NAS PRISÕES

RESUMO

Introdução: A tuberculose (TB) é uma doença causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) e sua distribuição na população está vinculada a fatores socioeconômicos, apresentando elevada incidência em subpopulações vulneráveis, como a privada de liberdade (PPL). A utilização do Xpert MTB/RIF® Ultra em triagens sistemáticas para identificação de casos de TB ativa nessa população não é amplamente implementada devido a restrições orçamentárias, principalmente em países de baixa e média renda, necessitando de novas abordagens para a diminuição dos custos de sua aplicação.

Objetivo: Identificar novas estratégias para triagens sistemáticas de TB em prisões utilizando o cartucho Xpert MTB/RIF® Ultra através do método *pool*.

Métodos: Neste estudo, 1.280 amostras de escarro de indivíduos de três presídios em Mato Grosso do Sul, Brasil, foram testadas utilizando o Xpert MTB/RIF 4ª Geração. Posteriormente, essas amostras foram selecionadas para produção de *pools* de 4, 8, 12 e 16 amostras, com cada *pool* contendo uma única amostra de escarro positiva de carga de MTB semiquantitativa diferente (muito baixa, baixa, média e alta), juntamente com amostras negativas até alcançar o número requerido para se ter 4, 8, 12 e 16 escarros. Além disso, foram realizados *pools* contendo 16 amostras negativas como controle. Esses *pools* foram testados no cartucho Xpert® MTB/RIF Ultra, e a partir desses resultados, verificou-se qual *pool* apresentou maior sensibilidade, bem como, melhor custo-benefício para ser aplicado em uma população hipotética de 1.000 indivíduos com prevalências de 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4% e 5%.

Resultados: A sensibilidade geral dos *pools* contendo amostras positivas foi de 94% (n = 94/100, CI 95%: 88-98%), e com base nesses resultados, foi calculado o número de testes necessário para identificar cada caso de TB em cada estratégia. Com uma menor prevalência (0,5%), *pools* com mais espécimes (16) resultaram na diminuição significativa na quantidade de testes por caso de TB. O oposto ocorreu em uma prevalência mais elevada (5%), onde *pool* com menos amostras mostrou-se mais eficaz. A partir desses dados, foi calculada a custo-efetividade que a aplicação dessas estratégias apresentaria nessa população. Os *pools* com maiores quantidades de amostras diminuíram os custos em até 87% em prevalências mais baixas, enquanto os *pools* com menores quantidades de amostras se adaptaram melhor em prevalências mais altas (57%).

Conclusão: Esses dados sugerem que o tamanho do *pool* escolhido está fortemente relacionado com a prevalência. Quanto maior a prevalência, *pool* com menos amostras foi mais eficaz, diferentemente de uma prevalência menor, onde *pool* com mais amostras mostrou-se mais eficiente, elevando o seu custo-efetividade para ser aplicada em triagens sistemáticas nas prisões.

Palavras-chave: Tuberculose; Triagem Sistemática; Xpert MTB/RIF; Pool.

APPLICATION OF THE XPERT® MTB/RIF ULTRA BY THE POOLING METHOD AS A STRATEGY FOR TUBERCULOSIS CONTROL IN PRISONS

ABSTRACT

Introduction: Tuberculosis (TB) is a disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), and its distribution in the population is linked to socioeconomic factors, with a high incidence in vulnerable subpopulations, such as those deprived of liberty (PDL). The use of Xpert MTB/RIF® Ultra in systematic screening to identify cases of active TB in this population is not widely implemented due to budget constraints, especially in low- and middle-income countries, requiring new approaches to reduce the costs of its application.

Aim: To identify new strategies for systematic screening of TB in prisons using the Xpert MTB/RIF® Ultra cartridge using the pooling method.

Methods: In this study, 1,280 sputum samples from individuals from three prisons in Mato Grosso do Sul, Brazil, were tested using the Xpert MTB/RIF 4th Generation. Subsequently, these samples were selected to produce pools of 4, 8, 12 and 16 samples, with each pool containing a single different semiquantitative MTB load positive sputum sample (very low, low, medium and high) together with samples negative until reaching the required number to have 4, 8, 12 and 16 sputa. In addition, pools containing 16 negative samples were used as a control. These pools were tested in the Xpert® MTB/RIF Ultra cartridge, and from these results, it was verified which pool had the highest sensitivity as well as the best cost-benefit ratio to be applied in a hypothetical population of 1,000 individuals with prevalence rates of 0, 5%, 1%, 2%, 3%, 4% and 5%.

Results: The overall sensitivity of pools containing positive samples was 94% ($n = 94/100$, 95% CI: 88-98%), and based on these results, the number of tests needed to identify each TB case was calculated. in each strategy. With a lower prevalence rate (0.5%), pools with more specimens (16) resulted in a significant decrease in the number of tests per TB case. The opposite occurred at a higher prevalence rate (5%), where a pool with fewer samples was more effective. From these data, the cost-effectiveness that the application of these strategies would present in this population was calculated. Pools with larger amounts of samples reduced costs by up to 87% at lower prevalences, while pools with smaller amounts of samples fit better at higher prevalences (57%).

Conclusion: These data suggest that the size of the pool chosen is strongly related to prevalence. The higher the prevalence, the pool with fewer samples was more effective, unlike

a lower prevalence, where the pool with more samples was more efficient, increasing its cost-effectiveness to be applied in systematic screening in prisons.

Keywords: Tuberculosis; Systematic screening; Xpert MTB/RIF; Pool.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1 Tuberculose	10
2.2 Diagnóstico, tratamento e prevenção.....	11
2.3 Epidemiologia.....	14
2.4 População Privada de Liberdade e Tuberculose.....	15
2.5 Triagens sistemáticas na população privada de liberdade	16
2.6 O teste rápido molecular Xpert® MTB/RIF.....	18
2.7 O método <i>pool</i>	19
3 OBJETIVOS.....	21
3.1 GERAL.....	21
3.2 ESPECÍFICOS	21
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
5. APÊNDICES	32
Artigo 1: Pooling Sputum Samples for Efficient Mass Tuberculosis Screening in Prisons.....	33
6 CONCLUSÕES.....	54
7 ANEXOS.....	55
7.1 Parecer de aprovação do comitê de ética.....	56

1 INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença com grande importância para a saúde global que se concentra, sobretudo, nos países de baixa e média renda. Apesar dos esforços para diminuir os coeficientes de incidência e mortalidade, as metas propostas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) estão longe de serem alcançadas, principalmente em populações de alto risco (WHO, 2020).

Dentre as recomendações previstas pela OMS para o controle da TB nessas populações, está a identificação de casos da doença, através da realização de triagens sistemáticas. Sua finalidade é detectar TB ativa precocemente, para que se inicie o tratamento o mais rápido possível, reduzindo assim, o risco de desfechos indesejáveis, sequelas e as consequências sociais e econômicas relacionadas à TB, além de reduzir a transmissão da doença (WHO, 2013; GUPTA et al., 2018).

Algumas populações apresentam alto risco para TB, como é o caso da população privada de liberdade (PPL) (BAUSSANO et al., 2010; BRASIL, 2015; BOURDILLON et al., 2017, WALTER, et al., 2021). Fatores como confinamento, superlotação e pouca ventilação nas celas favorecem a transmissão e manutenção da TB nesses locais (FERRAZ; VALENTE, 2014).

Com o aprimoramento e desenvolvimento de novas ferramentas para o diagnóstico laboratorial de TB, como o cartucho Xpert[®] MTB/RIF Ultra, as triagens sistemáticas em massa podem se tornar atrativas e eficazes (AREND; VAN SOOLINGEN, 2018; DORMAN et al., 2018). No entanto, a triagem sistemática em populações de alto risco, como indivíduos encarcerados, tem sido dificultada por restrições de custo, que muitas vezes é alto, necessitando de novas abordagens para a sua implementação (WHO, 2013; CAMPBELL; SASITHARAN; MARRA, 2015; SMIT et al., 2017).

Uma abordagem que pode reduzir os custos da implementação de triagens sistemáticas é a realização de exames em *pool*, que consiste em agrupar amostras de vários pacientes e testá-las utilizando um único exame. Se o teste de um *pool* for positivo, cada amostra é testada individualmente para detectar a(s) amostra(s) positiva(s), enquanto se o teste do *pool* for negativo, todos os indivíduos são considerados negativos, ou seja, livres de infecção, podendo seguir para o próximo grupo de forma que torna a triagem mais rápida e eficaz. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi identificar novas estratégias para triagens sistemáticas em prisões utilizando o cartucho Xpert[®] MTB/RIF Ultra através do método *pool* quanto a sua sensibilidade e custo efetividade.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Tuberculose

A TB é uma doença infectocontagiosa que tem acometido os seres humanos por milhares de anos. Sua causa se manteve desconhecida até a descoberta do agente etiológico pelo médico Robert Koch em 1882, que posteriormente foi nomeado *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), também conhecido como Bacilo de Koch (SAKULA, 1982; WHO, 2020). Os bacilos medem cerca de 2-4 por 0,3-0,5 μm , podendo ocasionalmente apresentar-se de forma mais curtas ou mais longas. Trata-se de um bacilo álcool-ácido resistente (BAAR), aeróbio, com parede celular rica em lipídios, o que confere uma baixa permeabilidade que reduz a efetividade da maioria dos antibióticos (KONEMAN et al., 2010; LEÃO et al., 2004).

A infecção por MTB ocorre através das vias respiratórias por meio da inalação de aerossóis (pequenas gotículas) contendo bacilos exalados por um indivíduo infectado pela doença mediante tosse, espirro ou fala. Prioritariamente, o órgão acometido pela TB é o pulmão (TB pulmonar), que compreende 84% dos casos da doença, porém, ela pode acometer outras partes do organismo (TB extrapulmonar). Aqueles que apresentam a infecção na forma pulmonar cavitária ou laríngea são os que mais transmitem a doença, podendo infectar de 10 a 15 pessoas no período de 1 ano (BRASIL, 2019; WHO, 2020).

Fatores específicos do hospedeiro e do patógeno interagem com o meio ambiente de maneira complexa e determinam o resultado da infecção pelo MTB. Modelos experimentais de infecção por MTB demonstraram que após o primeiro contato, o bacilo começa sua replicação após um intervalo de três dias, que perdura por 19-20 dias, sendo então controlado pela resposta imune adaptativa. O estabelecimento da imunidade protetora contra o bacilo pode variar consideravelmente dentro de cada hospedeiro e pode ser influenciado fortemente pela genética (SMITH; WIEGESHAUS, 1989; SALGAME et al., 2015).

A infecção pode apresentar cinco estados categóricos: a cura; infecção latente (ILTb), quando não se espera que ocorra progressão para TB em um futuro próximo, com ausência de qualquer comprometimento imunológico significativo; TB incipiente, onde a infecção pode evoluir para uma doença ativa sem outras intervenções, mas ainda não induziu sintomas clínicos, anormalidades de imagem ou evidências microbiológicas consistentes com TB ativa; TB subclínica, ocorrendo quando não há sintomas clínicos relacionados à TB, mas pode causar outras anormalidades, que podem ser constatadas por meio de exames radiológicos ou microbiológicos existentes; e TB ativa, que causa sintomas clínicos, que apresentam imagens anormais ou evidências microbiológicas consistentes para infecção por MTB (DRAIN et al.,

2018). Entretanto, apenas 5-10% dos indivíduos infectados irão desenvolver a doença ao longo de suas vidas. Fatores de risco como coinfeção com Vírus da Imunodeficiência Humana, da sigla em inglês HIV - *Human Immunodeficiency Virus* (HIV), subnutrição, diabetes, tabagismo e consumo de álcool fatores que podem elevar a probabilidade de o indivíduo desenvolver a doença para a sua forma ativa (WHO, 2020).

Os sintomas da TB tendem a ser amenos e progressivos, podendo apresentar períodos de remissão e relativo quadro de melhora, o que vem a contribuir com a demora em procurar assistência médica para o seu diagnóstico. Os sintomas caracterizam-se pela presença de tosse inicialmente seca que evolui com expectoração mucoide ou purulenta, acompanhada ou não de hemoptise, febre geralmente baixa e vespertina, sudorese noturna, perda de apetite, falta de ar, dor torácica e perda de peso (WHO, 2013; PAI et al., 2016; BRASIL, 2019).

2.2 Diagnóstico, tratamento e prevenção

Um meio de quebrar a cadeia de transmissão da TB é através do diagnóstico precoce. O diagnóstico para TB pode ser feito através da clínica, microscopia (esfregaço de escarro), métodos baseados em cultura, técnicas de imagem (radiografia torácica) e testes rápidos moleculares (TRM) (WHO, 2013; PAI et al., 2016; BRASIL, 2019; WHO, 2020). Como a bactéria pode infectar diferentes órgãos, os sintomas e sinais podem ser diferentes, dependendo da localização anatômica atingida, o que necessitará de uma investigação diagnóstica individualizada (BRASIL, 2019).

O diagnóstico laboratorial para TB acontece, principalmente, por meio da baciloscopia ou cultura de amostra clínica. A baciloscopia ou exame microscópico para BAAR é realizada através de um esfregaço de amostra clínica, preparado e corado com metodologia padronizada de Ziehl-Nielsen (KOCH; COTE, 1965), que é um método de importância fundamental utilizado para o diagnóstico, assim como, para o controle de tratamento. Este identificará a presença da bactéria e o resultado é dado de acordo com a quantidade de bacilos encontrados nos campos visualizados em microscópio óptico. A baciloscopia, executada de forma correta, pode identificar cerca de 60% a 80% dos casos de TB pulmonar (BRASIL, 2008, 2019).

A cultura é um método de elevada especificidade e sensibilidade no diagnóstico da TB, que pode elevar em até 30% o diagnóstico dos pacientes com baciloscopia negativa. Este método consiste na semeadura de amostra clínica em meios sólidos à base de ovos. Os métodos em meios sólidos (Löwenstein-Jensen e Ogawa-Kudoh) apresentam um menor custo e com menos chance de contaminação, porém, a detecção do crescimento bacteriano é longa, podendo variar entre 14 e 30 dias, com a possibilidade de perdurar por até 8 semanas (BRASIL, 2019).

A radiografia torácica é um método diagnóstico com grande importância, sendo uma ferramenta útil no diagnóstico para um indivíduo com suspeita clínica de TB pulmonar. As lesões (cavidades, nódulos, consolidações, massas, processo intersticial - miliar, derrame pleural e alargamento de mediastino) identificadas através das imagens podem apontar para suspeita de doença em atividade ou doença no passado, além do tipo e extensão do comprometimento pulmonar. Entretanto, por conta de sua baixa especificidade, torna-se necessária a sua associação com exames laboratoriais (baciloscopia, cultura e/ou teste rápido molecular) a fim de obter a confirmação da infecção por MTB (BOMBARDA et al., 2001; PAI et al., 2016; BRASIL, 2019).

Os testes rápidos moleculares para TB (TRM-TB) apresentam alta especificidade e sensibilidade, principalmente em indivíduos com baciloscopia e/ou cultura negativa. Eles se baseiam na reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real que identificará a presença de material genético dos bacilos do complexo MTB. Além disso, o teste detecta cepas resistentes à rifampicina (RIF), um dos medicamentos utilizados no tratamento, através da busca por mutações do gene *rpoB* em uma amostra clínica (WHO, 2011a).

A TB é uma doença com uma alta taxa de cura dentre os pacientes desde que o tratamento seja seguido de forma adequada. Entretanto, sem a procura por tratamento, a taxa de mortalidade é alta. O esquema básico (EB) de tratamento para novos casos e retratamento (recidiva após cura e reingresso após abandono) para adultos e adolescentes com idades superiores à 10 anos tem a duração de seis meses e é dividido em duas fases: a intensiva, também chamada de “ataque”, e manutenção. A fase intensiva do tratamento tem a duração de dois meses e é composta pela administração de quatro drogas (rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol), enquanto a fase de manutenção é composta apenas com duas drogas (rifampicina e isoniazida) por quatro meses, sendo a dosagem de cada droga determinada de acordo com o peso do paciente (WHO, 2010; BRASIL, 2019).

Apesar dos esforços para a diminuição dos coeficientes de incidência e mortalidade da TB, a doença ainda permanece com grande importância para a saúde global. A meta global de TB para o período 2016-2035 foi definida como parte da declaração política dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da OMS (UN, 2015; WHO, 2020). Dentre as medidas propostas, incluem a erradicação da TB até 2030 (ODS-3), redução no número absoluto de mortes por TB em 35% até 2020 e 95% até 2035 e redução na taxa de incidência em 20% até 2020 e 90% até 2035 (Estratégia pelo fim da TB). Entretanto, apesar dos esforços, essas metas estão longe de serem alcançadas mundialmente (UN, 2015; UPLEKAR et al., 2015; WHO, 2020).

Globalmente, a incidência de TB tem diminuído, mas não rápido o suficiente para atingir o primeiro marco da Estratégia pelo fim da TB, que seria uma redução de 20% entre 2015 e 2020. A redução acumulada de 2015 a 2019 foi de 9%. Algumas regiões têm obtido progresso, como é o caso Europa e África que alcançaram uma redução de 19% e 16%, respectivamente. Ao contrário da região das Américas, onde a incidência está aumentando lentamente, devido a uma tendência de aumento no Brasil (WHO, 2020).

O mesmo tem acontecido com o número de mortes, que mostra uma diminuição progressiva, porém, não acontecendo de forma imediata a ponto de alcançar o primeiro marco de 35% até o ano de 2020, atingindo uma redução de apenas 14%. As regiões Europa e África foram as que mais obtiveram quedas nesses números, com redução acumulada de 31% e 19%, respectivamente (WHO, 2020).

O Brasil vem desenvolvendo ações que visam reduzir a incidência e mortalidade da TB. Dentre essas ações, com o objetivo de fortalecer as ações preventivas e reduzir a TB, o foco está em manter um alto índice de cobertura vacinal da vacina BCG (Bacilo Calmette-Guérin), o diagnóstico precoce e tratamento oportuno, além da ampliação do monitoramento e as recomendações para investigação e tratamento da ILTB (BRASIL, 2019).

A única vacina licenciada para a TB é a vacina de BCG. Essa vacina previne formas mais severas da doença (miliar e meníngea) em crianças e é amplamente utilizada no mundo todo. A meta de vacinação com BCG preconizada pelo Programa Nacional de Imunizações (PNI) é vacinar 90% das crianças menores de um ano. Nos últimos anos, os resultados da cobertura vacinal do Brasil ultrapassaram a meta recomendada (BRASIL, 2019; WHO, 2020). Ainda não há uma vacina licenciada para a prevenção da TB em adultos, seja antes ou depois da exposição à infecção por TB, porém, os resultados de um ensaio de Fase II para a vacina M72/AS01_E mostraram uma eficácia de 50% após cerca de 3 anos de acompanhamento (TAIT et al., 2019; WHO, 2020).

O diagnóstico e tratamento corretos e oportunos da TB são as medidas básicas para o controle da doença. O doente deve ser identificado o mais cedo possível e o tratamento apropriado deve ser fornecido de forma que venham interromper a cadeia de transmissão da TB. Um método de fazer isso é através da busca ativa por indivíduos com sintomas respiratórios (SR) (WHO, 2013; BRASIL, 2019).

A OMS define a busca ativa como sinônimo para triagem sistemática para TB, através do uso de métodos de teste simples e de aplicação rápida ou outros procedimentos para a busca rotineira de pessoas com suspeita de TB em uma população-alvo predeterminada. A triagem

inicial pode se basear na busca de sintomas ou em exames radiológicos, dependendo da população investigada (WHO, 2013).

No Brasil, é utilizado o rastreamento de tosse, e a busca ativa por SR é definida como uma atividade de saúde pública que visa identificar pessoas com tosse persistente, considerando que possam ter TB pulmonar ou faríngea (BRASIL, 2019). A busca ativa por pacientes com SR, feita de forma constante por todos os serviços de saúde, através de exames clínicos e laboratoriais, auxiliam na identificação de casos novos de TB (BRASIL, 2019; WHO, 2013).

Estudos mostraram que a busca ativa por pacientes com sintomas tem elevado a chance de se identificar casos novos, especialmente, em populações de alto risco e com a presença de tosse persistente (SANTHA et al., 2005; AZMAN; GOLUB; DOWDY, 2014; PELISSARI et al., 2018; PRATHIKSHA; DANIEL; NATRAJAN, 2019). Além disso, a busca por pessoas que tiveram contato com casos confirmados de TB, especialmente contato familiar, tem potencialmente resultado em diagnóstico precoce e tratamento de novos casos de TB ativa, minimizando a severidade e a transmissão (NAIR et al., 2016; CHAWLA et al., 2020).

O tratamento das pessoas com ILTB pode ser outra maneira de controlar a disseminação da infecção. Com esse tratamento, especialmente, em populações de alto risco, como contatos com casos confirmados, pessoas vivendo com HIV (PVHIV) e outros casos com comprometimento do sistema imunológico, pode-se evitar a progressão da doença para a sua forma ativa. Dessa forma, diminui a contaminação de novas pessoas, diminuindo a taxa de incidência para atingir as metas da estratégia *END TB* (BRASIL, 2017; 2019).

2.3 Epidemiologia

A TB se mantém um grande problema para a saúde global. Segundo a OMS, essa enfermidade está entre as 10 doenças que mais causam mortes mundialmente, superando a infecção por HIV/AIDS. Em 2019, cerca de 10 milhões de pessoas desenvolveram TB, sendo o Sudeste Asiático (44%), África (25%) e Pacífico Ocidental (18%) com as maiores cargas de infecção por TB. Trinta países que apresentam alta carga de TB, representam 87% do número total de casos, sendo que apenas oito desses países acumulavam dois terços desse número de casos (Índia, Indonésia, China, Filipinas, Paquistão, Nigéria, Bangladesh e África do Sul). Quanto a mortalidade, houve cerca 1,4 milhões de casos que resultaram em óbitos decorrentes da doença, sendo 1,2 milhões de pessoas HIV negativas e 208 mil mortes de pessoas PVHIV (WHO, 2020).

A TB afeta pessoas de ambos os sexos e todas as faixas etárias, porém, a maior carga ocorreu em homens adultos, que representaram 56% de todos os casos de TB em 2019,

enquanto as mulheres adultas representaram 32% e as crianças com idades iguais ou inferiores à 15 anos 12%. Entre todos os casos de TB, 8,2% ocorreram em pessoas PVHIV (WHO, 2020).

Em 2020, o Brasil registou 66.819 casos novos de TB, correspondendo a um coeficiente de incidência de 31,6 casos por 100 mil habitantes. Ocorreu uma constante tendência de diminuição no coeficiente de incidência entre os anos de 2010 e 2016, porém, este voltou a aumentar nos anos de 2017 e 2019, havendo uma queda no ano seguinte. Um total de 4.532 casos resultaram em morte decorrente da doença no ano de 2019, conferindo um coeficiente de mortalidade de 2,2 óbitos por 100 mil habitantes. Esses números de casos e coeficiente de mortalidade têm se mantido nessas faixas desde 2010, com poucas variações entre os anos (BRASIL, 2021).

Em Mato Grosso do Sul, 900 casos de TB foram registrados em 2019, que resultaram em 50 mortes por agravos da doença, representando um coeficiente de incidência de 32,0 por 100.000 habitantes. Em 2019, o estado apresentou 50 óbitos por TB, o que conferiu um coeficiente de mortalidade de 1,8 por 100 mil habitantes, representando o segundo maior coeficiente da região Centro-Oeste (BRASIL, 2021).

2.4 População Privada de Liberdade e Tuberculose

No último levantamento da PPL mundial realizado em 2017, estimou-se que há mais de 10,35 milhões de pessoas mantidas em estabelecimentos penais em todo o mundo. Desde 2000, a população carcerária mundial cresceu em 24%, tendo a região da América do Sul um aumento de 175% (WALMSLEY, 2018). O Brasil é o terceiro país no mundo com maior número de pessoas presas (762.712), tendo menos presos que os Estados Unidos (2.145.100) e a China (1.649.804) (DEPEN, 2017).

Em uma meta-análise realizada em 2021, dados mostraram que a incidência da TB nas prisões foi sempre superior à população em geral, com taxas de incidência variando de 4,1 casos na América do Norte e 27,6 casos na América do Sul, e uma taxa média de mais de 10 casos em todo o mundo (CORDS et al., 2021). Os estabelecimentos penitenciários são ambientes com alto risco para a transmissão da TB devido a vários fatores, como: superlotação, má nutrição, ventilação fraca e acesso limitado a cuidados de saúde, muitas vezes insuficientes. Fatores estruturais, aliados à má-alimentação, ao sedentarismo, ao uso de drogas e à falta de higiene, refletem nas condições de saúde dos privados de liberdade, contribuindo para a manutenção da TB nesses locais (CARBONE et al., 2015; VALENÇA et al., 2015; URREGO et al., 2015).

A TB nas prisões causa impacto para a sociedade como um todo. Por meio das visitas, dos funcionários do sistema prisional, do cumprimento da pena em regime semiaberto, das

fugas ou do retorno à liberdade, se estabelece uma conexão que pode levar a doença para fora dos muros das prisões. O caminho contrário também pode acontecer, onde uma infecção contraída na comunidade pode iniciar uma epidemia dentro do presídio (FERREIRA JÚNIOR; OLIVEIRA; MARIN-LÉON, 2013; SACCHI et al., 2015).

Tal evento foi evidenciado em uma análise molecular por meio do método polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição (RFLP-IS6110) de cepas da população urbana e privada de liberdade na cidade de Dourados – Mato Grosso do Sul, onde o encarceramento prévio foi fortemente associado com TB na população urbana. Das cepas analisadas, 54% (32/59) das cepas da comunidade pertenciam a agrupamentos que também incluíam cepas de prisão. Entre essas 32 cepas que estavam circulando na prisão e na comunidade, 12 (37%) foram isoladas de ex-presidiários que tinham sido recentemente libertados da prisão. Dez (83%) de 12 casos ocorreram em até 2 anos após a libertação do interno da prisão (SACCHI et al., 2015).

De 2011 a 2017, os números de casos na PPL na América do Sul e América Central aumentaram em 269%. Onze por cento do número total de casos notificados estavam presentes na PPL, sendo que representam apenas 1% da população total dessas regiões. O Brasil foi responsável por 4.314 (45%) no aumento de casos de TB na PPL e para 402 (43%) na diminuição de casos na população geral na América do Sul nesse mesmo período (WALTER et al., 2021).

No Brasil, a proporção de novos casos de TB diagnosticados em PPL aumentou nos anteriores, observando-se uma redução no ano de 2020. No entanto, não está claro como a pandemia causada pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2) pode ter afetado a gravidade da doença, ou se as alterações nesses indicadores se deram através dos aspectos operacionais, como a sobrecarga do sistema de saúde, impactando na qualidade dos dados reportados. Em 2020, foram registrados 8.978 (13,4%) casos novos de TB na PPL (BRASIL, 2021). A proporção de novos casos na PPL é a mais alta entre as populações mais suscetíveis à TB no país, excedendo o número dos casos de coinfeção TB-HIV (BRASIL, 2020).

2.5 Triagens sistemáticas na população privada de liberdade

Dentre as recomendações proposta pela OMS, inclui a implementação de triagens sistemáticas em grupos-alvo predeterminados, a fim de identificar indivíduos com alta probabilidade de ter TB ativa. Essas visam identificar casos novos de TB precocemente, de forma que consiga diminuir a dinâmica de transmissão que ocorre nessas populações. As triagens sistemáticas podem ser realizadas através de teste, exame ou outros procedimentos que

podem ser rapidamente aplicados, como baciloscopia, cultura, radiografia torácica ou TRM (WHO, 2013).

Até o ano anterior, não havia um consenso sobre a triagem sistemática ser implementada em estabelecimentos penitenciários ou em outros grupos de alto risco por apresentar uma “evidência de qualidade muito baixa” sobre a sua eficácia nessas populações (WHO, 2013). Entretanto, a OMS lançou, recentemente, novas diretrizes consolidadas sobre o rastreamento da TB, recomendando fortemente o rastreamento sistemático, afirmando que a triagem sistemática tem o potencial de melhorar a igualdade na cobertura de saúde, especialmente em ambientes onde o acesso à saúde é insuficiente (WHO, 2021).

Em países de alta renda, a triagem sistemática de internos é uma medida usada com grande frequência. Em um estudo com 22 países europeus, levantou-se as estratégias de triagens que eram utilizadas nas prisões, bem como a frequência que eram adotadas. Na maioria dos países, o interno obrigatoriamente passava por uma triagem no momento da admissão, assim como, durante o período de encarceramento, sendo a radiografia torácica o teste de diagnóstico mais utilizado no momento da triagem, seguida da análise bacteriológica de escarro daqueles suspeitos para TB (AERTS et al., 2006).

Em contrapartida, nos países com média e baixa renda, a triagem sistemática não é uma medida comumente utilizada na rotina das prisões, principalmente por conta de recursos limitados destinados a essas populações. Nesses países, a medida mais utilizada e eficaz permanece com o rastreio por sintomas, principalmente a tosse, seguido da radiografia torácica, mas em contraponto eleva os custos (SANTHA et al., 2005; FOURNET et al., 2006; SANCHEZ et al., 2009; MELCHERS et al., 2013; PELISSARI et al., 2018; KIM et al., 2020).

No Brasil, o controle da TB nos estabelecimentos penitenciários segue as recomendações gerais nacionais. As triagens sistemáticas são recomendadas para serem realizadas no momento da admissão e repetidas regularmente, pelo menos uma vez ao ano, e idealmente duas vezes ao ano, priorizando as unidades prisionais com maior incidência de TB, sendo também uma oportunidade para fornecer e implementar testes de HIV (BRASIL, 2019; WHO, 2013).

A triagem sistemática tem mostrado ser eficaz na identificação de novos casos na PPL. Estudos mostraram que a sua sensibilidade ultrapassa a busca passiva (iniciativa de um indivíduo pela procura de cuidados à sua saúde) por casos de TB nas prisões (SANCHEZ et al., 2013; MABUD et al., 2019; SHRESTHA et al., 2019; SANTOS et al., 2021). A priorização apropriada da população-alvo e a seleção cuidadosa de estratégias de diagnóstico com boa

relação custo-benefício são pré-requisitos necessários para a implementação de triagens sistemáticas (MELCHERS et al., 2013; NISHIKIORI; VAN WEEZENBEEK, 2013).

2.6 O teste rápido molecular Xpert® MTB/RIF

Atualmente, o TRM-TB mais utilizado é o Xpert® MTB/RIF (Cepheid Inc., Sunnyvale, CA, EUA), também conhecido como Xpert. Este teste utiliza do sistema GeneXpert®, que simplifica os testes moleculares ao integrar e automatizar todos os processos (preparação de amostras, amplificação e detecção) que são executados em testes de PCR em tempo real convencionais. Para o teste, utiliza-se cartuchos descartáveis contendo reagentes liofilizados, tampões e soluções de lavagem, fornecendo resultados em menos de duas horas. Ao final do teste, este irá indicar se há ou não a presença de material genético de MTB, mostrando a carga bacilar presente na amostra, sendo classificada como muito baixa, baixa, média ou alta. Além disso, o teste também irá detectar a presença de mutações do gene *rpoB* que confere resistência à rifampicina (WHO, 2011a, 2011b).

Com a sua alta sensibilidade e especificidade, o Xpert fornece resultados precisos, permitindo o início rápido do tratamento, se mostrando uma ferramenta útil para o diagnóstico de TB pulmonar em triagens sistemáticas, nas populações de alto risco, com altas cargas de doenças e elevadas taxas de TB resistente a medicamentos, associada ao HIV e a PPL (THERON et al., 2011; STEINGART et al., 2014, 2014; HORO et al., 2017; NGWIRA et al., 2019; MARINE et al., 2020; SANTOS et al., 2021).

Quatro métodos de triagem e procedimentos de diagnósticos para casos de TB pulmonar, sendo um deles a utilização do Xpert, foram avaliados quanto ao seu rendimento, a eficiência e os custos em três prisões do estado de Mato Grosso do Sul. O estudo mostrou que testar todos os participantes com Xpert foi uma abordagem com alta sensibilidade, mantendo uma boa relação custo-benefício quando comparado a outros métodos. Esses resultados apoiaram o uso do Xpert para triagem em massa em prisões endêmicas de TB (SANTOS et al., 2021).

Em 2018, a Cepheid lançou seu teste Xpert de próxima geração, o ensaio Xpert® MTB/RIF Ultra (Cepheid Inc., Sunnyvale, CA, EUA), também conhecido como Xpert Ultra. Os testes mostraram que houve um aumento de sua sensibilidade, reduzindo o limite de detecção para 15,6 unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL), comparado ao seu antecessor que era de 112,6 UFC/mL. Uma nova categoria de resultados foi adicionada, denominada “traço”, que é definida pela presença dos sinais moleculares *IS6110* e/ou *IS1081*, identificando as amostras com o menor número de alvos de MTB. Além do aumento de sua

sensibilidade, um resultado pode ser obtido em menos de 80 minutos, otimizando, assim, o tempo para se obter o diagnóstico através desse método (WHO, 2011b, 2017; CHAKRAVORTY et al., 2017). Entretanto, com o aumento da sua sensibilidade, houve uma diminuição de sua especificidade. O teste também pode ter maior probabilidade de detectar um pequeno número de bacilos não replicantes ou inativos, especialmente em pacientes com história recente de tratamento para TB, o que pode resultar em falso negativo, necessitando cuidado quanto a interpretação dos resultados e a sua aplicação (BERHANU et al., 2018; DORMAN et al., 2018; OPOTA et al., 2019; PIERSIMONI et al., 2019)

Com o aumento da sensibilidade do Xpert Ultra, em especial em indivíduos com cultura negativa, o seu uso em triagens sistemáticas em prisões ou em outras populações de alto risco torna-se uma ferramenta efetiva (WINETSKY et al., 2012; DORMAN et al., 2018; BERHANU et al., 2018; PEREIRA et al., 2020). Entretanto, a sua utilização nessas populações pode ser limitada devido a restrições de custo, necessitando novas abordagens que venham a tornar possível a sua aplicação (LAWN et al., 2013; PANTOJA et al., 2013; WHO, 2013; CAMPBELL; SASITHARAN; MARRA, 2015; SMIT et al., 2017).

2.7 O método *pool*

O método *pool* consiste em reunir amostras clínicas de diferentes indivíduos e testá-las em um único momento. Se o resultado do teste combinado for negativo, todas as amostras individuais são declaradas negativas, sem a necessidade de serem testadas individualmente. Se o resultado do teste agrupado for positivo, pelo menos uma das amostras componentes desse conjunto é positiva, dessa forma, todas as amostras componentes devem ser testadas individualmente para identificar quais são positivas e negativas (DORFMAN, 1943).

Essa abordagem foi primeiramente sugerida por Dorfman em 1943 (DORFMAN, 1943), sendo aperfeiçoada ao longo dos anos e utilizada para triagem em bancos de sangue (MINE et al., 2003) e identificação de infecções, apresentando uma alta sensibilidade (EMMANUEL et al., 1988; MORANDI et al., 1998; QUINN et al., 2000; LINDAN et al., 2005; BUTYLKINA et al., 2007; TAYLOR et al., 2010; MEHTA et al., 2011, 2011; NEWMAN et al., 2014; YELIN et al., 2020). O método, além de sensível na detecção de infecções, mostrou-se também ser custo-efetiva. A sua utilização diminuiu os custos quando comparada à testagem individual, mostrando seu potencial para aumentar a acessibilidade a testagem em massa, assim como o monitoramento de casos, especialmente em países onde os recursos são limitados (EMMANUEL et al., 1988; BUTYLKINA et al., 2007; SHIPITSYNA et al., 2007; TAYLOR et al., 2010; MEHTA et al., 2011; TILGHMAN et al., 2011).

A utilização desse método para a identificação de casos de TB já tem sido avaliada previamente, mostrando-se uma ferramenta com elevada sensibilidade, produtividade e custo-efetividade. As amostras clínicas (escarros) foram agrupadas em *pools* de diferentes quantidades de amostras e testadas através do Xpert[®] MTB/RIF, elucidando a eficiência da metodologia juntamente com o TRM (ABDURRAHMAN et al., 2015; ZISHIRI et al., 2015; HO et al., 2017; PHUONG et al., 2019).

A sensibilidade da testagem para TB pelo Xpert Ultra através do método *pool* foi anteriormente investigada, juntamente com o seu custo-efetividade, rendimento e o tempo requerido para testar a população-alvo. (CHRY et al., 2020). Cem por cento dos resultados positivos individuais também foi considerado positivo pela estratégia de *pool*. O *pool* teria economizado 27% do número de cartuchos, reduzindo o tempo de processamento em 26% para triar a toda população de estudo.

Entretanto, o uso do Xpert Ultra na triagem de casos de TB na PPL através do método *pool* não foi investigada, bem como, se a carga bacilar (muito baixa, baixa, média e alta) dos indivíduos positivos iria influenciar na sensibilidade em detectar esses casos quando agrupados com casos negativos em *pool*. Além disso, não se sabe qual seria o impacto da taxa de prevalência de casos de TB na população de estudo de acordo com a estratégia utilizada para se realizar o *pool*.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Identificar novas estratégias para triagens sistemáticas em prisões utilizando o cartucho Xpert[®] MTB/RIF Ultra através do método *pool* como diagnóstico de tuberculose.

3.2 ESPECÍFICOS

Avaliar a sensibilidade do Xpert[®] MTB/RIF Ultra como uma estratégia de triagem sistemática nas prisões utilizando o método *pool*.

Analisar a sensibilidade do Xpert[®] MTB/RIF Ultra em pool de escarro, de acordo com a carga bacilar (muito baixa, baixa, média e alta).

Avaliar a custo-efetividade da melhor estratégia de *pool* em populações com taxas de prevalência de 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4% e 5% de tuberculose ativa.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDURRAHMAN, S. T. et al. Testing Pooled Sputum with Xpert MTB/RIF for Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis To Increase Affordability in Low-Income Countries. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 8, p. 2502–2508, Aug. 2015.

AERTS, A. et al. Tuberculosis and tuberculosis control in European prisons. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 10, n. 11, p. 1215–1223, Nov. 2006.

AREND, S. M.; VAN SOOLINGEN, D. Performance of Xpert MTB/RIF Ultra: a matter of dead or alive. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p. 8–10, Jan. 2018.

AZMAN, A. S.; GOLUB, J. E.; DOWDY, D. W. How much is tuberculosis screening worth? Estimating the value of active case finding for tuberculosis in South Africa, China, and India. **BMC medicine**, v. 12, p. 216, Oct. 2014.

BAUSSANO, I. et al. Tuberculosis Incidence in Prisons: A Systematic Review. **PLOS Medicine**, v. 7, n. 12, p. e1000381, Dec. 2010.

BERHANU, R. H. et al. Performance of Xpert MTB/RIF, Xpert Ultra, and Abbott RealTime MTB for Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis in a High-HIV-Burden Setting. **J Clin Microbiol**, v. 56, n. 12, Dec. 2018.

BOMBARDA, S. et al. Imagem em tuberculose pulmonar. **Jornal de Pneumologia**, v. 27, p. 329–340, nov./dez. 2001.

BOURDILLON, P. M. et al. Increase in Tuberculosis Cases among Prisoners, Brazil, 2009–2014(1). **Emerg Infect Dis**, v. 23, n. 3, p. 496–499, Mar. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 436 p. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_laboratorial_tuberculose.pdf. Acesso em: 30 dez. 2020.

BRASIL. **Situação Epidemiológica da Tuberculose nos Estados Partes e Associados do MERCOSUL - 2009 a 2013**. v. 1, p. 56, 2015. Disponível em: <http://www.riocomsaude.rj.gov.br/Publico/MostrarArquivo.aspx?C=Qlc8jVAKFFQ%3D>. Acesso em: 29 jul. 2020.

BRASIL. **Brasil Livre da Tuberculose: Plano Nacional pelo Fim da Tuberculose como Problema de Saúde Pública.** 54. 2017. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/brasil_livre_tuberculose_plano_nacional.pdf.

Acesso em: 03 jan. 2021.

BRASIL. **Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil.** p. 366, 2019. Brasília: Ministério da Saúde, 2019. 364 p. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_recomendacoes_controle_tuberculose_brasil_2_ed.pdf. Acesso em: 22 dez. 2020.

BRASIL. **Boletim Epidemiológico de Tuberculose.** p. 40, 2020. Disponível em: Acesso em: 30 dez. 2020. Disponível em: http://www.aids.gov.br/system/tdf/pub/2016/67150/25.03_boletim_tuberculose_2020_2.pdf?file=1&type=node&id=67150&force=1. Acesso em: 30 dez. 2021.

BRASIL. **Boletim Epidemiológico de Tuberculose.** p. 44, 2021. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2021/marco/24/boletim-tuberculose-2021_24.03#:~:text=Em%202020%2C%20o%20Brasil%20registrou,%C3%B3bitos%20por%20100%20mil%20habitantes. Acesso em: 10 abr. 2021

BUTYLKINA, R. et al. Pooling of urine specimens allows accurate and cost-effective genetic detection of *Chlamydia trachomatis* in Lithuania and other low-resource countries. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 39, n. 3, p. 209–212, Jul. 2009.

CAMPBELL, J. R.; SASITHARAN, T.; MARRA, F. A Systematic Review of Studies Evaluating the Cost Utility of Screening High-Risk Populations for Latent Tuberculosis Infection. **Applied Health Economics and Health Policy**, v. 13, n. 4, p. 325–340, Aug. 2015.

CARBONE, A. DA S. S. et al. Active and latent tuberculosis in Brazilian correctional facilities: a cross-sectional study. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, p. 24, 22, Jan. 2015.

CHAKRAVORTY, S. et al. The New Xpert MTB/RIF Ultra: Improving Detection of *Mycobacterium tuberculosis* and Resistance to Rifampin in an Assay Suitable for Point-of-Care Testing. **mBio**, v. 8, n. 4, p. e00812- e00817, Aug. 2017.

CHAWLA, S. et al. Active case finding of tuberculosis among household contacts of newly diagnosed tuberculosis patients: A community-based study from southern Haryana. **Journal of family medicine and primary care**, v. 9, n. 7, p. 3701–3706, July 2020.

CHRY, M. et al. Can the High Sensitivity of Xpert MTB/RIF Ultra Be Harnessed to Save Cartridge Costs? Results from a Pooled Sputum Evaluation in Cambodia. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 5, n. 1, Feb. 2020.

CORDS, O. et al. Incidence and prevalence of tuberculosis in incarcerated populations: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Public Health*, v. 6, n. 5, p. e300–e308, May 2021

DEPEN. **Levantamento Nacional de Informações Penitenciárias Atualização - Junho de 2016**. Brasília: Ministério da Justiça e Segurança Pública. Departamento Penitenciário Nacional, 2017, 65 p. Disponível em: <https://www.conjur.com.br/dl/infopen-levantamento.pdf>. Acesso em: 4 Jan. 2021.

DORFMAN, R. The Detection of Defective Members of Large Populations. **Annals of Mathematical Statistics**, v. 14, n. 4, p. 436–440, Dec. 1943.

DORMAN, S. E. et al. Xpert MTB/RIF Ultra for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampicin resistance: a prospective multicentre diagnostic accuracy study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p. 76–84, Jan. 2018.

DRAIN, P. K. et al. Incipient and Subclinical Tuberculosis: a Clinical Review of Early Stages and Progression of Infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, p. e00021-18, Oct. 2018.

EMMANUEL, J. C. et al. Pooling of sera for human immunodeficiency virus (HIV) testing: an economical method for use in developing countries. **Journal of clinical pathology**, v. 41, n. 5, p. 582–585, May 1988.

FERRAZ, A. F.; VALENTE, J. G. Epidemiological aspects of pulmonary tuberculosis in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 17, p. 255–266, Jan./Mar. 2014.

FERREIRA JÚNIOR, S.; OLIVEIRA, H. B. DE; MARIN-LÉON, L. Conhecimento, atitudes e práticas sobre tuberculose em prisões e no serviço público de saúde. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 16, p. 100–113, 2013.

FOURNET, N. et al. Development and evaluation of tuberculosis screening scores in Brazilian prisons. **Public Health**, v. 120, n. 10, p. 976–983, Oct. 2006.

GUPTA, R. K. et al. Active case finding and treatment adherence in risk groups in the tuberculosis pre-elimination era. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 22, n. 5, p. 479–487, Jan. 2018.

HO, J. et al. Pooling sputum samples to improve the feasibility of Xpert[®] MTB/RIF in systematic screening for tuberculosis. **The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease**, v. 21, n. 5, p. 503–508, May 2017.

HORO, K. et al. Use of the Xpert[®] MTB/RIF test in routine screening of new cases of pulmonary tuberculosis in an endemic area. **Revue Des Maladies Respiratoires**, v. 34, n. 7, p. 749–757, Sep. 2017.

KIM, H.-Y. et al. Symptom and digital chest X-ray TB screening in South African prisons: yield and cost-effectiveness. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease: The Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease**, v. 24, n. 3, p. 295–302, Mar. 2020.

KOCH, M. L.; COTE, R. A. Comparison of fluorescence microscopy with Ziehl-Neelsen stain for demonstration of acid-fast bacilli in smear preparations and tissue sections. **The American review of respiratory disease**, v. 91, p. 283–284, Feb. 1965.

KONEMAN, E.W. et al. **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 1565p.

LAWN, S. D. et al. Advances in tuberculosis diagnostics: the Xpert MTB/RIF assay and future prospects for a point-of-care test. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 13, n. 4, p. 349–361, Apr. 2013.

LEÃO, S. et al. **Practical handbook for the phenotypic and genotypic identification of mycobacteria**, 2004. 164 p.

LINDAN, C. et al. Utility of pooled urine specimens for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in men attending public sexually transmitted infection clinics in Mumbai, India, by PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 4, p. 1674–1677, Apr. 2005.

MABUD, T. S. et al. Evaluating strategies for control of tuberculosis in prisons and prevention of spillover into communities: An observational and modeling study from Brazil. **PLOS Medicine**, v. 16, n. 1, p. e1002737, Jan. 2019.

MARINE, E. et al. Improving tuberculosis management in prisons: Impact of a rapid molecular point-of-care test. **The Journal of Infection**, v. 82, n. 2, p. 235-239, Dec. 2020.

MEHTA, S. R. et al. Evaluation of pooled rapid HIV antibody screening of patients admitted to a San Diego Hospital. **Journal of virological methods**, v. 174, n. 1–2, p. 94–98, Jun. 2011.

MELCHERS, N. V. S. V. et al. State of Affairs of Tuberculosis in Prison Facilities: A Systematic Review of Screening Practices and Recommendations for Best TB Control. **PLOS ONE**, v. 8, n. 1, p. e53644, Jan. 2013.

MINE, H. et al. High throughput screening of 16 million serologically negative blood donors for hepatitis B virus, hepatitis C virus and human immunodeficiency virus type-1 by nucleic acid amplification testing with specific and sensitive multiplex reagent in Japan. **Journal of Virological Methods**, v. 112, n. 1–2, p. 145–151, Sep. 2003.

MORANDI, P.-A. et al. Detection of Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) RNA in Pools of Sera Negative for Antibodies to HIV-1 and HIV-2. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 6, p. 1534–1538, June 1998.

NAIR, D. et al. Household Contact Screening and Yield of Tuberculosis Cases-A Clinic Based Study in Chennai, South India. **PloS One**, v. 11, n. 9, p. e0162090, Sep. 2016.

NEWMAN, H. et al. A qualitative PCR minipool strategy to screen for virologic failure and antiretroviral drug resistance in South African patients on first-line antiretroviral therapy. **Journal of Clinical Virology: The Official Publication of the Pan American Society for Clinical Virology**, v. 60, n. 4, p. 387–391, Aug 2014.

NGWIRA, L. G. et al. Screening for Tuberculosis With Xpert MTB/RIF Assay Versus Fluorescent Microscopy Among Adults Newly Diagnosed With Human Immunodeficiency Virus in Rural Malawi: A Cluster Randomized Trial (Chepetsa). **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 68, n. 7, p. 1176–1183, Mar. 2019.

NISHIKIORI, N.; VAN WEEZENBEEK, C. Target prioritization and strategy selection for active case-finding of pulmonary tuberculosis: a tool to support country-level project planning. **BMC Public Health**, v. 13, n. 1, p. 97, Feb. 2013.

OPOTA, O. et al. The rapid molecular test Xpert MTB/RIF ultra: towards improved tuberculosis diagnosis and rifampicin resistance detection. **Clin Microbiol Infect**, v. 25, n. 11, p. 1370–1376, Nov. 2019.

PAI, M. et al. Tuberculosis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 2, n. 1, p. 16076, Oct. 2016.

PANTOJA, A. et al. Xpert MTB/RIF for diagnosis of tuberculosis and drug-resistant tuberculosis: a cost and affordability analysis. **European Respiratory Journal**, v. 42, n. 3, p. 708–720, Sep. 2013.

PELLISSARI, D. M. et al. Prevalence and screening of active tuberculosis in a prison in the South of Brazil. **The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease**, v. 22, n. 10, p. 1166–1171, Oct. 2018.

PEREIRA, G. R. et al. Evaluation of Xpert MTB/RIF Ultra performance for pulmonary tuberculosis (TB) diagnosis in a city with high TB incidence in Brazil. **Respiratory Medicine**, v. 162, p. 105876, Feb. 2020.

PHUONG, N. T. B. et al. Effect of two alternative methods of pooling sputum prior to testing for tuberculosis with genexpert MTB/RIF. **BMC infectious diseases**, v. 19, n. 1, p. 347, Apr. 2019.

PIERSIMONI, C. et al. Comparative evaluation of Xpert MTB/RIF and the new Xpert MTB/RIF ultra with respiratory and extra-pulmonary specimens for tuberculosis case detection in a low incidence setting. **Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases**, v. 15, p. 100094, May 2019.

PRATHIKSHA, G., DANIEL, B.D.; NATRAJAN, M. Active case-finding for tuberculosis in India. **Natl Med J India**. v. 32, n. 2, p. 90-95, Mar-Apr. 2019.

QUINN, T. C. et al. Feasibility of pooling sera for HIV-1 viral RNA to diagnose acute primary HIV-1 infection and estimate HIV incidence. **AIDS (London, England)**, v. 14, n. 17, p. 2751–2757, Dec. 2000.

- SACCHI, F. P. C. et al. Prisons as Reservoir for Community Transmission of Tuberculosis, Brazil. **Emerging Infectious Disease journal**, v. 21, n. 3, p. 452, Mar. 2015.
- SAKULA, A. Robert Koch: centenary of the discovery of the tubercle bacillus, 1882. **Thorax**, v. 37, n. 4, p. 246–251, Apr. 1982.
- SALGAME, P. et al. Latent tuberculosis infection--Revisiting and revising concepts. **Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)**, v. 95, n. 4, p. 373–384, Jul. 2015.
- SANCHEZ, A. et al. Screening for tuberculosis on admission to highly endemic prisons? The case of Rio de Janeiro State prisons. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease: The Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease**, v. 13, n. 10, p. 1247–1252, Oct. 2009.
- SANCHEZ, A. et al. X ray screening at entry and systematic screening for the control of tuberculosis in a highly endemic prison. **BMC Public Health**, v. 13, n. 1, p. 983, Oct. 2013.
- SANTHA, T. et al. Comparison of cough of 2 and 3 weeks to improve detection of smear-positive tuberculosis cases among out-patients in India. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease: The Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease**, v. 9, n. 1, p. 61–68, Jan. 2005.
- SANTOS, A. DA S. et al. Yield, Efficiency and Costs of Mass Screening Algorithms for Tuberculosis in Brazilian Prisons. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 72, n 5, p. 771-777, Mar. 2021.
- SHIPITSYNA, E. et al. Pooling samples: the key to sensitive, specific and cost-effective genetic diagnosis of Chlamydia trachomatis in low-resource countries. **Acta Dermato-Venereologica**, v. 87, n. 2, p. 140–143, 2007.
- SHRESTHA, G. et al. Pulmonary Tuberculosis among Male Inmates in the Largest Prison of Eastern Nepal. **Tuberculosis Research and Treatment**, v. 2019, 7 p., Oct. 2019.
- SMIT, G. S. A. et al. Cost-effectiveness of screening for active cases of tuberculosis in Flanders, Belgium. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 95, n. 1, p. 27–35, Jan. 2017.
- SMITH, D. W.; WIEGESHAUS, E. H. What animal models can teach us about the pathogenesis of tuberculosis in humans. **Reviews of infectious diseases**, v. 11 Suppl 2, p. 385-393, Apr. 1989.

STEINGART, K. R. et al. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 1, p. CD009593, Jan. 2014.

TAIT, D. R. et al. Final Analysis of a Trial of M72/AS01(E) Vaccine to Prevent Tuberculosis. **The New England journal of medicine**, v. 381, n. 25, p. 2429–2439, dec. 2019.

TAYLOR, S. M. et al. High-Throughput Pooling and Real-Time PCR-Based Strategy for Malaria Detection. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 2, p. 512–519, Feb. 2010.

THERON, G. et al. Evaluation of the Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in a high HIV prevalence setting. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 184, n. 1, p. 132–140, Jul. 2011.

TILGHMAN, M. W. et al. Pooled nucleic acid testing to detect antiretroviral treatment failure in Mexico. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes (1999)**, v. 56, n. 3, p. e70-74, Mar. 2011.

UN - United Nations. **Global Sustainable Development Report - 2015 Edition Advance Unedited Version**. 202 p., 2015. Disponível em: <https://sustainabledevelopment.un.org/content/documents/1758GSDR%202015%20Advance%20Unedited%20Version.pdf>. Acesso em: 4 Jan. 2021

UPLEKAR, M. et al. **WHO's new End TB Strategy**. **The Lancet**, v. 385, n. 9979, p. 1799–1801, May 2015.

URREGO, J. et al. The impact of ventilation and early diagnosis on tuberculosis transmission in Brazilian prisons. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 93, n. 4, p. 739–746, Oct. 2015.

VALENÇA, M. S. et al. Prevalence of tuberculosis in prisons: risk factors and molecular epidemiology. **The international journal of tuberculosis and lung disease: the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease**, v. 19, n. 10, p. 1182–1187, Oct. 2015.

WALMSLEY, R. **The World Prison Population List**. 19 p., 2018. Disponível em: https://www.prisonstudies.org/sites/default/files/resources/downloads/world_prison_population_list_11th_edition_0.pdf. Acesso em: 2 Jan. 2021.

WALTER, K. S. et al. The escalating tuberculosis crisis in central and South American prisons. **The Lancet**, v. 397, n. 10284, p. 1591–1596, Apr. 2021.

WHO – World Health Organization. **Treatment of tuberculosis: guidelines**. 160 p., 2010. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44165/1/9789241547833_eng.pdf?ua=1&ua=1. Acesso em: 30 Dez. 2020.

WHO – World Health Organization. **Policy statement: automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system**. 36 p., 2011a. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44586/9789241501545_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 30 Dez. 2020.

WHO – World Health Organization. **Rapid implementation of the Xpert MTB/RIF diagnostic test: technical and operational "How-to"; practical considerations**. 36 p., 2011b. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44593/9789241501569_eng.pdf?sequence=1. Acesso em: 30 Dez. 2020.

WHO – World Health Organization. **Systematic screening for active tuberculosis - Principles and recommendations**. 146 p., 2013. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/84971/9789241548601_eng.pdf?sequence=1. Acesso em: 29 July 2020.

WHO – World Health Organization. **WHO Meeting Report of a Technical Expert Consultation: Non-inferiority analysis of Xpert MTB/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF**. 11 p., 2017. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/254792/1/WHO-HTM-TB-2017.04-eng.pdf?ua=1>. Acesso em: 30 Dec. 2020.

WHO – World Health Organization. **Global Tuberculosis Report 2020**. 232 p., 2020. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/336069/9789240013131-eng.pdf>. Acesso em: 22 Dec. 2020.

WHO – World Health Organization. **WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 2: screening – systematic screening for tuberculosis disease**. 68 p., 2021. Disponível em:

<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/336069/9789240013131-eng.pdf>. Acesso em: 19 Abril 2021.

WINETSKY, D. E. et al. Screening and Rapid Molecular Diagnosis of Tuberculosis in Prisons in Russia and Eastern Europe: A Cost-Effectiveness Analysis. **PLOS Medicine**, v. 9, n. 11, p. e1001348, Nov. 2012.

YELIN, I. et al. Evaluation of COVID-19 RT-qPCR test in multi-sample pools. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 71, n. 16, p. 2073-2078, Nov. 2020.

ZISHIRI, V. et al. Pooling sputum from multiple individuals for Xpert® MTB/RIF testing: a strategy for screening high-risk populations. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease: The Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease**, v. 19, n. 1, p. 87–90, Jan. 2015.

5. APÊNDICES

Artigo 1: Pooling Sputum Samples for Efficient Mass Tuberculosis Screening in Prisons

Esse artigo foi submetido na revista: *Clinical Infectious Diseases* (Fator de Impacto: 8,313, Qualis A1)

Link com as normas da revista: https://academic.oup.com/cid/pages/Manuscript_Preparation

Authors:

Paulo César Pereira dos Santos¹, Andrea da Silva Santos¹, Roberto Dias de Oliveira², Bruna Oliveira da Silva¹, Thiego Ramon Soares¹, Leonardo Martinez⁴, Jason R Andrews^{4*}, Julio Croda^{5*}

Affiliations:

1. Faculty of Health Sciences, Federal University of Grande Dourados, Dourados, MS, Brazil.
2. School of Nursing, State University of Mato Grosso do Sul, Dourados, MS, Brazil.
3. Faculty of Health Sciences, Federal University of Grande Dourados, Dourados, MS, Brazil.
4. Stanford University School of Medicine, Division of Infectious Diseases and Geographic Medicine, Stanford, CA, United States of America.
5. Oswaldo Cruz Foundation, Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brazil.

* These authors contributed equally.

Brief summary

In this study, we evaluated the sensibility and cost-effectiveness of using Xpert[®] MTB/RIF Ultra by the pooling method for mass tuberculosis screening in prisons. We found that screening pooled sputum samples was more efficient than individual testing.

Abstract

Introduction

Although systematic tuberculosis screening in high-risk groups is recommended by WHO, implementation in prisons has been limited due to resource constraints. Whether Xpert® MTB/RIF Ultra (Ultra) sputum pooling could be a sensitive and efficient approach to mass screening in prisons is unknown.

Methods

We collected 1,280 sputum samples from inmates at three prisons in Mato Grosso do Sul, Brazil in the context of systematic active case finding and tested them using Xpert MTB/RIF 4th Generation. We selected samples for mixing in pools of 4, 8, 12, and 16, which were then tested using Ultra. In each sputum pool, a single positive sample of differing Xpert *Mycobacterium tuberculosis* semiquantitative loads (very low, low, medium, and high) was used. Additionally, 10 negative sputum pools of 16 samples each were analyzed as controls. We then simulated tuberculosis screening at prevalences of 0.5-5% and calculated the cost per tuberculosis case detected at different sputum pooling sizes.

Results

The sensitivity and specificity of sputum pooling were high (sensitivity: 94%; 95% Confidence Interval [CI], 88–98; specificity: 100%, 95% CI: 84–100). Sensitivity was greater in pools in which the positive sample had a high mycobacterial load compared to those with a very low bacterial load (100% vs 88%). In settings with a higher tuberculosis prevalence, smaller pool sizes (4-8) were more efficient than larger pool sizes. Larger pools decreased the costs by 87% at low prevalences whereas smaller pools fitted greater at higher prevalences (57%).

Conclusion

Sputum pooling using Ultra was a sensitive strategy for tuberculosis screening. This approach was more efficient than individual testing across a broad range of simulated tuberculosis prevalence settings and could enable active case finding to be scaled while containing costs.

Introduction

Tuberculosis remains a major global public health problem. In 2019, 10 million individuals fell ill with tuberculosis, leading to 1.4 million deaths [1]. Although there have been modest declines in tuberculosis incidence globally, approximately 1–2% annually, this trend is far from sufficient to reach goals set by the World Health Assembly of a 90% reduction in tuberculosis incidence by 2035 [2]. Underdiagnoses and delays in diagnosis remain major obstacles to tuberculosis control. Despite progress in expanding access to rapid, sensitive diagnostics, there are an estimated 2.9 million cases that are undetected or unnotified each year [1, 3]. There is a critical need to identify effective and scalable strategies to improve case finding [4].

Systematic tuberculosis screening has been proposed by the World Health Organization's End TB strategy to decrease case detection gaps and find missing cases in high-risk populations [4]. The aim of systematic screening is to detect individuals with tuberculosis early in their disease process [5, 6]. As a consequence, anti-tuberculosis treatment can be rapidly given to patients, reducing poor treatment outcomes and preventing ongoing tuberculosis transmission [6]. Empirical evidence has demonstrated that systematic screening is effective at detecting new cases in certain high-risk populations, such as contacts of tuberculosis cases and persons living with HIV [7, 8]. WHO has recently released a new consolidated guidelines on tuberculosis screening, strongly recommending systematic screening since it has the potential to improve equality in health care coverage, especially in environments where prison health facilities are inadequate [9].

Incarcerated populations are at markedly elevated risk of tuberculosis [10, 11]. A meta-analysis from 2021 found that prisoners are at higher risk of incident tuberculosis compared to the general population, incidence rate ratios ranging from around 4.1 in North America to 27.6 in South America, compared to an average global incidence rate ratio of 10.1 [12]. However, tuberculosis case detection among prisoners is poor, [13, 14] and methods to reduce underdiagnoses and transmission in this setting are not well characterized [15]. Xpert[®] MTB/RIF Ultra (Cepheid Inc, Sunnyvale, CA, USA) has a greater sensitivity in smear-negative patients and may be a useful and attractive tool during systematic screening in prisons [16–20]. However, systematic screening is not

widely implemented in prisons or other vulnerable populations because of cost constraints [5, 21–24].

Pooling specimens from different individuals and testing them at one time point may reduce cost constraints of mass tuberculosis screening. Previous studies have evaluated sputum pooling for HIV, chlamydia, and other infectious diseases [25–29], demonstrating high sensitivity and cost-efficiency. Sputum pooling for tuberculosis detection has been previously investigated with some promising results [30–34]. However, the sensitivity and specificity at large pool sizes and the optimal pool size according to prevalence are unclear. In addition, data on sputum pooling in prisons is lacking.

To address these knowledge gaps, we conducted a study in high tuberculosis burden prisons in Brazil. We evaluated the sensitivity and specificity of pooled sputum testing with Xpert® MTB/RIF Ultra at different pool sizes compared to individual testing. We then evaluated how sputum pool size impacts the efficiency of screening at different tuberculosis prevalences.

Methods

Study design

This study was embedded within a prospective mass tuberculosis screening study among incarcerated individuals in three prisons in Mato Grosso do Sul, Brazil. The methods and procedures have been described previously [35]. Briefly, all incarcerated individuals in the study prisons were invited to participate. After obtaining informed consent, a study nurse administered a questionnaire to ascertain demographics, symptoms, and risk factors, a chest radiograph was performed and a sputum sample was collected for testing using 4th Generation Xpert[®] MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA) along with culture on Ogawa-Kudoh media. For this sub-study, we evaluated the accuracy of Xpert[®] MTB/RIF Ultra (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA; hereinafter Xpert Ultra) testing on pooled sputum samples. Among individuals testing positive by Xpert, we tested our hypothesis that these individuals would be accurately detected in pooled testing on Xpert Ultra by combining them with negative samples in pools of 4, 8, 12, and 16 specimens. A single positive sputum result with distinct *M. tuberculosis* semi-quantitative load (very low, low, medium, and high) was pooled with sputum samples that tested negative for *M. tuberculosis* by Xpert and culture, and then tested by Xpert Ultra.

Samples and processing

Participants were instructed to produce at least 2 mL of sputum during each screening visit. For initial diagnostic testing, 1 mL sputum was combined with 2 mL of Xpert sample reagent (1:2), vortexed for 15 seconds, and incubated for 10 minutes at room temperature. Of the resulting suspension, 2 mL were transferred to Xpert cartridges. Another 1 mL of unprocessed sputum was stored at -80°C for further pool preparation.

Pool preparation and Xpert Ultra testing

For each positive case detected, the original sample was tested in combination with samples from negative participants in Xpert Ultra. Mycobacterial load was assessed by Xpert MTB/RIF (4th Generation) for each positive participant. Pool sizes of 4, 8, 12, and

16 specimens were constructed. The number of pools for each ratio was 20, 20, 20, and 40, respectively. In addition, 10 control pools of 16 specimens were performed containing only negative sputum. Pools were made by combining 1 mL of an *M. tuberculosis* positive sputum sample with 1 mL each of the appropriate number of *M. tuberculosis* negative sputum samples to achieve the required pool size. An equal volume (ratio 1:1) of Xpert sample reagent was added to sputum samples for each ratio and vortexed for approximately 15 seconds. The preparations were incubated at room temperature for 10 minutes, and 2 mL was transferred to each cartridge. Xpert Ultra testing was performed according to the manufacturer's instructions. A pool was considered positive for all *M. tuberculosis* loads even if Xpert Ultra results were trace positive.

Statistical analysis and cost approaches

We assessed the sensitivity of pooled testing among pools with one known positive and specificity among pools with all negative sputa. We stratified results by pool size and calculated exact binominal 95% confidence intervals around each estimate.

We then investigated the efficiency of testing sputum pools of various sizes by calculating the number of cartridges needed per case detected. We considered prevalence ranging from 0.5-5% based on the tuberculosis prevalence reported from mass screening in prisons globally [35–39]. For each prevalence, we simulated 100,000 pools of each size (4, 8, 12, 16) containing a random distribution of positive cases according to a binomial distribution; pools had a probability of being detected according to pooled testing sensitivity. We assumed that individual sputum testing with Xpert Ultra had 90% [40]; we used the pooled sensitivity estimated from our data, and multiplied that by 90% as the pools were evaluated against individual Xpert testing as the reference standard. We assumed that a positive pool result would be followed by individual retesting of each individual sample used to construct the pool. Following this procedure, we calculated the number of tests performed to detect each case.

We estimated the costs per case diagnosed by using costs per Xpert test performed from a previously published micro-costing analysis in this setting [35]. Cost savings

were estimated by comparing the total costs of detecting one tuberculosis case for each pooled strategy and testing the population individually.

Ethical approval

All individuals who agreed to participate in the study provided informed consent. Ethical approval was obtained from Federal University of Grande Dourados, the National Committee on Research Ethics (#2.195.047), and the Institutional Review Board at Stanford University (#40285). All tuberculosis cases identified during screening were referred for treatment according to national guidelines.

Results

Between November 2017 and July 2018, 5,387 eligible study participants were screened in three prisons. Of these, 1,452 (26.9%) inmates provided adequate sputum samples for Xpert testing and further pooling analysis. We selected 1,280 participants with known Xpert *M. tuberculosis* semi-quantitative load values for the study. Among these, there were 1,180 negative samples and 100 positive samples that were high (25), medium (25), low (25), and very low (25) on Xpert (Figure 1).

The overall sensitivity of all pooled sputum tests was 94% (94/100; 95% CI, 87–97) (Table 1). All 10 pools with only negative sputa were negative (specificity: 100%; 95% CI, 69–100). Sputum pools with a size of four participants had a sensitivity of 95% (19/20; 95% CI, 77–99). The one negative pool in this sample was with a patient with very low *M. tuberculosis* semiquantitative load. In pools with a size of eight participants, sensitivity was 100% (95% CI, 83–100). In sputum pooling of 12 participants, 16 of 20 pools (80%, 95% CI: 56–94) were positive. Among these, pools including a positive sample with a high mycobacterial load had greater sensitivity (n=5/5; 100%), although the sample was small. Among sputum pools with a size of 16 participants, 39 (94%; 95% CI: 86-99) of 40 tests performed detected *M. tuberculosis*; the one pool that tested negative contained a positive sample with a very low *M. tuberculosis* load.

Based on the results of pool sensitivity, we calculated the mean number of cartridges needed to detect one tuberculosis case as a function of pool size and tuberculosis prevalence (Table 2). Because the sensitivity was not significantly different across pool sizes in the primary analysis above, we used the overall estimate of 94% as sensitivity, and then further adjusted for the estimated sensitivity of the reference standard of individual Xpert testing (90%) (Table 2).

As prevalence increased, the mean number of cartridges needed to be used to detect one tuberculosis case decreased; however, the optimal pool size differed according to prevalence. At a tuberculosis prevalence of 1%, sputum pooling sizes of 8, 12, and 16 used similar numbers of Xpert cartridges (23, 21, and 22, respectively) to detect one tuberculosis case. A pooling strategy of four individuals had a slightly higher number of tests needed to be implemented (number of tested needed, 34) to detect one

tuberculosis patient. At this prevalence, all pooling strategies were more efficient than testing all individuals (number of tests needed, 111). At prevalences of 2-4%, pools of 8 were most efficient, while at prevalence of 5% pools of 4 and 8 were equally efficient (10 cartridges per case detected), while pools of 12 and 16 required larger pool sizes (11 and 13, respectively). All pooling remained more efficient than individual testing across the range of prevalences studied, though the efficiency gains were greater at lower prevalences. At 0.5% prevalence, the individual testing required 7.4 times as many cartridges as the optimal pool size (16) (222 vs 30 per case detected), whereas at 5% prevalence, individual testing only required 2.3 times as many cartridges (22 vs 10 per case detected).

At lower tuberculosis prevalence (0.5%), larger pools of 12 and 16 participants decreased the costs by 86% (\$633 per case diagnosed) and 87% (\$675 per case diagnosed), respectively, when compared to individual testing (\$4,688.89 per case diagnosed). At higher prevalences, the cost-savings of pooling were lower, but remained substantial. For example, at prevalence of 2%, using the most efficient pool size (8) reduced costs by 73% compared with individual testing. At the highest simulated prevalence (5%), testing pools of 4 or 8 reduced costs by 57%.

Discussion

Systematic screening among high-risk groups, such as incarcerated populations, may be a valuable approach to reduce gaps in tuberculosis case detection [3, 41] and achieve 2035 goals of tuberculosis elimination [1]. However, there is a lack of evidence concerning how to effectively screen and detect tuberculosis while controlling costs. We found that the sensitivity of sputum pooling was high (94% overall) and that all pooling strategies improved the efficiency of case detection compared with individual testing. In addition, as the prevalence increased, the number needed to test for all strategies decreased, though the relative benefits of sputum pooling declined. The optimal pool size varied across a plausible range of prevalences observed in mass screening studies in prisons, with smaller pools more efficient at higher prevalences, but pooling of all sizes reduced costs compared with individual testing. These results suggest that sputum pooling should be considered during mass screening interventions in prisons and other high-burden settings.

These results help to inform the use of sputum pooling as part of active case finding in high-burden settings including evaluation of pool size, Xpert Ultra, and the use of semi-quantitative Xpert load values to enhance screening. We found that the overall sensitivity of pools containing positive samples was 94%, and specificity was 100%, roughly consistent with previous studies among the general population [30–34]. We found that sensitivity remained high even at pool sizes of 16. While sensitivity was numerically lower for a pool size of 12, this finding was not statistically significant, and we found no trend of differences in sensitivity across the four pool sizes evaluated. Our results were modified by Xpert Ultra semiquantitative *M. tuberculosis* load values of the one positive sample per pool. We found that sensitivity substantially increased as semiquantitative values increased from very low (88%), low (92%), medium (96%), to high (100%). This relationship was consistent across all pool sizes. Negative results from pools containing positive samples may be a consequence of uneven distribution of mycobacteria in the processed samples. In general, even in pools containing samples with lower quantities of *M. tuberculosis*, it was possible to detect tuberculosis by using the pooling strategies presented here.

Importantly, we found that the background prevalence of tuberculosis should be taken into account when assessing the efficiency of differing sputum pooling strategies. Efficiency gains from pooled sampling are derived from pools that do not require further testing. As prevalence increases, the number of pools that are negative upon initial screening declines. For example, at 1% tuberculosis prevalence, 85% of pools of 16 will not contain a positive sample, whereas at 5% tuberculosis prevalence, only 44% of pools of 16 will lack a positive sample. The optimal pool size therefore declines with prevalence. Additionally, at higher prevalence, the number needed to test to detect a case is lower, but the relative efficiency gains of pooled sampling over individual testing declines. Nevertheless, even at the highest prevalence simulated in this study (5%), pooled testing still reduced the number of cartridges needed by >50%.

In a large mass screening project in Brazilian prisons, we previously found that testing all incarcerated individuals with sputum Xpert MTB/RIF was both sensitive and cost-efficient [35]. However, despite these findings and WHO recommendations that systematic screening for tuberculosis be performed in prisons, in practice such screening is not widely performed in correctional facilities in high tuberculosis burden countries due to resource constraints. Pooled testing has reduced costs for case detection of other diseases [25–29], but it has not been widely adopted in tuberculosis control. Several previous studies have evaluated the role of sputum pooling for Xpert testing among the general population [30, 31, 33, 34]; however, this is among the first data to test sputum pooling in prison settings. The prisons included in this analysis have differing tuberculosis burden, ranging from 2,385 to 5,600 tuberculosis cases per 100,000 prisoners [35]. Our results suggest that the size of the sputum pool should be tailored to the background burden of tuberculosis where possible, though in practice the prevalence is often not known with great precision before mass screening is undertaken. Nevertheless, across the broad range examined in this study, pooled testing was more efficient than individual testing, suggesting that this strategy could be advantageous even when underlying prevalence is unknown.

There are some limitations to this study. During screening, samples were analyzed on Xpert 4th Generation, while pooled samples were tested on the more sensitive Xpert Ultra, which became available after the initial screening and before pooled testing. This may have biased the pooling test population towards individuals with higher bacillary

loads [42, 43]. Additionally, we used even proportions of high, medium, low, and very low semi-quantitative Xpert values – in practice this will vary substantially and therefore programmatic evaluation may be needed.

In summary, our results from a mass screening study suggest that testing of pooled sputum samples achieved high sensitivity, even with pools as large as 16 containing a single positive sample. Efficiency of pooled sputum testing and the optimum pool size vary based on the background tuberculosis prevalence, though the efficiency gains over individual testing were robust across the wide range of prevalences examined. Pooled sputum testing with Xpert Ultra may enable mass screening to be conducted in resource-constrained settings where individual testing is not currently performed. In high-burden populations where active case finding is performed, pooled testing may enable more frequent screening to be conducted while containing costs. These strategies may help reduce case detection gaps in populations bearing a disproportionate burden of tuberculosis.

References

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2020. Global tuberculosis report 2020. Geneva: World Health Organization; **2020**. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
2. Pai M, Dewan P. Testing and Treating the Missing Millions with Tuberculosis. *PLoS Med* **2015**; 12:e1001805.
3. World Health Organization. Draft global strategy and targets for tuberculosis prevention, care and control after 2015. Available at: https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA67/A67_11-en.pdf. Accessed 04 December 2020.
4. World Health Organization. Systematic screening for active tuberculosis - Principles and recommendations. 2013. Geneva, World Health Organization, **2013**.
5. Kranzer K, Afnan-Holmes H, Tomlin K, et al. The benefits to communities and individuals of screening for active tuberculosis disease: a systematic review. *Int J Tuberc Lung Dis* **2013**; 17:432–446.
6. Kranzer K, Houben RM, Glynn JR, Bekker L-G, Wood R, Lawn SD. Yield of HIV-associated tuberculosis during intensified case finding in resource-limited settings: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* **2010**; 10:93–102.
7. Martinez L, Cords O, Horsburgh CR, et al. The risk of tuberculosis in children after close exposure: a systematic review and individual-participant meta-analysis. *The Lancet* **2020**; 395:973–984.
8. World Health Organization. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 2: screening – systematic screening for tuberculosis disease. Geneva: World Health Organization. **2021**.
9. Sequera VG, Aguirre S, Estigarribia G, et al. Increased incarceration rates drive growing tuberculosis burden in prisons and jeopardize overall tuberculosis control in Paraguay. *Scientific Reports* **2020**; 10:21247.
10. Walter KS, Martinez L, Arakaki-Sanchez D, et al. The escalating tuberculosis crisis in Central and South American prisons. *Lancet* **2021**; 397: 1591–1596;
11. Cords O, Martinez L, Warren JL, et al. Incidence and prevalence of tuberculosis in incarcerated populations: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Public Health* **2021**; 6:e300–e308.
12. Adane K, Spigt M, Ferede S, Asmelash T, Abebe M, Dinant G-J. Half of Pulmonary Tuberculosis Cases Were Left Undiagnosed in Prisons of the Tigray Region of Ethiopia: Implications for Tuberculosis Control. *PLOS ONE* **2016**; 11:e0149453.

13. Paião DSG, Lemos EF, Carbone A da SS, et al. Impact of mass-screening on tuberculosis incidence in a prospective cohort of Brazilian prisoners. *BMC Infect Dis* **2016**; 16: 533.
14. Haeusler IL, Torres-Ortiz A, Grandjean L. A systematic review of tuberculosis detection and prevention studies in prisons. *Global Public Health* **2021**; 0:1–16.
15. Arend SM, Van Soolingen D. Performance of Xpert MTB/RIF Ultra: a matter of dead or alive. *The Lancet Infectious Diseases* **2018**; 18:8–10.
16. Dorman SE, Schumacher SG, Alland D, et al. Xpert MTB/RIF Ultra for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampicin resistance: a prospective multicentre diagnostic accuracy study. *The Lancet Infectious Diseases* **2018**; 18:76–84.
17. Berhanu RH, David A, da Silva P, et al. Performance of Xpert MTB/RIF, Xpert Ultra, and Abbott RealTime MTB for Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis in a High-HIV-Burden Setting. *Journal of clinical microbiology* **2018**; 56:e00560-18
18. Opota O, Mazza-Stalder J, Greub G, Jaton K. The rapid molecular test Xpert MTB/RIF ultra: towards improved tuberculosis diagnosis and rifampicin resistance detection. *Clin Microbiol Infect* **2019**; 25:1370–1376.
19. Lawn SD, Mwaba P, Bates M, et al. Advances in tuberculosis diagnostics: the Xpert MTB/RIF assay and future prospects for a point-of-care test. *Lancet Infect Dis* **2013**; 13:349–361.
20. Pantoja A, Fitzpatrick C, Vassall A, Weyer K, Floyd K. Xpert MTB/RIF for diagnosis of tuberculosis and drug-resistant tuberculosis: a cost and affordability analysis. *Eur Respir J* **2013**; 42:708–720.
21. Campbell JR, Sasitharan T, Marra F. A Systematic Review of Studies Evaluating the Cost Utility of Screening High-Risk Populations for Latent Tuberculosis Infection. *Appl Health Econ Health Policy* **2015**; 13:325–340.
22. Smit GSA, Apers L, Arrazola de Onate W, et al. Cost-effectiveness of screening for active cases of tuberculosis in Flanders, Belgium. *Bull World Health Organ* **2017**; 95:27–35.
23. Emmanuel JC, Bassett MT, Smith HJ, Jacobs JA. Pooling of sera for human immunodeficiency virus (HIV) testing: an economical method for use in developing countries. *J Clin Pathol* **1988**; 41:582–585.
24. Mehta SR, Nguyen VT, Osorio G, Little S, Smith DM. Evaluation of pooled rapid HIV antibody screening of patients admitted to a San Diego Hospital. *J Virol Methods* **2011**; 174:94–98.
25. Newman H, Breunig L, van Zyl G, Stich A, Preiser W. A qualitative PCR minipool strategy to screen for virologic failure and antiretroviral drug resistance in South African patients on first-line antiretroviral therapy. *J Clin Virol* **2014**; 60:387–391.
26. Yelin I, Aharony N, Shaer Tamar E, et al. Evaluation of COVID-19 RT-qPCR test in multi-sample pools. *Clin Infect Dis* **2020**; 71:2073-2078

27. Zishiri V, Chihota V, McCarthy K, Charalambous S, Churchyard GJ, Hoffmann CJ. Pooling sputum from multiple individuals for Xpert® MTB/RIF testing: a strategy for screening high-risk populations. *Int J Tuberc Lung Dis* **2015**; 19:87–90.
28. Abdurrahman ST, Mbanaso O, Lawson L, et al. Testing pooled sputum with Xpert MTB/RIF for diagnosis of pulmonary tuberculosis to increase affordability in low-income countries. *J Clin Microbiol* **2015**; 53:2502–2508.
29. Ho J, Jelfs P, Nguyen PTB, Sintchenko V, Fox GJ, Marks GB. Pooling sputum samples to improve the feasibility of Xpert® MTB/RIF in systematic screening for tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* **2017**; 21:503–508.
30. Phuong NTB, Anh NT, Van Son N, et al. Effect of two alternative methods of pooling sputum prior to testing for tuberculosis with GeneXpert MTB/RIF. *BMC Infect Dis* **2019**; 19:347.
31. Chry M, Smelyanskaya M, Ky M, et al. Can the high sensitivity of Xpert MTB/RIF Ultra be harnessed to save cartridge costs? results from a pooled sputum evaluation in cambodia. *Trop Med Infect Dis* **2020**; 5: 27.
32. Santos ADS, Oliveira RD, Lemos EF, et al. Yield, Efficiency and Costs of Mass Screening Algorithms for Tuberculosis in Brazilian Prisons. *Clin Infect Dis* **2021**;72: 771-777;
33. Sanchez A, Gerhardt G, Natal S, et al. Prevalence of pulmonary tuberculosis and comparative evaluation of screening strategies in a Brazilian prison. *Int J Tuberc Lung Dis* **2005**; 9:633–639.
34. Kuhleis D, Ribeiro AW, Costa ERD, et al. Tuberculosis in a southern Brazilian prison. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **2012**; 107:909–915.
35. Sanchez A, Massari V, Gerhardt G, et al. X ray screening at entry and systematic screening for the control of tuberculosis in a highly endemic prison. *BMC Public Health* **2013**; 13:983.
36. Pelissari DM, Kuhleis DC, Bartholomay P, et al. Prevalence and screening of active tuberculosis in a prison in the South of Brazil. *Int J Tuberc Lung Dis* **2018**; 22:1166–1171.
37. Zhang M, Xue M, He J-Q. Diagnostic accuracy of the new Xpert MTB/RIF Ultra for tuberculosis disease: A preliminary systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis* **2020**; 90:35–45.
38. Dara M, Acosta CD, Melchers NVSV, et al. Tuberculosis control in prisons: current situation and research gaps. *Int J Infect Dis* **2015**; 32:111–117.
39. Piersimoni C, Gherardi G, Gracciotti N, Pocognoli A. Comparative evaluation of Xpert MTB/RIF and the new Xpert MTB/RIF ultra with respiratory and extra-pulmonary specimens for tuberculosis case detection in a low incidence setting. *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases* **2019**; 15:100094.

40. Opota O, Zakham F, Mazza-Stalder J, Nicod L, Greub G, Jaton K. Added Value of Xpert MTB/RIF Ultra for Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis in a Low-Prevalence Setting. *J Clin Microbiol* **2019**; 57:e01717-18.

Tables and Figures

Table 1. Sensitivity of sputum pooling by pool size using Xpert[®] MTB/RIF Ultra by levels of *Mycobacterium tuberculosis* semi-quantitative load.

Table 2. Estimated costs and cost savings per case diagnosed from sputum pooling according to pool size and tuberculosis prevalence per 1,000 individuals screened.

Figure 1. Schemata of study recruitment and sample selection

Figure 2. Number of Xpert Ultra cartridges needed per tuberculosis case detected according to pool size and population tuberculosis prevalence.

.

Table 1. Sensitivity of sputum pooling by pool size using Xpert® MTB/RIF Ultra, stratified by distinct levels of *Mycobacterium tuberculosis* semi-quantitative load estimated by Xpert® MTB/RIF G4.

Xpert® MTB/RIF Ultra semiquantitative					
Pool size	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> load of the positive sample				
	High (%)	Medium (%)	Low (%)	Very low (%)	Total (%; 95% CI)
4	5/5 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	4/5 (80)	19/20 (95, 75-100)
8	5/5 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	20/20 (100, 83-100)
12	5/5 (100)	4/5 (80)	3/5 (60)	4/5 (80)	16/20 (80, 56-94)
16	10/10 (100)	10/10 (100)	10/10 (100)	9/10 (90)	39/40 (97, 87-100)
Total (%)	25/25 (100)	24/25 (96)	23/25 (92)	22/25 (88)	94/100 (94, 87-98)

Table 2. Estimated costs and cost savings per case diagnosed from sputum pooling according to pool size and tuberculosis prevalence per 1,000 individuals screened.

TB Prevalence (%)	Pool size	No. of expected cases found ^a	Xpert used per case found ^b	Cost per case Diagnosed (USD) ^c	Savings cost (USD (%))
0.5	1	5	222	4,688.89	0.00 (0)
	4	4	61	1,293.43	3,395.46 (72)
	8	4	38	800.53	3,888.36 (83)
	12	4	32	674.57	4,014.32 (86)
	16	4	30	632.58	4,056.31 (87)
1	1	9	111	2,344.44	0.00 (0)
	4	9	34	709.17	1,635.27 (70)
	8	9	23	475.81	1,868.64 (80)
	12	9	21	446.48	1,897.96 (81)
	16	9	22	469.26	1,875.18 (80)
2	1	18	56	1,172.22	0.00 (0)
	4	17	19	392.88	779.34 (66)
	8	17	15	315.87	856.35 (73)
	12	17	16	332.75	839.47 (72)
	16	17	17	368.62	803.60 (69)
3	1	27	37	781.48	0.00 (0)
	4	26	14	290.34	491.14 (63)
	8	26	12	256.15	525.33 (67)
	12	26	14	284.85	496.63 (64)
	16	26	15	322.20	459.28 (59)
4	1	36	28	586.11	0.00 (0)
	4	34	11	235.69	350.42 (60)
	8	34	11	223.45	362.66 (62)
	12	34	12	256.79	329.32 (56)
	16	34	14	292.45	293.66 (50)
5	1	45	22	468.89	0.00 (0)
	4	43	10	202.35	266.54 (57)
	8	43	10	203.40	265.49 (57)
	12	43	11	234.42	234.47 (50)
	16	43	13	267.76	201.13 (43)

^a Number of expected cases found considering the composite sensitivity of 94% across all pool sizes compared to the reference standard of 90% for individual testing.

^b The number of Xperts per each case detected based on the total number of tests used, considering retesting.

^c The costs per each case detected, considering the cost of singular test of \$21.10 (Interview+ Xpert) [37]. For the calculation: (Xperts used per case detected * \$21.10)

Figure 1. Schemata of study recruitment and sample selection.

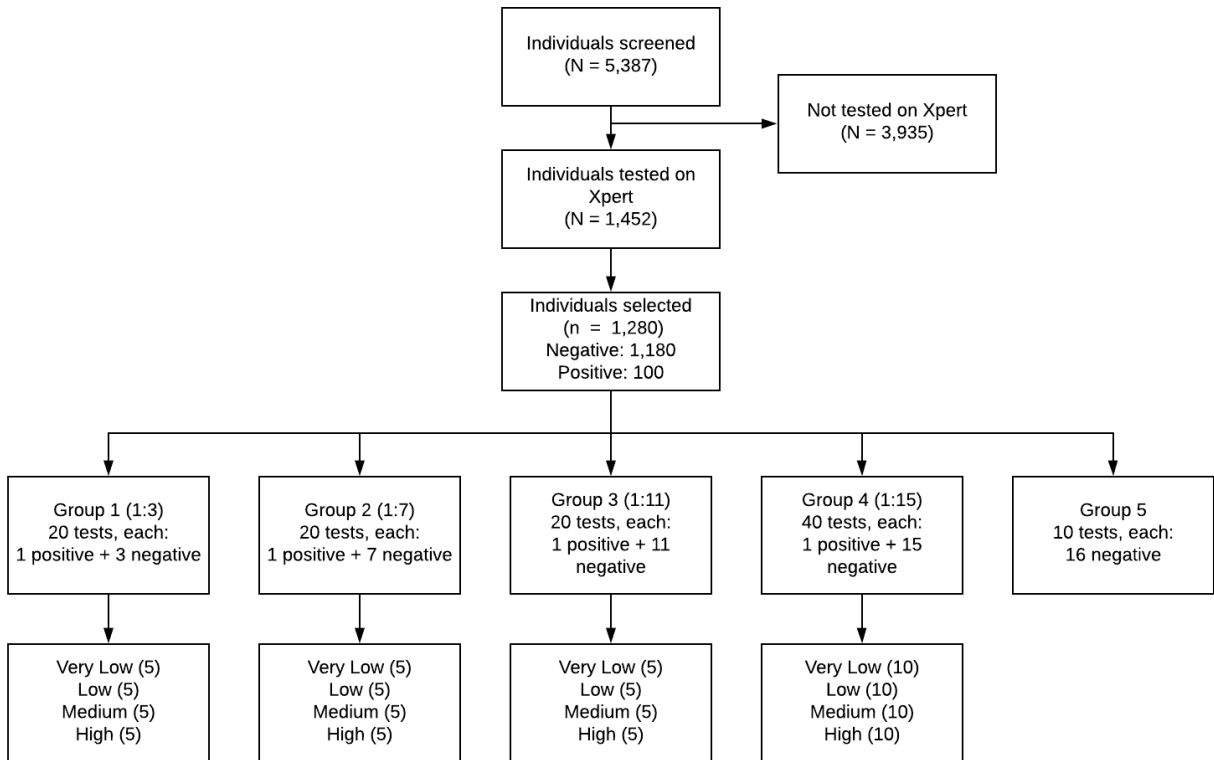
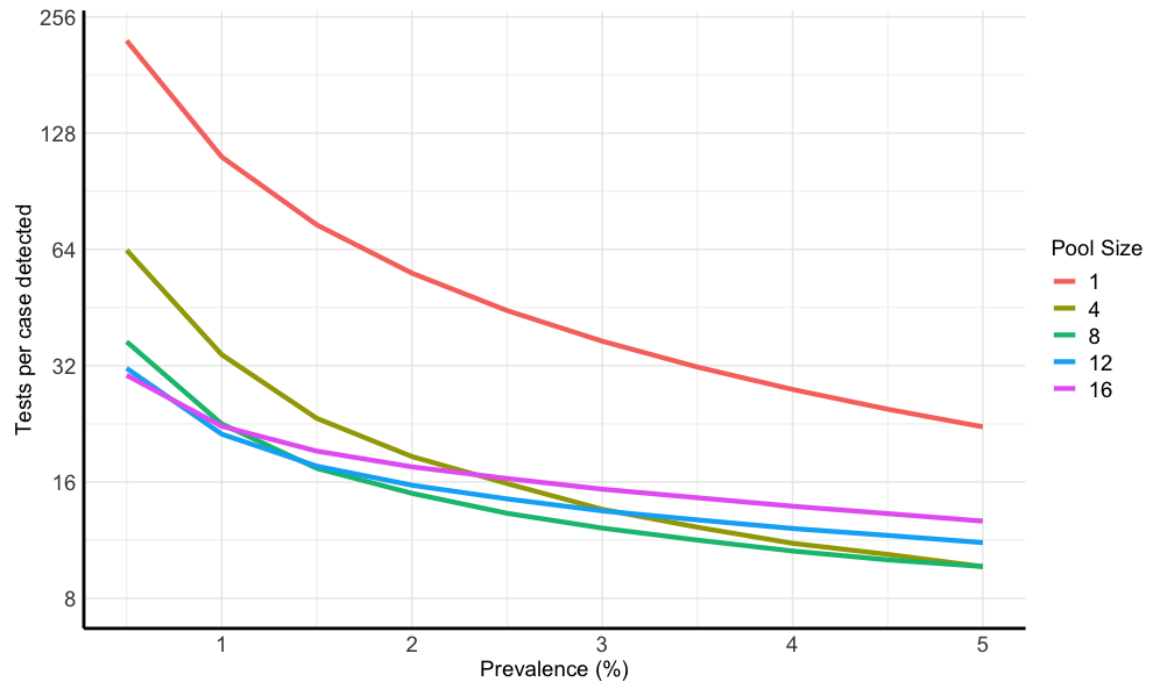


Figure 2. Number of Xpert Ultra cartridges needed per tuberculosis case detected according to pool size and population tuberculosis prevalence.



6 CONCLUSÕES

A definição de estratégias para o controle da TB em populações vulneráveis, como a PPL, é influenciada por diversos fatores. As características da população, prevalência da doença e questões socioeconômicas são de grande importância nesse contexto. Em locais onde a incidência de TB é alta, característica de países com baixa e média renda, há a necessidade de abordagens que facilitem as medidas de diagnóstico em massa, diminuindo a transmissão nesses locais.

A técnica de *pool*, utilizando o TRM de alta sensibilidade Xpert Ultra, foi capaz de identificar 94% dos *pools* que continham uma amostra positiva, demonstrando que a carga bacilar daquelas amostras positivas não foi determinante para influenciar a detecção dos bacilos de amostras positivas, agrupadas com amostras negativas.


A taxa de prevalência de casos de TB na população, teve forte influência quanto à estratégia de *pool* mais apropriada. Com uma taxa de prevalência mais baixa, *pools* compostos por mais amostras (12 e 16) apresentaram maior rendimento, necessitando de menos testes, para realizar a busca por casos de TB em uma determinada população. Como consequência da diminuição no número de testes necessários para a triagem em massa, houve uma redução nos custos, quando comparados à triagem individualizada dos internos.

O oposto foi observado em populações com alta prevalência (4% e 5%), nas quais os *pools* contendo menor número de amostras (4 e 8), apresentaram melhor rendimento e custo efetividade, haja vista que se um *pool* com mais amostras (12 e 16) é positivo, seria necessário um maior número de cartuchos para testar todos aqueles indivíduos presentes no *pool* que foi positivo.

A TB é uma doença que permanece com grande importância no cenário mundial. A utilização da técnica de *pool* para triagem sistemática em PPL, mostrou-se uma estratégia eficaz e custo-efetiva. Através disso, pode-se reduzir a prevalência da doença nesses locais, uma vez que a detecção de novos casos de TB pode ser realizada em menos tempo, a um menor custo.

7 ANEXOS

7.1 Parecer de aprovação do comitê de ética

<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <p>COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA</p> </div> <div style="text-align: right;">  </div> </div>								
PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP								
DADOS DA EMENDA								
Título da Pesquisa: Identificação de estratégias de busca ativa de casos de tuberculose e rastreamento de contatos para controle da tuberculose nas prisões brasileiras.								
Pesquisador: JULIO HENRIQUE ROSA CRODA								
Área Temática: Pesquisas com coordenação e/ou patrocínio originados fora do Brasil, excetuadas aquelas com copatrocínio do Governo Brasileiro;								
Versão: 12								
CAAE: 37237814.4.0000.5160								
Instituição Proponente: Fundação Universidade Federal da Grande Dourados/UFGD-MS								
Patrocinador Principal: SECRETARIA DE SAUDE Stanford University National Institute of Health								
DADOS DO PARECER								
Número do Parecer: 3.483.377								
Apresentação do Projeto:								
As informações contidas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram obtidas dos documentos Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1344035_E2.pdf de 12/06/2019).								
INTRODUÇÃO								
A TB entre privados de liberdade (PPL) é uma prioridade de saúde pública no estado de Mato Grosso do Sul, uma vez que é o estado brasileiro com a maior proporção de PPL entre a população geral e a incidência anual de tuberculose notificada nessa população dobrou nos últimos seis anos. Como parte de uma grande resposta inter-setorial, estabelecemos uma parceria com as 12 prisões do estado. Nossos estudos longitudinais iniciais encontraram altas taxas de aquisição de tuberculose latente (26%) entre a população privada de liberdade. Além de grande carga de doenças entre os presos, há significativa carga de TB das prisões para a comunidade (estudos preliminares). Estudos transversais realizados por nossos e outros pesquisadores demonstraram elevada detecção de TB ativa através de triagem anuais, mas o rendimento desta abordagem ao longo do tempo ao lado de outras intervenções permanece incerta. Nosso projeto prospectivo vai permitir a avaliação rigorosa do rendimento relativo da triagem anual e as investigações de								
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="border: none;">Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar</td> <td style="border: none;">CEP: 70.719-040</td> </tr> <tr> <td style="border: none;">Bairro: Asa Norte</td> <td style="border: none;">Município: BRASILIA</td> </tr> <tr> <td style="border: none;">UF: DF</td> <td style="border: none;">E-mail: conep@saude.gov.br</td> </tr> <tr> <td style="border: none;">Telefone: (61)3315-5877</td> <td style="border: none;"></td> </tr> </table>	Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar	CEP: 70.719-040	Bairro: Asa Norte	Município: BRASILIA	UF: DF	E-mail: conep@saude.gov.br	Telefone: (61)3315-5877	
Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar	CEP: 70.719-040							
Bairro: Asa Norte	Município: BRASILIA							
UF: DF	E-mail: conep@saude.gov.br							
Telefone: (61)3315-5877								
<small>Página 01 de 08</small>								

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 3.483.377

contato, oferecendo informações detalhadas sobre quem priorizar para triagem direcionada. Também irá fornecer dados exclusivos sobre o impacto da busca ativa de casos de transmissão. Com a infra-estrutura criada para estudos prospectivos de longo prazo no Brasil, temos uma excelente oportunidade de responder às lacunas do conhecimento fundamentais que têm sido barreiras à implementação medidas eficazes de controle da tuberculose nos ambientes prisionais com elevada transmissão da doença. Como a proporção de MDR-TB primária entre os casos identificados a partir de nossa rede de prisão é baixa (menor que 1%), nosso estudo não irá abordar a transmissão e controle de tuberculose resistente a medicamentos. Esperamos que os resultados do nosso estudo possam trazer impacto importante sobre as estratégias de controle da tuberculose nas prisões. O Brasil agora tem a quarta maior população prisional no mundo. O grau de aglomeração e incidência de tuberculose nestas prisões é semelhante ao observado em muitos países da América Latina, assim como na África, Sul e Sudeste Asia. Portanto, as estratégias de intervenções identificadas poderão ser aplicadas em programas de controle da tuberculose de outros países que apresentem o mesmo contexto descrito no Brasil.

HIPÓTESE

Nossos estudos preliminares identificaram que a transmissão da tuberculose nas prisões de Mato Grosso do Sul é extremamente elevada, sobretudo nas maiores e principalmente nas prisões masculinas, onde a incidência de TB foi o dobro do encontrado quando comparados com os presídios femininos. Nossos resultados, realizados por estudos anteriores, mostraram que a exposição prolongada em celas superlotadas, com pouca ventilação (com o mínimo de exposição interior aos privados de liberdade que não residem na mesma cela), levou-nos a hipótese de que a triagem em massa, com os testes de Radiografia de tórax, Cultura e o Gene Xpert, permitirá a identificação da melhor estratégia de diagnóstico e controle da TB nas prisões do Brasil. A nossa hipótese, especificamente, é de que:

A) Pelo menos um terço dos casos de transmissões da tuberculose ocorrem na comunidade devido a infecção recente relacionada a infecções prévias entre os privados de liberdade e a comunidade. A nossa abordagem irá incluir sequenciamento inteiro do genoma em conjuntos definidos pelo RFLP de isolados de presos, ex-presos e membros da comunidade coletados por um programa abrangente de vigilância da TB em duas cidades (Dourados e Campo Grande). Para o método inovador, vamos utilizar uma abordagem estatística Bayesiana para inferir a direção da transmissão através da incorporação de dados genômicos e exposição, bem como evolução dentro-hospedeiro do *Mycobacterium tuberculosis*. A rede de transmissão irá ser utilizada para

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 3.483.377

avaliar a proporção de casos em comunidades que são gerados por infecções adquiridas em prisões.

B) As amostras de escarro combinados em grupos de 8 amostras, ao serem testados através do Gene Xpert Ultra, terá sensibilidade de >85% e > 99% de especificidade, em comparação com a cultura a nível individual e teste Ultra Xpert. Para as três prisões no do estado de Mato Grosso do Sul (N = 5.500 presos), vamos utilizar uma unidade de diagnóstico móvel exclusiva para realizar a triagem em massa por meio da TB por radiografia de tórax, cultura de escarro e Xpert Ultra. Para amostras que são positivas por Xpert Ultra, vamos combinar escarro com spum Xpert negativo em um "pool" de tamanhos que variam de 4 a 16 para avaliar a sensibilidade e especificidade do teste de escarro agrupados em comparação com o teste individual.

C) O rastreamento em massa frequentes nas prisões poderia ser uma medida de baixo custo para reduzir a taxa de TB dentro das prisões e a da população em geral. Usando dados dos objetivos 1 e 2, iremos desenvolver um modelo dinâmico de transmissão de TB e verificar a relação custoeficácia da dinâmica em que incorpora os presos, ex-presos e populações da comunidade.

Vamos comparar as intervenções de diagnóstico, incluindo vários tamanhos de "pool" e componentes de diagnóstico e projetar os custos e o impacto da carga da TB sobre a prisão e a comunidade. Ao tornar este modelo "dados abertos" o modelo irá servir como uma ferramenta para a comunidade científica mais ampla para a aplicação em outros contextos em todo o mundo, onde "amplificadores institucionais", tais como prisões, que podem contribuir para epidemias na comunidade. O estudo prospectivo proposto será oportuno e constitui uma abordagem mais rigorosa para responder a estas questões.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo prospectivo de coorte aberto entre os indivíduos encarcerados de três prisões no Mato Grosso do Sul, Brasil. Este projeto está dividido em dois momentos de investigação a serem realizados: 1º momento com os levantamentos secundários dos dados de Notificação de Tuberculose do estado e de Movimentação dos Privados de Liberdade notificados com a TB e 2º Momento com a População Privada de Liberdade (PPL). No primeiro momento vamos integrar três fontes de dados: 1) dados de notificação de nível populacional TB de Mato Grosso do Sul, que inclui dados clínicos, demográficos e espaciais sobre os casos; 2) os dados administrativos da prisão em local e hora do encarceramento, transferências e liberações; e 3) os dados genômicos sobre isolados de M. tuberculosis. Para a segunda etapa, que será realizada com os Privados de Liberdade, iremos anualmente realizar a radiografia de tórax, cultura e o Gene Xpert. Vamos

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 3.483.377

acompanhar a coorte para determinar incidência de TB ativa. A TB pulmonar será identificada por radiografia de tórax, cultura anual e GeneXpert e a vigilância de rotina e busca ativa caso durante o período de estudo de quatro anos. Recrutaremos os privados de liberdade nas três maiores prisões em nossa rede, sendo o EPJFC em Campo Grande, Instituto Penal de Campo Grande (IPCG) e PED em Dourados. O rastreio anual será realizado por quatro anos. Para realização de radiografia de tórax nos indivíduos do presídio será possível por meio de um veículo adaptado com as instalações apropriadas para realização dos Raio X. Essa unidade móvel, percorrerá os três presídios do estudo. Essa Unidade Móvel faz parte de um Termo de Cooperação/ Convênio, realizado entre Secretaria Estadual de Saúde (SES-MS), AGEPEN e a UFGD . Será ofertado o teste rápido de triagem qualitativa para HIV 1 e 2 a todos os participantes com diagnóstico de tuberculose. Os resultados reagentes serão encaminhados para enfermaria para realização de exames sorológicos confirmatórios. A realização do teste Rápido anti HIV 1 e 2 será necessária uma vez que, o Ministério da Saúde preconiza a realização de investigação de HIV em 100% dos casos de Tuberculose. O Teste rápido de HIV será realizado exclusivamente por enfermeiros treinados.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Pessoas privadas de liberdade dos presídios do Estabelecimento Penal Jair Ferreira de Carvalho (EPJFC), Instituto Penal de Campo Grande (IPCG) e do Presídio Estadual de Dourados (PED).

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO PRIMÁRIO

Identificar intervenções efetivas de controle da tuberculose nas prisões do Brasil.

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- 1) Estimar a taxa da tuberculose em comunidades em contato com as prisões, através de novos modelos de transmissão incorporando dados genômicos e de encarceramento.
- 2) Determinar se o teste Xpert MTB/RIF Ultra de amostras de escarro em uma amostra agrupada "pool" pode detectar com precisão os casos de tuberculose, para facilitar o rastreio de TB em massa nas prisões.
- 3) Desenvolver um modelo para projetar o impacto de intervenções baseadas nas taxas de TB das prisões e comunidades que podem ser aplicados em diversos contextos epidemiológicos.
- 4) Comparar a sensibilidade, especificidade e o rendimento de triagem em massa anual de TB ativa

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 3.483.377

nas prisões por Radiografia de tórax, cultura e Gene Xpert.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS

- 1) A equipe de estudo irá coletar informações sobre dados demográficos, comportamentos e história médica pregressa durante as entrevistas; por conseguinte, existe o risco potencial de desconforto em responder a perguntas e quebra de confidencialidade em relação a informações pessoais.
- 2) Enfermeiros do estudo farão testagem rápida para HIV, que apesar de riscos mínimos, pode estar associada com desconforto.
- 3) Os sujeitos privados de liberdade são considerados populações vulneráveis, podem sentir-se coagidos a participar do estudo, e pode acreditar que o seu envolvimento no estudo prevê benefícios ou riscos em relação à conduta dos funcionários prisionais e outros prisioneiros.
- 4) A equipe do estudo está em risco de infecções e doenças de trabalho devido a elevada transmissão da tuberculose nos locais de estudo prisão. A avaliação desses riscos será feita seguindo técnicas padronizadas de boas práticas em saúde. Será disponibilizado aos integrantes do grupo equipamentos de proteção individual (EPI) para minimizar o risco. Haverá local adequado para a coleta de escarro para minimizar o constrangimento da coleta e possibilidade de contaminação dos privados de liberdade e equipe não infectada. Os participantes testados com HIV e com resultados positivos serão encaminhados ao serviço de saúde local para o diagnóstico confirmatório e tratamento.

BENEFÍCIOS

1. Desenvolvimento de atividades de educação continuada sobre vigilância epidemiológica, e manejo clínico da tuberculose para profissionais de saúde do Sistema Único de Saúde do Estado de Mato Grosso do Sul envolvidos no atendimento de populações privadas de liberdade;
 2. Levantamento epidemiológico da estimativa da incidência regional de tuberculose ativa na população privada de liberdade do estado do Mato Grosso do Sul;
 3. Consolidação da rede de atenção a saúde na população privada de liberdade;
 4. Fortalecimento da rede de pesquisa em epidemiologia das doenças infecciosas em populações vulneráveis;
 5. Identificação de intervenções efetivas para o controle da tuberculose na população privada de liberdade.
- Além disso o projeto terá suas aplicações a nível: social - garantia dos direitos humanos

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 3.483.377

das populações privadas de liberdade utilizados os princípios do SUS: integralidade e equidade na assistência em saúde; garantia de proteção aos familiares dos privados de liberdade, susceptíveis a doenças de transmissão respiratória;- referência e contra-referência para os centros de referências para garantir o acesso ao tratamento da tuberculose. Esta pesquisa pretende colaborar de maneira significativa, ofertando serviços de saúde e contribuindo para diminuir a iniquidade na oferta de serviços de saúde.

Econômica:

- Redução dos custos por internação hospitalar, e escolta policial para transferência de presos devido à gravidade.

Científica:

- Atuação em Rede e fortalecimento da Rede Estadual de Tuberculose;

- Incentivo a formação de graduandos da área de saúde em ambientes prisional;

- Estímulo a produção científica nas linhas de pesquisa das diversas pós-graduações do estado de Mato Grosso do Sul;

- Levantamentos epidemiológicos para tuberculose ativa e latente com objetivo de instituir políticas de saúde regionalizadas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

EMENDA 2

Trata-se da Emenda 2 que tem por objetivo fazer adequações no projeto de pesquisa e termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), para atender a legislação vigente em relação ao manual de tratamento de tuberculose do Ministério da Saúde Brasileiro, bem como novas evidências científicas tornadas públicas nos últimos 12 meses.

Documentos postados:

PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1344035_E2.pdf, gerado pela Plataforma Brasil em 12/06/2019

Projeto_CONEP_E2.docx, postado na Plataforma Brasil em 12/06/2019

Emenda_2.docx, postado na Plataforma Brasil em 12/06/2019

TCLE_CONEP_E1_sublinhado.docx, postado na Plataforma Brasil em 12/06/2019

TCLE_CONEP_E2.docx, postado na Plataforma Brasil em 12/06/2019

Projeto_CONEP_E1_sublinhado.docx, postado na Plataforma Brasil em 12/06/2019

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Verificar item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 3.483.377

Recomendações:

Verificar item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não foram encontrados óbices éticos na presente emenda.

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação da emenda proposta ao projeto de pesquisa.

Situação: Emenda aprovada.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_1344035_E2.pdf	12/06/2019 15:15:55		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_CONEP_E2.docx	12/06/2019 15:14:27	Roberto Dias de Oliveira	Aceito
Outros	Emenda_2.docx	12/06/2019 15:11:20	Roberto Dias de Oliveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CONEP_E1_sublinhado.docx	12/06/2019 15:10:03	Roberto Dias de Oliveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	TCLE_CONEP_E2.docx	12/06/2019 15:09:48	Roberto Dias de Oliveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_CONEP_E1_sublinhado.docx	12/06/2019 14:58:49	Roberto Dias de Oliveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_sequenciamento.docx	31/10/2016 18:15:54	EVERTON FERREIRA LEMOS	Aceito
Outros	NIH.png	31/10/2016 17:24:26	EVERTON FERREIRA LEMOS	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório /	Biorrepositorio.docx	31/10/2016 17:23:02	EVERTON FERREIRA LEMOS	Aceito

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 3.483.377

Biobanco	Biorrepositorio.docx	31/10/2016 17:23:02	EVERTON FERREIRA LEMOS	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.docx	31/10/2016 17:22:16	EVERTON FERREIRA LEMOS	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto001.pdf	31/10/2016 17:19:14	EVERTON FERREIRA LEMOS	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Cartas_suporte_traduzida.docx	11/08/2016 00:47:08	EVERTON FERREIRA LEMOS	Aceito
Outros	presidio.doc	08/08/2016 01:30:18	EVERTON FERREIRA LEMOS	Aceito
Outros	RESOLUCAO.docx	08/08/2016 00:57:27	EVERTON FERREIRA LEMOS	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declara.pdf	02/12/2015 08:08:03	EVERTON FERREIRA LEMOS	Aceito
Outros	Infraestrutura (1).pdf	13/12/2014 20:54:39		Aceito
Declaração de Pesquisadores	Cartas_suporte.pdf	04/09/2014 11:25:30		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

BRASILIA, 02 de Agosto de 2019

Assinado por:
Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador(a))

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br