

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

**Impacto da qualidade do escarro, na positividade do Xpert® MTB/RIF, na
busca ativa de casos de tuberculose pulmonar**

BRUNA OLIVEIRA DA SILVA

Dourados- MS
2024

BRUNA OLIVEIRA DA SILVA

**Impacto da qualidade do escarro, na positividade do Xpert® MTB/ RIF, na
busca ativa de casos de tuberculose pulmonar**

Área do CNPQ: 40101096

Exame de defesa, apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados (FCS/UFGD), para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Doenças Crônicas e Infecto-Parasitárias.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Dias de Oliveira
Coorientador: Prof. Dr. Julio Henrique Rosa Croda

Dourados-MS

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S586i Silva, Bruna Oliveira Da

Impacto da qualidade do escarro, na positividade do Xpert ® MTB/RIF, na busca ativa de casos de tuberculose pulmonar [recurso eletrônico] / Bruna Oliveira Da Silva. -- 2024.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Roberto Dias de Oliveira .

Coorientador: Julio Henrique Rosa Croda .

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2024.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

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

1. Qualidade do escarro. 2. Xpert. 3. Tuberculose. 4. Triagem em massa na prisão. 5. População privada de liberdade. I. Oliveira, Roberto Dias De. II. Croda, Julio Henrique Rosa. III. 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.



ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA POR BRUNA OLIVEIRA DA SILVA, ALUNA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "DOENÇAS CRÔNICAS E INFECTO-PARASITÁRIAS".

Aos sete dias do mês de março do ano de dois mil e vinte e quatro, às treze horas e trinta minutos, em sessão pública, realizou-se na Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada **"Impacto da qualidade do escarro, na positividade do Xpert MTB/RIF, na busca ativa de casos de tuberculose pulmonar"**, apresentada pela mestrand Bruna Oliveira da Silva, do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, à Banca Examinadora constituída pelos membros: Prof. Dr. Roberto Dias de Oliveira/UEMS (presidente/orientador), Prof.^a Dr.^a Simone Simionatto/UFGD (membro titular interno), Prof.^a Andrea da Silva Santos (membro titular externo). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer à candidata e aos integrantes da banca as normas a serem observadas na apresentação da Dissertação. Após a candidata ter apresentado a sua Dissertação, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a Defesa, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido a candidata considerada aprovada. A Presidente da Banca atesta a participação dos membros que estiveram presentes de forma remota, conforme declarações anexas. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Dourados/MS, 07 de março de 2024.

Prof. Dr. Roberto Dias de Oliveira
Presidente/orientador
(Participação Remota)

Prof.^a Dr.^a Simone Simionatto
Membro Titular Interno
(Participação Remota)

Prof.^a Andrea da Silva Santos
Membro Titular Externo
(Participação Remota)

(PARA USO EXCLUSIVO DA PROPP)

ATA HOMOLOGADA EM: ____/____/____, PELA PROPP/ UFGD.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

TB	Tuberculose
<i>Mtb</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana (da sigla em inglês HIV - <i>human immunodeficiency virus</i>)
OMS	Organização Mundial da Saúde
PPL	População Privada de Liberdade
MS	Mato Grosso do Sul
BAAR	Bacilo Álcool-Ácido Resistente
TRM	Teste Rápido Molecular
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase (do inglês – <i>Polymerase Chain Reaction</i>)
UFC	Unidade Formadora de Colônia
mL	Mililitro
Raio-X	Radiografia de Tórax
CAD	Detecção Auxiliada por Computador (da sigla em inglês CAD- Computer-aided detection)
<i>GBP5</i>	Guanylate Binding Protein 5
<i>DUSP3</i>	Dual Specificity Protein Phosphatase 3
<i>KLF2</i>	Kruppel-like factor 2
Ct	Limite de Ciclo
PVA	Álcool Polivinílico
e-Nose	Nariz Eletrônico
VOCs	Compostos Orgânicos Voláteis
LAM	Lipoarabinomanano

EPÍGRAFE

Estou sempre fazendo o que não sou capacitado,
a fim de aprender como fazer.

(VICENT VAN GOGH)

Impacto da qualidade do escarro, na positividade do Xpert® MTB/ RIF, na busca ativa de casos de tuberculose pulmonar

RESUMO

Introdução: Estudos que avaliam a relação entre a qualidade do escarro e a positividade do GeneXpert® MTB/RIF (Xpert), no contexto da busca ativa de casos de tuberculose (TB), são escassos. O objetivo deste estudo foi analisar a associação entre a qualidade do escarro e a positividade do Xpert e se essa associação diferia de acordo com as características clínicas e demográficas em um estudo de triagem em massa na prisão.

Desenho/Métodos: Foi conduzido um estudo transversal envolvendo pessoas privadas de liberdade (PPL), que cumpriam pena em regime fechado em três locais no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil: Penitenciária Estadual de Dourados (PED), Estabelecimento Penal Jair Ferreira de Carvalho (EPJFC) e Instituto Penal de Campo Grande (IPCG). Os dados foram coletados entre novembro de 2017 a agosto de 2021. Foi aplicado um questionário padronizado para obtenção de informações sociodemográficas e clínicas, assim como fatores de risco para TB, incluindo uso de drogas ilícitas, tabagismo e histórico prévio da doença. Adicionalmente, foi realizada uma radiografia pósterio-anterior de tórax e coletada uma amostra de escarro, para realização do teste rápido molecular (TRM) Xpert. A qualidade do escarro foi classificada como “mucoide/mucopurulento”, “sanguinolenta” e “salivar”, usando dois laboratoristas experientes. Os dados foram analisados por meio de regressão logística binomial, utilizando o programa R para estimar a relação entre a qualidade do escarro e a positividade do Xpert, avaliando as interações com as características dos participantes.

Resultados: Entre 4.368 participantes para os quais a qualidade do escarro foi avaliada 957 (21,9%) produziram amostras salivares, 3.379 (77,4%) apresentaram expectoração mucoide/mucopurulento e 32 (0,7%) expectoração sanguinolenta. A positividade do Xpert foi maior entre aqueles com escarro mucoide/mucopurulento 406 (12,0%) em comparação com aqueles com amostras salivares 35 (3,7%). Observou-se uma associação entre a avaliação da qualidade do escarro, os fatores de risco para TB como, tabagismo, radiografias de tórax anormais no CAD4TB, triagem de sintomas e TB prévia e a positividade do Xpert.

Conclusões: Em nosso estudo a aparência do escarro mucoide/mucopurulento e certos fatores de risco para TB esteve relacionada a uma maior positividade do Xpert, ressaltando a importância da avaliação cuidadosa da qualidade do escarro e da consideração dos fatores de risco ao realizar testes de diagnóstico de TB.

Palavras-chave: qualidade do escarro; Xpert; tuberculose; triagem em massa na prisão; população privada de liberdade.

Impact of sputum quality, on Xpert® MTB/ RIF positivity, in active case-finding of pulmonary tuberculosis

ABSTRACT

Introduction: Studies evaluating the relationship between sputum quality and GeneXpert® MTB/RIF (Xpert) positivity in the context of active case finding for tuberculosis (TB) are scarce. The aim of this study was to determine the association between sputum quality and Xpert positivity and whether the association differed according to demographic and clinical characteristics in the context of TB mass screening.

Design/Methods: A cross-sectional study was conducted involving people deprived of liberty (PDL) who served their sentences in a closed regime in three places in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil: Penitenciária Estadual de Dourados (PED), Estabelecimento Penal Jair Ferreira de Carvalho (EPJFC) e Instituto Penal de Campo Grande (IPCG). Data were collected between November 2017 and August 2021. Was administered a standardized questionnaire was applied to collect sociodemographic and clinical information, as well as risk factors for TB, including illicit drugs, smoking and history of the disease. In addition, a posteroanterior radiography was performed and a sputum sample was collected to perform the Xpert rapid molecular test. Sputum quality was defined as “mucoid/mucopurulent”, “bloody” and “salivary”, using two experienced laboratory workers. Data were analyzed using binomial logarithmic regression, using the R program to estimate the relationship between sputum quality and Xpert positivity, evaluating interactions with participant characteristics.

Results: Among 4,368 (39.5%) had sputum quality assessed and Xpert performed, 3,379 (77.4%) had mucoid/mucopurulent sputum, 957 (21.9%) had salivary samples and 32 (0.7%) had bloody sputum. Xpert positivity was higher among those with mucoid/mucopurulent sputum 406 (12.0%) compared to those with saliva samples 35 (3.7%). An association was observed between the assessment of sputum quality, risk factors for TB such as smoking, abnormal symptom X-rays in CAD4TB, symptom screening and previous TB and Xpert positivity.

Conclusions: In our study, the appearance of mucoid/mucopurulent sputum and some risk factors for TB, were related to greater Xpert positivity, highlighting the importance of careful assessment of sputum quality and attention to risk factors when performing TB diagnostic tests.

Keywords: sputum quality; Xpert; tuberculosis; prison mass screening; population deprived of liberty.

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	6
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	7
2.1 Tuberculose.....	7
2.2 Epidemiologia da tuberculose	8
2.3 Tuberculose na população privada de liberdade (PPL)	9
2.4 Testes diagnósticos para detecção de TB.....	10
2.4.1 Testes baseados em escarro	10
2.4.2 Testes não baseados em escarro.....	11
2.5 Qualidade das amostras de escarro e o diagnóstico de TB.....	12
3. OBJETIVOS	14
3.1 Geral	14
3.2 Específicos.....	14
4. REFERÊNCIAS	15
5. APÊNDICES	20
6. CONCLUSÃO.....	45
7. ANEXOS	46

1.INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) e, apesar de existir tratamento eficaz, ainda representa um grande problema de saúde global, sendo a principal causa de morte entre os indivíduos infectados pelo HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana) (Cruz-Knight; Blake-Gumbs, 2013). Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), a TB, a malária e o HIV/AIDS estão entre as doenças transmissíveis que mais acometem pessoas que vivem em países de baixa renda (WHO, 2020).

A TB é uma doença relacionada à pobreza e afeta desproporcionalmente diferentes grupos populacionais, incluindo pessoas vivendo com HIV, moradores de rua, migrantes, usuários de substâncias ilícitas ou álcool e a população privada de liberdade (PPL) (Sulis *et al.*, 2014). A ocorrência de TB nas prisões é consistentemente maior do que na população geral (Baussano *et al.*, 2010; Cords *et al.*, 2021; Martinez *et al.*, 2023). O aumento dos casos de TB nas prisões brasileiras traz diversas consequências, uma vez que esses indivíduos poderão transmitir a doença para outras pessoas da comunidade, levando a novos casos de TB no futuro (Li *et al.*, 2022).

A OMS estabeleceu diretrizes para triagem sistemática de TB em grupos de alto risco, incluindo a PPL, visando à detecção precoce dos casos para melhorar os resultados de saúde e reduzir a transmissão da doença (WHO, 2013). A OMS também recomenda o uso de testes rápidos moleculares, incluindo o GeneXpert® MTB/RIF Cepheid, Sunnyvale, CA, Estados Unidos, (doravante Xpert). O Xpert é um ensaio molecular automatizado baseado em cartucho que detecta a presença de material genético do *Mtb* e resistência a rifampicina diretamente no escarro (WHO, 2014).

No entanto, o desempenho dos testes diagnósticos para detecção do *Mtb* não está relacionado apenas a um teste diagnóstico eficaz, mas também à obtenção de amostras biológicas de qualidade adequada (Peter *et al.*, 2013; Shi *et al.*, 2018). A obtenção de amostras de escarro expectorado das bases pulmonares, o local de doença ativa, potencializa as chances de obter um diagnóstico de TB mais preciso (Ho; Marks; Fox, 2015). Uma amostra de escarro de qualidade provém da árvore brônquica, adquirida após a tosse, não são consideradas amostras de boa qualidade as que se obtém da faringe ou por aspiração de secreções nasais, nem tampouco as que contêm apenas saliva (Brasil, 2011).

Embora a coleta de amostras salivares não seja considerada a melhor escolha para o diagnóstico de TB, devido ao baixo rendimento diagnóstico na baciloscopia de escarro e na cultura de micobactérias, seu rendimento parece ser mais promissor quando analisado por testes

moleculares (Byanyima *et al.*, 2022). Pouco se sabe sobre a associação entre a qualidade do escarro e a positividade do Xpert no contexto da triagem em massa de TB em prisões. Desta forma, para preencher essa lacuna, investigou-se a relação entre a qualidade da amostra de escarro e a positividade do Xpert e, ainda, as características demográficas e clínicas dos indivíduos, potencialmente envolvidas nessa relação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Tuberculose

A TB é uma doença infecciosa causada pelo *Mtb*, patógeno descrito pela primeira vez em 1882 pelo cientista alemão Robert Koch (Sakula, 1982). O *Mtb* é um agente infeccioso intracelular obrigatório, aeróbio, álcool-ácido resistente, imóvel, não encapsulado e não esporulado. Cresce preferencialmente em tecidos com alto teor de oxigênio, como os pulmões (Lawn; Zumla, 2011). A parede celular é rica em lipídios (ácidos micólicos e arabinogalactano), que lhe confere um papel fundamental na virulência, devido à baixa permeabilidade, que restringe a efetividade da maioria dos antibióticos e facilita a sobrevivência nos macrófagos (Brasil, 2019).

A infecção pelo *Mtb* em humanos resulta em dois estados clinicamente definidos: infecção latente e doença ativa. Recentemente, estudos mostraram um novo paradigma que reconhece um espectro de resultados de infecção dentro desses dois estados (Cadena; Fortune; Flynn, 2017). A infecção latente é determinada pela sensibilização ao *Mtb*, acredita-se que a bactéria está contida dentro do granuloma e, nesse estágio, ainda não há evidências microbiológicas ou anormalidades radiológicas consistentes com a doença. A TB subclínica possui dois estágios, os pacientes podem não apresentarem sintomas, assim como evidências microbiológicas, porém apresentam evidência de doença radiográfica (TB subclínica bacteriologicamente negativa ou incipiente) enquanto outros podem apresentar evidências microbiológicas e radiográficas (TB subclínica bacteriologicamente positiva); e por último tem-se TB, na qual os pacientes apresentam sintomas mas podem apresentar doença clínica bacteriologicamente negativa, assim como podem apresentar doença clínica bacteriologicamente positiva. Nos estágios mais avançados da doença os indivíduos doentes podem apresentar dano tecidual extenso e cavitação no contexto da doença pulmonar (Esmail *et al.*, 2022).

A transmissão da TB se dá através da via respiratória, pela inalação de aerossóis provenientes da fala, tosse ou espirro de um indivíduo com TB pulmonar ou laríngea (Brasil, 2019). Os bacilos são inalados, atingem os pulmões e quando as células de defesa inatas do

hospedeiro falham em eliminá-los, estes começam a se multiplicar dentro dos macrófagos alveolares, podendo se espalhar para outros órgãos ou tecidos através do sistema circulatório e linfático (Delogu; Sali; Fadda, 2013). Os sintomas gerais da TB incluem: febre, fadiga, falta de apetite e perda de peso, e aqueles com TB pulmonar avançada podem apresentar tosse persistente e hemoptise (Pai *et al.*, 2016).

O esquema de tratamento da TB é padronizado e compreende duas fases: a intensiva ou de ataque, que tem por objetivo reduzir rapidamente a carga bacilar e eliminar os bacilos que possuem alguma resistência natural a algum medicamento e, a fase de manutenção, que visa eliminar os bacilos latentes ou persistentes (Brasil, 2019). No Brasil, o esquema terapêutico da TB é composto por quatro fármacos na fase intensiva (rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol) com duração de dois meses e dois na fase de manutenção (rifampicina e isoniazida) com duração de 4 meses, com as dosagens de cada droga recomendadas de acordo com o peso corporal do paciente (Brasil, 2019; WHO, 2010).

2.2 Epidemiologia da tuberculose

Em 2022, 10,6 milhões de pessoas desenvolveram TB no mundo. A incidência aumentou 3,9% entre 2020 e 2022, revertendo as quedas de 2% ao ano, registradas nos anos anteriores. A maioria das pessoas que desenvolveram TB em 2022 localizavam-se nas regiões do Sudeste Asiático (45%), África (23%) e Pacífico Ocidental (18%), com menores proporções no Mediterrâneo Oriental (8,1%), Américas (3,1%) e Europa (2,2%). Trinta países com elevadas taxas de TB representam 87% de todos os casos no mundo, sendo que oito desses países, concentram mais de dois terços do total global: Índia, Indonésia, China, Filipinas, Paquistão, Nigéria, Bangladesh e República Democrática do Congo. Quanto a mortalidade, houve um total de 1,30 milhão de óbitos mundialmente atribuídos a TB, sendo 1,13 milhão entre indivíduos soronegativos para HIV e 167.000 entre indivíduos soropositivos para HIV (WHO, 2023).

Em 2022, o Brasil registrou 78.057 casos novos de TB, com uma incidência de 36,3 casos por 100 mil habitantes. O coeficiente de mortalidade no Brasil estava reduzindo lentamente ao longo dos anos, porém, em 2021, essa tendência mudou, quando foram registrados 5.072 óbitos, com um coeficiente de 2,38 óbitos por 100 mil habitantes. A última vez que o Brasil registrou número de óbitos acima de 5 mil foi no ano de 2002 (Brasil, 2023).

No estado do Mato Grosso do Sul (MS), em 2022, foram registrados 1.394 casos novos de TB, com uma incidência de 47,1 por 100 mil habitantes, dentre os estados da região Centro-Oeste, o MS foi o estado com maior número de casos novos de TB em 2022. Em 2021 foram registrados 50 óbitos, correspondendo a um coeficiente de mortalidade de 1,8 por 100 mil

habitantes, representando o segundo maior coeficiente de mortalidade da região Centro-Oeste (Brasil, 2023).

2.3 Tuberculose na população privada de liberdade (PPL)

Uma meta-análise realizada em 2021, demonstrou que as taxas de incidência de TB na PPL são consistentemente mais altas quando comparadas com a população geral, variando de 4,1 casos na América do Norte a 26,9 casos na América do Sul, com uma taxa média de 10 casos em todo o mundo (Cords *et al.*, 2021). Apesar de todos os esforços para diminuir a carga global da doença, sua incidência continua alta. Desta forma, é prioridade que seja realizada a identificação de grupos de alto risco, que devem ser alvos de intervenções de controle da TB (Cords *et al.*, 2021).

A tendência de casos de TB na América do Sul é impulsionada pelo Brasil. Entre os anos de 2011 a 2017, o Brasil foi responsável por 45% do aumento de casos de TB nas prisões (Walter *et al.*, 2021). A PPL do Brasil é a terceira maior do mundo com mais 800.000 indivíduos privados de liberdade (JUSBASIL, 2022). A maioria dos indivíduos privados de liberdade são homens jovens e, o aumento de casos de TB neste grupo, cresceu progressivamente nos últimos anos, devido ao aumento no número de casos da doença e o crescimento acelerado da PPL (Li *et al.*, 2022).

As prisões funcionam como reservatórios da doença e amplificadores da transmissão do *Mtb* (Sacchi *et al.*, 2015). A transmissão pode ocorrer por meio do contato com a equipe da prisão, visitantes e presos libertados, que por sua vez podem contribuir para a propagação da TB na população geral (Dara *et al.*, 2015; Mabud *et al.*, 2019). A transmissão da TB nos presídios é comum e os privados de liberdade possuem alto risco em desenvolver a doença, devido a fatores como a superlotação, a alta prevalência de fatores em níveis individuais, a falta de acesso a serviços de diagnóstico e tratamento, assim como a má ventilação, o uso de drogas, álcool e mau estado nutricional (Reys; Coninx, 1997; Urrego *et al.*, 2015; Cords *et al.*, 2021).

As prisões no Brasil apresentam condições que facilitam a amplificação de casos de TB entre os privados de liberdade e consequentemente na população geral. Indivíduos entram na prisão com baixo risco de adquirir TB, esse risco aumenta rapidamente ao longo de 5 anos, alcançando um pico de mais de 1.300 casos por 100.000 pessoas-ano, ou 30 vezes maior do que a população geral. Após o período de reclusão, esses indivíduos têm um risco quase 5,5 vezes maior de ter TB do que a população geral, esse risco permanece elevado durante 7 anos. Portanto, concentrar intervenções nas prisões podem gerar efeitos importantes na redução de casos de TB na população geral (Mabud *et al.*, 2019).

2.4 Testes diagnósticos para detecção de TB

2.4.1 Testes baseados em escarro

Dentre os diversos testes diagnósticos para a detecção de TB, existem métodos baseados em escarro e os não baseados em escarro (Drain *et al.*, 2019). Os principais testes diagnósticos para detecção de TB incluem baciloscopia de escarro, métodos baseados em cultura e testes rápidos moleculares (WHO, 2021). A baciloscopia identifica bacilos álcool-ácido resistente (BAAR), pelo método de Ziehl Nielsen. A baciloscopia é uma técnica barata e pode ser realizada sob condições mínimas de biossegurança e, desde que executada corretamente, permite detectar de 60% a 80% dos casos de TB pulmonar (WHO, 2014; Brasil, 2011). A principal limitação da baciloscopia é a baixa sensibilidade em relação a cultura, limitando o diagnóstico de casos paucibacilares e gerando resultados falsos negativos. O teste também não possui capacidade para diferenciar as espécies de micobactérias, além de não detectar a viabilidade dos bacilos (Chopra; Singh, 2020).

A cultura é um método de diagnóstico de elevada sensibilidade e especificidade. Os métodos clássicos utilizados na detecção de micobactérias compreendem a utilização de semeadura de amostras em meios de cultura sólidos a base de ovos, como o Lowenstein-Jensen, e Ogawa-Kudoh (Natarajan *et al.*, 2020; Saktiawati *et al.*, 2019). Além dos meios sólidos, podem também serem utilizados meios líquidos. A vantagem do meio líquido é que a detecção do crescimento bacteriano pode levar de 9 a 14 dias, enquanto os meios de base sólida, levam de 14 a 30 dias, podendo se estender por até oito semanas (Natarajan *et al.*, 2020).

O teste rápido molecular para TB (TRM-TB) é um teste de amplificação de ácidos nucleicos, utilizado para a detecção de DNA dos bacilos do complexo *Mtb* e de cepas resistentes à rifampicina, através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real (Yan; Xiao; Zhang, 2016). O desenvolvimento do ensaio Xpert MTB/RIF para a plataforma GeneXpert® foi finalizado em 2009. Trata-se de um teste simples, robusto, de fácil aplicabilidade para ser introduzido fora do ambiente laboratorial convencional, além de ter uma sensibilidade em adultos de 90% na detecção da TB e 95% na detecção de resistência a rifampicina (WHO, 2014; Brasil, 2019).

O Xpert apresenta algumas limitações na determinação de resistência à rifampicina e possui uma sensibilidade diminuída para detecção de amostras com baciloscopia negativa, incluindo casos de HIV positivo. Para superar essas limitações, foi desenvolvido o ensaio Xpert MTB/RIF Ultra, que utiliza a mesma plataforma GeneXpert® do Xpert MTB/RIF. O Xpert Ultra incorpora dois alvos diferentes de amplificação de múltiplas cópias (IS6110 e IS1081), além de possuir um limite de detecção de 16 unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL)

em comparação com 114 UFC/mL para o Xpert MTB/RIF. Além das categorias semiquantitativas já utilizadas no Xpert MTB/RIF (alta, média, baixa e muito baixa), o Xpert Ultra possui a adição de uma nova categoria denominada ‘traço’, que equivale a carga bacilar mais baixa para a detecção de *Mtb* (Chakravorty *et al.*, 2017; WHO, 2017).

2.4.2 Testes não baseados em escarro

A radiografia de tórax (raio-X) é um método diagnóstico de extrema importância na investigação da TB. O exame deve ser solicitado para todos os pacientes com suspeita clínica da doença (Brasil, 2011). O raio-X de tórax é utilizado como auxílio diagnóstico para detectar TB pulmonar, mas não consegue detectar TB latente e não fornece nenhum diagnóstico etiológico da doença (Acharya *et al.*, 2020). Concomitantemente a radiografia de tórax sempre deve ser utilizado testes laboratoriais como cultura, baciloscopia e/ou TRM na tentativa de obter o diagnóstico bacteriológico da TB (Brasil, 2019). Nos últimos anos foram introduzidos pacotes de software de detecção auxiliada por computador (CAD) para automatizar a interpretação de imagens digitais de raio-X e gerar uma pontuação numérica indicando a probabilidade de TB (WHO, 2021; Soares *et al.*, 2023).

O teste protótipo ainda em fase de estudo Xpert MTB-Host-Response (Xpert-MTB-HR) Cepheid (Sunnyvale, CA, EUA) é um ensaio de RT-PCR baseado em cartucho, desenvolvido para uso na plataforma GeneXpert®, que utiliza amostras de sangue total para quantificar níveis relativos de RNAm de 3 genes (Moreira *et al.*, 2021), (*GBP5* [Guanylate Binding Protein 5], *DUSP3* [Dual Specificity Protein Phosphatase 3] e *KLF2* [Kruppel-like factor 2]) previamente descritos (Sweeney *et al.*, 2016). O teste calcula um score de TB utilizando um algoritmo embutido com base nos valores de limite de ciclo (Ct) (Sutherland *et al.*, 2022).

O potencial uso de máscaras faciais, tem sido explorado em estudos preliminares para coletar e avaliar a saída de aerossol expelidos de casos suspeitos e diagnosticados de TB. A utilização de máscaras faciais fornece uma abordagem simples e não invasiva que pode ser utilizada para determinar o padrão de expectoração (Williams *et al.*, 2014). Um estudo piloto de busca ativa de casos de TB utilizou máscaras faciais contendo uma matriz de amostragem de álcool polivinílico (PVA), os participantes do estudo usaram a máscara por 30 minutos, após a utilização, a matriz foi processada e analisada diretamente utilizando o Xpert MTB/RIF Ultra. Os resultados da amostragem por máscara facial possibilitaram o diagnóstico de TB até 6 semanas antes do diagnóstico convencional pelo escarro (Williams *et al.*, 2020).

O nariz eletrônico (e-Nose) é um método de medição não invasivo, que tem sido estudado como um método promissor para identificar TB através da respiração exalada. Para o

sistema e-Nose, os participantes respiram normalmente na câmara do aparelho, o exalado da respiração é captado por sensores que detectam gases de compostos orgânicos voláteis (VOCs) liberados durante a respiração exalada, os dados obtidos da respiração são processados por métodos de processamento de sinal, filtragem e normalização dos dados que são interpretados através de um software (Hendrick *et al.*, 2021).

A detecção de lipoarabinomanano (LAM) na urina é realizada através de teste rápido ou pelo teste de fluxo lateral, ambos com tempo de resposta curto para a detecção de TB. O *Mtb* possui uma parede celular com diversas moléculas a base de lipídios, que criam uma superfície ‘cerosa’ e, um dos principais componentes que constitui esse envelope celular é o lipoarabinomanano, que representa até 15% da massa bacteriana (Bulterys *et al.*, 2019). O LAM é um glicolípido específico do *Mtb* que é liberado por bactérias metabolicamente ativas, é filtrado pelos rins e encontra-se em indivíduos com TB ativa (Parsons *et al.*, 2011).

2.5 Qualidade das amostras de escarro e o diagnóstico de TB

O escarro expectorado é o material mucoso dos pulmões, produzido através da tosse. É a amostra considerada ideal para o diagnóstico de TB, devido ao seu método de coleta não ser invasivo para o paciente. Especialmente para a realização da cultura, o escarro purulento é considerado melhor, devido aos seus níveis elevados de lipídios, DNA e proteínas não mucinas (Orina *et al.*, 2019). Amostras de escarro que contêm somente saliva não são consideradas as melhores escolhas para o diagnóstico da TB (Brasil, 2011).

Amostra de escarro obtida por expectoração, continua a ser a amostra preferida para a detecção de *Mtb* (Orina *et al.*, 2019). No contexto da doença pulmonar é muito comum à obtenção de uma única amostra de escarro, enviada para a realização do TRM, entretanto, nos estágios iniciais da doença, a tosse pode estar ausente ou improdutivo por natureza, a eliminação do bacilo nas secreções respiratórias pode ser limitada, tendo como resultado amostras de baixa qualidade (Esmail *et al.*, 2022).

A coleta de amostras de escarro para o diagnóstico de TB pulmonar apresenta diversos desafios. Primeiro, a tosse, durante a expectoração ou a indução do escarro, pode gerar aerossóis gerando risco para o profissional de saúde, em segundo lugar, algumas pessoas não conseguem produzir escarro, incluindo crianças, indivíduos com tosse seca e os que estão gravemente doentes e indivíduos com HIV (Byanyima *et al.*, 2022).

A qualidade do escarro coletado para diagnóstico de TB não é rotineiramente avaliada, embora isso possa ter um impacto na probabilidade de um teste diagnóstico com resultado positivo. O desempenho ideal dos testes diagnósticos depende da adequação das amostras de

escarro. Amostras de boa qualidade, ou seja, escarro expectorado das bases pulmonares, potencializa as chances de se obter um diagnóstico de TB mais preciso (Ho; Marks; Fox, 2015). Algumas vantagens da triagem visual do escarro é que ela pode ser recomendada em estabelecimentos com recursos limitados, além de ser um procedimento rápido que pode ser realizado imediatamente após o recebimento da amostra (Bhat *et al.*, 2014).

O ministério da saúde estabelece orientações para coleta adequada de amostras de escarro. Primeiramente o paciente é instruído a inspirar profundamente, retendo o ar por alguns segundos e em seguida expirar, esse procedimento é realizado por no mínimo três vezes, após a execução, o paciente é orientado a tossir e imediatamente expectorar a secreção dentro do pote coletor, essa orientação pode ser repetida até que um volume adequado da amostra seja atingido (5 a 10mL) (Brasil, 2014). Até o momento não existe um protocolo padrão para a avaliação macroscópica da qualidade do escarro que considere tanto a cor quanto a viscosidade da amostra, é possível que, através da avaliação desses dois parâmetros, seja possível correlacionar a gravidade da doença pulmonar com a presença ou a ausência do *Mtb* (Ho *et al.*, 2016).

Alguns estudos demonstraram que a aparência macroscópica e o volume do escarro foram associados a positividade da baciloscopia (Bhat *et al.*, 2014; Yoon; Lee; Yim, 2012). Um estudo prospectivo demonstrou que, a qualidade do escarro pode apresentar uma forte associação com a presença ou ausência de *Mtb* no escarro utilizado para a realização de baciloscopia e cultura, o mesmo não ocorreu com o TRM, que superou a cultura micobacteriana na detecção de *Mtb* em amostras salivares (Shi *et al.*, 2018).

Outros dados mostram um aumento no rendimento de resultados positivos no Xpert usando amostras salivares, além das amostras mucopurulentas, consideradas ótimas para o processamento (Mulengwa; Monyama; Lebelo, 2022; Zimba *et al.*, 2019). Um estudo realizado em Uganda demonstrou que a sensibilidade diagnóstica do Xpert, foi significativamente maior em amostras salivares em relação à expectoração mucóide, esses resultados foram consistentes quando comparados com a cultura micobacteriana (Meyer *et al.*, 2017).

Algumas razões podem ser consideradas para explicar o rendimento do Xpert na detecção de TB em amostras salivares. Uma delas seria a capacidade do Xpert em detectar facilmente o DNA do *Mtb* em amostras com baixa carga bacilar, ou pela amplificação mais eficiente do DNA em amostras salivares em comparação a outros tipos de escarro, como por exemplo, o escarro manchado de sangue, que poderia atuar como um inibidor na amplificação do DNA (Mulengwa; Monyama; Lebelo, 2022; Zimba *et al.*, 2019).

Os estudos que avaliam a qualidade do escarro e a positividade do Xpert fora dos estabelecimentos de saúde são escassos e seus resultados são heterogêneos. Nesse contexto, realizou-se um estudo para preencher uma importante lacuna, visando compreender o quanto a qualidade do escarro interfere no resultado semiquantitativo do teste rápido molecular GeneXpert®MTB/RIF, no contexto de triagem em massa de TB na prisão.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar o impacto da qualidade do escarro expectorado espontaneamente, na positividade do teste molecular GeneXpert® MTB/RIF Cepheid, durante triagem em massa.

3.2 Específicos

- Correlacionar a qualidade do escarro com o desempenho do teste rápido molecular.
- Avaliar a concordância da caracterização macroscópica do escarro entre dois observadores.
- Avaliar a positividade do GeneXpert MTB/RIF de acordo com as características demográficas e clínicas dos participantes.
- Analisar a sensibilidade e efeitos do tipo de cartucho GeneXpert MTB/RIF na relação entre a qualidade do escarro e a positividade do teste.

4. REFERÊNCIAS

A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Disponível em: <https://www.R-project.org>. Acesso em: 15 set de 2023.

ACHARYA, B. et al. Advances in diagnosis of Tuberculosis: an update into molecular diagnosis of Mycobacterium tuberculosis. **Molecular Biology Reports**, v. 47, n. 5, p. 4065–4075, maio 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011. Disponível em: [manual_recomendacoes_controle_tuberculose_brasil.pdf](#) (saude.gov.br). Acesso em: 24 de maio de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Guia de Orientação para a Coleta de Escarro**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: <https://www.gov.br/aids/pt-br/central-de-conteudo/publicacoes/2022/guia-de-orientacoes-para-coleta-de-escarro>. Acesso em: 15 de fev de 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2019/manual-de-recomendacoes-para-o-controle-da-tuberculose-no-brasil>. Acesso em: 24 maio de 2022.

BRASIL. Boletim epidemiológico. Secretaria de Vigilância em Saúde: Ministério da Saúde, 2023. Disponível em: Boletim Epidemiológico de Tuberculose – 2023 — Departamento de HIV/Aids, Tuberculose, Hepatites Virais e Infecções Sexualmente Transmissíveis (www.gov.br). Acesso em: 08 set de 2023.

BAUSSANO, I. et al. Tuberculosis Incidence in Prisons: A Systematic Review. **PLoS Medicine**, v. 7, n. 12, p. e1000381, 21 dez. 2010.

BHAT, J. et al. Impact of sputum quality and quantity on smear and culture positivity: findings from a tuberculosis prevalence study in central India. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 108, n. 1, p. 55–56, 1 jan. 2014.

BULTERYS, M. A. et al. Point-Of-Care Urine LAM Tests for Tuberculosis Diagnosis: A Status Update. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 1, p. 111, 31 dez. 2019.

BYANYIMA, P. et al. Feasibility and Sensitivity of Saliva GeneXpert MTB/RIF Ultra for Tuberculosis Diagnosis in Adults in Uganda. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 5, p. e00860-22, 26 out. 2022.

CADENA, A. M.; FORTUNE, S. M.; FLYNN, J. L. Heterogeneity in tuberculosis. **Nature Reviews Immunology**, v. 17, n. 11, p. 691–702, nov. 2017.

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. e00812-17, 6 set. 2017.

CHOPRA, K. K.; SINGH, S. Tuberculosis: Newer diagnostic tests: Applications and limitations. **Indian Journal of Tuberculosis**, v. 67, n. 4, p. S86–S90, dez. 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, maio 2021.

CRUZ-KNIGHT, W.; BLAKE-GUMBS, L. Tuberculosis. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, v. 40, n. 3, p. 743–756, set. 2013.

DARA, M. et al. Tuberculosis control in prisons: current situation and research gaps. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 32, p. 111–117, mar. 2015.

DELOGU, G.; SALI, M.; FADDA, G. THE BIOLOGY OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS INFECTION. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, v. 5, n. 1, p. e2013070, 15 nov. 2013.

DRAIN, P. K. et al. Guidance for Studies Evaluating the Accuracy of Biomarker-Based Nonsputum Tests to Diagnose Tuberculosis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 220, n. Supplement_3, p. S108–S115, 8 out. 2019.

ESMAIL, H. et al. Mind the gap – Managing tuberculosis across the disease spectrum. **eBioMedicine**, v. 78, p. 103928, abr. 2022.

HENDRICK, H. et al. Non-Invasive Method for Tuberculosis Exhaled Breath Classification Using Electronic Nose. **IEEE Sensors Journal**, v. 21, n. 9, p. 11184–11191, 1 maio 2021.

HO, J. et al. The role of macroscopic sputum quality assessments to optimise sputum testing for tuberculosis. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 20, n. 3, p. 319–322, 1 mar. 2016.

HO, J.; MARKS, G. B.; FOX, G. J. The impact of sputum quality on tuberculosis diagnosis: a systematic review. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 19, n. 5, p. 537–544, 1 maio 2015.

LAWN, S. D.; ZUMLA, A. I. Tuberculosis. **The Lancet**, v. 378, n. 9785, p. 57–72, jul. 2011.

LI, Y. et al. Excess tuberculosis cases and deaths following an economic recession in Brazil: an analysis of nationally representative disease registry data. **The Lancet Global Health**, v. 10, n. 10, p. e1463–e1472, out. 2022.

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, 24 jan. 2019.

MARTINEZ, L. et al. Global, regional, and national estimates of tuberculosis incidence and case detection among incarcerated individuals from 2000 to 2019: a systematic analysis. **The Lancet Public Health**, v. 8, n. 7, p. e511–e519, jul. 2023.

MEYER, A. J. et al. Sputum quality and diagnostic performance of GeneXpert MTB/RIF among smear-negative adults with presumed tuberculosis in Uganda. **PLOS ONE**, v. 12, n. 7, p. e0180572, 7 jul. 2017.

MOREIRA, F. M. F. et al. Blood-based host biomarker diagnostics in active case finding for pulmonary tuberculosis: A diagnostic case-control study. **EClinicalMedicine**, v. 33, p. 100776, mar. 2021.

MULENGWA, D. L.; MONYAMA, M. C.; LEBELO, S. L. Evaluation of the GeneXpert MTB/RIF assay performance in sputum samples with various characteristics from presumed pulmonary tuberculosis patients in Shiselweni region, Eswatini. **Infectious Diseases**, v. 54, n. 3, p. 170–177, 4 mar. 2022.

NATARAJAN, A. et al. A systemic review on tuberculosis. **Indian Journal of Tuberculosis**, v. 67, n. 3, p. 295–311, jul. 2020.

ORINA, F. et al. Intrinsic and extrinsic factors associated with sputum characteristics of presumed tuberculosis patients. **PLOS ONE**, v. 14, n. 12, p. e0227107, 27 dez. 2019.

PAI, M. et al. Tuberculosis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 2, n. 1, p. 16076, 27 out. 2016.

PARSONS, L. M. et al. Laboratory Diagnosis of Tuberculosis in Resource-Poor Countries: Challenges and Opportunities. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 2, p. 314–350, abr. 2011.

PETER, J. G. et al. Comparison of two methods for acquisition of sputum samples for diagnosis of suspected tuberculosis in smear-negative or sputum-scarce people: a randomised controlled trial. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 1, n. 6, p. 471–478, ago. 2013.

População Carcerária no Brasil. **JusBrasil**, 2022. Disponível em: <https://gabrielporteadv9566.jusbrasil.com.br/artigos/1475394014/populacao-carceraria-no-brasil>. Acesso em: 30 jul de 2023.

REYES, H.; CONINX, R. Pitfalls of tuberculosis programmes in prisons. **British Medical Journal**, [s. l.], v. 315, n. 7120, p. 1447–1450, 1997.

SACCHI, F. P. C. et al. Prisons as Reservoir for Community Transmission of Tuberculosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 3, p. 452–455, mar. 2015.

SAKTIAWATI, A. M. I. et al. Diagnosis of tuberculosis through breath test: A systematic review. **EBioMedicine**, v. 46, p. 202–214, ago. 2019.

SAKULA, A. Robert Koch: centenary of the discovery of the tubercle bacillus, 1882. **Thorax**, v. 37, n. 4, p. 246–251, 1 abr. 1982.

SHI, J. et al. GeneXpert MTB/RIF Outperforms Mycobacterial Culture in Detecting *Mycobacterium tuberculosis* from Salivary Sputum. **BioMed Research International**, v. 2018, p. 1–5, 2018.

SOARES, T. R. et al. Evaluation of chest X-ray with automated interpretation algorithms for mass tuberculosis screening in prisons: a cross-sectional study. **The Lancet Regional Health - Americas**, v. 17, p. 100388, jan. 2023.

SULIS, G. et al. TUBERCULOSIS: EPIDEMIOLOGY AND CONTROL. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, v. 6, n. 1, p. e2014070, 27 out. 2014.

SUTHERLAND, J. S. et al. Diagnostic Accuracy of the Cepheid 3-gene Host Response Fingerstick Blood Test in a Prospective, Multi-site Study: Interim Results. **Clinical Infectious Diseases**, v. 74, n. 12, p. 2136–2141, 6 jul. 2022.

SWEENEY, T. E. et al. Genome-wide expression for diagnosis of pulmonary tuberculosis: a multicohort analysis. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 4, n. 3, p. 213–224, mar. 2016.

The top 10 causes of death. **World Health Organization**, 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>. Acesso em: 08 jul de 2022.

URREGO, J. et al. The impact of ventilation and early diagnosis on tuberculosis transmission in Brazilian prisons. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 93, n. 4, p. 739–746, 2015.

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

WILLIAMS, C. M. et al. Exhaled Mycobacterium tuberculosis output and detection of subclinical disease by face-mask sampling: prospective observational studies. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 20, n. 5, p. 607–617, maio 2020.

WILLIAMS, C. M. L. et al. Face Mask Sampling for the Detection of Mycobacterium tuberculosis in Expelled Aerosols. **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, p. e104921, 14 ago. 2014.

WORD HEALTH ORGANIZATION. **Treatment of tuberculosis: guidelines**. Geneva. World Health Organization. 2014. Disponível em: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/44165/9789241547833_eng.pdf?sequence=1. Acesso em: 15 de fev de 2024.

WORD HEALTH ORGANIZATION. **Systematic screening for active tuberculosis: principles and recommendation**. Geneva. World Health Organization. 2013. Disponível em: Systematic Screening for Active Tuberculosis: Principles and Recommendations - NCBI Bookshelf (nih.gov). Acesso em: 19 jun de 2023.

WORD HEALTH ORGANIZATION. **Xpert MTB/RIF implementation manual: technical and operational ‘how-to’; practical considerations**. Geneva. World Health Organization.

2014. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112469>. Acesso em: 19 jun de 2023.

WORD HEALTH ORGANIZATION. **Who meeting report of a technical expert consultation: non-inferiority analysis of Xpert MTB/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF**. Geneva. World Health Organization. 2017. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/254792>. Acesso em: 20 de junh de 2023.

WORD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis report**. Geneva. World Health Organization. 2021. Disponível em: Global tuberculosis report 2021 (who.int). Acesso em: 20 jun de 2023.

WORD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis report**. Geneva. World Health Organization. 2022. Disponível em: Global Tuberculosis Report 2022 (who.int). Acesso em: 08 set de 2023.

WORD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis report**. Geneva. World Health Organization. 2023. Disponível em: Global tuberculosis report 2023 (who.int). Acesso em: 15 fev de 2024.

YAN, L.; XIAO, H.; ZHANG, Q. Systematic review: Comparison of Xpert MTB/RIF, LAMP and SAT methods for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. **Tuberculosis**, v. 96, p. 75–86, jan. 2016.

YOON, S. H.; LEE, N. K.; YIM, J. J. Impact of sputum gross appearance and volume on smear positivity of pulmonary tuberculosis: a prospective cohort study. **BMC Infectious Diseases**, v. 12, n. 1, p. 172, dez. 2012.

ZIMBA, O. et al. The effect of sputum quality and volume on the yield of bacteriologically-confirmed TB by Xpert MTB/RIF and smear. **Pan African Medical Journal**, v. 33, 2019.

5. APÊNDICES

Artigo: The impact of sputum quality on Xpert positivity in active case-finding for TB.

Esse artigo foi publicado na revista: The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease (Fator de Impacto: 4,0, Qualis A2).

Link com as normas da revista: <https://theunion.org/House%20Style%20Guide.pdf/sites/default/files/202103/>

Authors:

Bruna Oliveira da Silva^{*1,2}, Argita D. Salindri^{*3}, Thais Oliveira Gonçalves⁴, Eunice Atsuko Totumi Cunha⁴, Andrea da Silva Santos¹, Paulo Cesar Pereira dos Santos⁵, Isabella Beatriz Gonçalves Lemes⁵, Dâmaris Porto Batestin Silva⁵, Valeria da Silva Oliveira⁴, Julio Croda^{†5,6,7}, Roberto Dias de Oliveira^{†2,8}, Jason R. Andrews^{†3}

Affiliations:

1. Health Sciences Research Laboratory, Federal University of Grande Dourados, Dourados, Brazil
2. Graduate Program in Health Sciences, Federal University of Grande Dourados, Dourados, Brazil
3. Division of Infectious Diseases and Geographic Medicine, Department of Medicine, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA, United States of America
4. Laboratory of Bacteriology, Central Laboratory of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brazil
5. School of Medicine, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brazil

6. Oswaldo Cruz Foundation, Campo Grande, MS, Brazil
7. Department of Epidemiology of Microbial Diseases, Yale University School of Public Health, New Haven, CT, United States of America
8. Nursing Course, State University of Mato Grosso do Sul, Dourados, Brazil

*These authors contributed equally to this work as co-first authors

†These authors contributed equally to this work as co-senior authors

ABSTRACT

Background: Studies evaluating sputum quality and Xpert® MTB/RIF positivity in the context of active case finding are scarce. We aimed to determine whether sputum quality is associated with Xpert positivity and whether the association differed according to demographic and clinical characteristics.

Methods: A cross-sectional analysis using data from a mass screening programme in Brazilian prisons was conducted in 2017–2021. We administered a standardised questionnaire, obtained a chest X-ray and collected a spot sputum sample for Xpert testing. Sputum quality was classified as ‘salivary’, ‘mucoid/mucopurulent’ or ‘blood-stained’. We used log binomial regressions to estimate the relationship between sputum quality and Xpert positivity, assessing interactions with participant characteristics.

Results: Among 4,368 participants for whom sputum quality was assessed, 957 (21.9%) produced salivary specimens, 3,379 (77.4%) had mucoid/mucopurulent sputum and 32 (0.7%) had blood-stained sputum. Xpert positivity was higher among those with mucoid/mucopurulent sputum than among those with salivary samples (12.0% vs. 3.7%). Mucopurulent sputum independently predicted Xpert positivity among individuals with and without symptoms, current smoking and abnormal chest radiographs on CAD4TB.

Conclusions: In our study, sputum appearance independently predicted Xpert positivity, and could be used together with chest X-ray and symptom screening to inform use of Xpert in individual or pooled testing.

Keywords: sputum quality; Xpert; tuberculosis; prison mass screening

BACKGROUND

It is estimated that 10.6 million people worldwide developed tuberculosis (TB) in the year 2021, and there has been an increase in TB notification rate after a substantial drop reported in 2020.¹ To note, TB mortality rate constantly increased for the first time in over a decade since 2020, likely due to COVID-19 pandemic which led to interruptions in TB care and management (including diagnosis and treatment delays).¹ Identifying the more than 3 million individuals with undiagnosed TB and providing access to treatment is critical to reversing these setbacks in achieving the global EndTB targets.^{2, 3} While a systematic review reported a low and inconsistent yield of TB active case-finding (ACF) efforts in the community,³ results may be different if done in high-risk populations, including among those with HIV co-infection, individuals living under the poverty line or persons deprived of liberty (PDL).^{4,5} However, to be scalable in settings with constrained resources, there is a need to identify efficient strategies for screening that enables confirmatory testing to be targeted at the highest risk individuals.

Sputum characteristics might be predictive of positivity by TB diagnostics. Prior studies have found that sputum quality and volume are associated with smear and culture positivity.⁶⁻⁹ However, studies assessing the association between sputum quality and Xpert[®] MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA) positivity have yielded inconsistent results.^{10, 11} For example, a study conducted in a hospital setting in Uganda demonstrated that the diagnostic sensitivity of Xpert was significantly higher in salivary samples than in mucoid sputum, when compared with mycobacterial culture.¹⁰ Conversely, a similar study conducted in Ethiopian healthcare facilities

reported that the highest Xpert positivity rate was reported among blood-stained samples, followed by purulent, salivary, and mucoid samples,¹¹ although the differences were not statistically significant. There is a paucity of studies evaluating sputum quality and Xpert positivity in the context of AFC outside of healthcare facilities. In such settings, participants are less likely to be symptomatic, less likely to have alternative pulmonary infections (e.g. bacterial pneumonia) and may be tested in earlier stages of TB; all of these may alter sputum characteristics and the relationship between sputum and Xpert positivity.

Although results from a single Xpert test need to be interpreted with caution, especially among individuals with a prior history of TB, as polymerase chain reaction-based methods can detect DNA from non-viable *Mycobacterium tuberculosis* and previous studies suggested that individuals with a history of TB in the past 2 years may still have positive Xpert results in the absence of disease,^{12, 13} little is known about the association between sputum quality and Xpert positivity in the context of TB mass screening. To address this knowledge gap, we performed a cross-sectional study nested within a mass screening program in three high TB burden prisons in Brazil, with the aims of 1) investigating the relationship between the quality of the sputum sample and Xpert positivity; and 2) determining whether this relationship differs according to individuals' demographic and clinical characteristics.

METHODS

Study design

We conducted a cross-sectional analysis using data collected during a serial mass TB screening study among PDL from three prisons in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. The prisons included in the study were: Penitenciária Estadual de

Dourados (PED), Estabelecimento Penal Jair Ferreira de Carvalho (EPJFC) and Instituto Penal de Campo Grande (IPCG). These prisons incarcerate only adult men. Our previous study estimated a TB burden of 3.9% among the three prisons included in this study; an estimated 1.9% of PDLs with TB had HIV co-infection.¹⁴ As prior studies and surveillance data have found very few TB cases in women's prisons in this state, the women's prisons were not included in this study.¹⁵ Data were collected between November, 2017 and August, 2021.

Samples collection and processing, study measures

All PDL were invited to participate in the study, and those who agreed and provided informed consent were included. A structured questionnaire was administered to collect sociodemographic and clinical information. We also collected established TB risk factors including any illicit drugs, smoking status, and previous TB history. "Any illicit drug use" was defined as a self-reported history of taking the following: marijuana, cocaine, crack, heroine, inhalant, cocaine base paste, hashish, or injectable drugs. Smoking status was categorized into "never smoker", "past smoker", and "current smoker."

Each participant was then asked to provide a sputum sample of at least 2 mL. Verbal instructions were provided by study nurses according to Brazilian Ministry of Health guidelines on sputum collection.¹⁶ Samples were transported to the mycobacteriology laboratory, where a technician visually classified the macroscopic appearance of the sputum as 1) mucoid or mucopurulent, 2) salivary, and 3) blood-stained. As there was a small number of blood-stained samples, we limited our primary analyses to those with either salivary or mucoid/mucopurulent samples. After sputum sample classification, rapid molecular testing was performed following the

manufacturer's specifications. Of note, the Brazilian National TB Programme (NTP) transitioned from using fourth-generation Xpert MTB/RIF (Xpert G4) to next-generation Xpert MTB/RIF Ultra (Ultra) cartridges in 2019 following WHO recommendation.¹⁷ Samples collected from November 2019 onward were tested using Ultra.

Participants also underwent chest radiography, and the results were evaluated using computer-aided detection for TB (CAD4TB; Thirona, Nijmegen, The Netherlands) software v5. CAD4TB score was categorized as “<60” and “≥60” as previously described.¹⁴ All data obtained during the course of the study were stored in the Research Electronic Data Capture (REDCap®; Vanderbilt University, Nashville TN, USA) database for further analysis.

Statistical analysis

We performed χ^2 and Wilcoxon rank-sum tests to assess the bivariate association between individuals characteristics and sputum sample type as well as Xpert positivity. Log binomial regression models were used to estimate the prevalence ratio comparing TB positivity among those who provided mucoid/mucopurulent sample to those who provided salivary sample. Stratified analyses were performed by including interaction term to assess the joint effect of demographic and clinical characteristics (e.g., previous TB history, current smoking status, CAD4TB score, and any indication of TB symptoms) and sputum quality to predict TB positivity. To assess the reliability and reproducibility of sputum classification, two laboratory study team members independently assessed and reported the sputum quality of 120 consecutive samples. Agreement between their classification was very high (Cohen's κ 0.830). Finally, we performed a sensitivity analysis to evaluate the cohort effect due to the update from

Xpert G4 to Xpert Ultra (Supplementary Table S1). All analyses were performed in R (R Computing, Vienna, Austria), with $\alpha < 0.05$ considered statistically significant.

Ethical approvals

The study was approved by the National Research Ethics Committee (Brasilia DF, Brazil; CAAE 37237814.4.1001.5160), Federal University of Grande Dourados (UFGD; Dourados, MS, Brazil), and Stanford University (Stanford, CA, USA). All participants provided written informed consent prior to study participation.

RESULTS

Study population and characteristics

Of the 11,049 participants screened from 2017 – 2021, 4,368 (39.5%) had their sputum quality assessed and Xpert performed. Among these, 957 (21.9%) had salivary sputum, 3,379 (77.4%) had mucoid/mucopurulent sputum, and 32 (0.7%) had blood-stained sputum. Given the small number of participants with blood-stained sputum, we focused our analyses on those with mucoid/mucopurulent or salivary samples ($n=4,336$). Most study participants were 18 – 29 years old (49.4%). Current smoking was common and reported among 74.9% of participants. The overall prevalence of any-drug use and any TB symptoms were respectively 59.5% and 38.9% (Table 1).

Factors associated with sputum quality

Compared to individuals who provided a salivary sample, those who provided mucoid/mucopurulent sputum were more likely to report any illicit drug use (62.7% vs. 48.1%, $p < 0.001$), previous incarceration (70.8% vs. 60.8%, $p < 0.001$), previous TB episode (11.2% vs. 7.6%, $p = 0.001$), knowing someone with TB (61.3% vs. 45.5%,

$p < 0.001$), or a history of sharing cell with somebody with TB symptoms (36.2% vs. 27.5%, $p < 0.001$) (Table 1). Individuals who provided mucoid/mucopurulent sputum were more likely to have a CAD4TB score ≥ 60 than those who provided salivary sample (proportion ratio [PR]=1.35, 95%CI 1.19 – 1.54, $p < 0.001$). Furthermore, TB symptoms, including coughing for at least two weeks, were more common among those who provided mucoid/mucopurulent than those provided salivary (24.8% vs. 9.1%, $p < 0.001$).

The association between sputum quality and Xpert positivity

The overall Xpert positivity was 10.2% (95%CI 9.32 – 11.02). Xpert positivity was significantly higher among those who provided a mucoid/mucopurulent sample than those who provided salivary sample (12.0%, 95%CI 10.98 – 13.17 vs 3.7%, 95%CI 2.60 – 5.00; PR 3.29, 95%CI 2.38 – 4.69) (Table 2). Furthermore, sputum quality independently predicted Xpert positivity among individuals regardless of previous TB, current smoking status, or TB symptoms (statistical interaction $p > 0.05$) (Figure 1). The association between sputum quality and TB positivity rate was significantly different when comparing those with CAD4TB score ≥ 60 to those with CAD4TB score < 60 (statistical interaction $p = 0.036$). For example, among those with CAD4TB score < 60 , TB prevalence in those who provided mucoid/mucopurulent sample was 10.0 (95% CI 3.16 – 61.10) times the prevalence of those who provided salivary sample (Figure 1). Among those with CAD4TB score ≥ 60 , TB prevalence in those who provided mucoid/mucopurulent samples was 2.12 (95% CI 1.55 – 3.03) times the prevalence of those who provided salivary samples.

Furthermore, we found that the assessment of sputum quality and important TB risk factors combined could strongly predict Xpert positivity. For example, among those

who provided salivary samples and had CAD4TB score <60 , we found 0.3% Xpert positivity; whereas Xpert positivity was 31.2% among those who provided mucoid/mucopurulent samples and had CAD4TB score ≥ 60 (Figure 1). Similarly, among those who provided salivary samples and reported at least one TB symptom, Xpert positivity was 10.8%; while among those who provided mucoid/mucopurulent samples and reported no TB symptom, Xpert positivity was 13.5%. The same trend was observed for previous TB status and current smoking status. This may suggest that mucopurulent samples, even when collected from participants without any history of previous TB treatment, reported no TB symptoms, were non-smokers, and had CAD4TB score <60 could still be used to identify individuals with TB, and should thus be further screened using Xpert.

DISCUSSION

ACF in high-risk populations is an important component in the global strategy to reduce TB transmission and morbidity. A major barrier to ACF implementation is the resources required for testing; identifying screening strategies that can improve targeting of confirmatory testing to individuals at high-risk could make ACF more scalable. In a systematic screening study in high TB-burden prisons in Brazil, we found that sputum quality was predictive of Xpert positivity, and that this relationship held across key subgroups, including those with and without symptoms, X-ray abnormalities, smoking, and prior TB. However, the positivity among individuals with salivary samples was high, particularly among those with another risk factor, such as a CAD4TB score ≥ 60 . Considered together with recent studies showing that sputum pooling may be an efficient means to perform ACF in prisons and other high-risk settings,²⁰ our findings suggest that sputum quality could be utilised alongside other

demographic and clinical features to identify which individuals should undergo individual vs. pooled sputum testing.

In our study, we found that Xpert positivity was more than three times higher among mucoid/mucopurulent samples than among salivary samples. This finding differs from findings from a cross-sectional study from Uganda, which reported slightly higher Xpert positivity among participants who provided salivary samples than those who provided mucoid samples (19%, 95%CI 15 – 24 vs. 15%, 95%CI 13 – 17).¹⁰ An ACF study conducted in Vietnam found non-statistically higher positivity among salivary samples in a community-based ACF programme; however, this study only had 52 salivary samples and 1 Xpert positive case.¹⁸ A cross-sectional study conducted in Ethiopia reported that the Xpert positivity rates was non-significantly higher among purulent samples (proportion=7.7%, adjusted odds ratio [aOR] 1.39, 95%CI 0.50 – 3.88) but lower among mucoid samples (proportion=4.2%, aOR 0.71, 95%CI 0.23 – 15.00) when compared to salivary samples (proportion=6.1%).¹¹ Our study setting and population differed greatly from these earlier studies, which may explain the differences in our findings. As with many prisons, the population in our study was predominantly young men with high rates of established TB risk factors, including self-reported smoking, drug use, and TB exposures.

Of note, we found that assessment of sputum quality and established TB risk factors (e.g., previous TB history, smoking, abnormal chest X-ray findings, and any TB symptoms) together could improve predictive values for Xpert positivity. This information is critical to introduce of more efficient testing strategies, especially in high-risk and resourced-limited settings. For example, sputum pooling and testing with Xpert has emerged as a potentially efficient means for mass TB screening,^{19, 20} However, the optimal pool size varies according to prevalence. In settings with low prevalence

(<1%), larger pools (12-16 samples) may be optimal, whereas in those with 1-10% prevalence, moderate sized pools (4-8) are preferable. As prevalence increases, individual testing becomes more efficient. Our study results suggest that sputum quality assessment could be performed in tandem with pre-existing screening algorithms (e.g., symptom screening) to further reduce costs and workloads for more efficient testing methods and sample processing.

The results of our study should be interpreted within the context of several limitations. First, we excluded blood-stained samples, due to the small number of samples, and the combination of mucoid and mucopurulent samples in our analyses, limiting our ability to assess the independent predictive value of each sample type on Xpert positivity. Second, we evaluated spot sputum samples, which may differ from morning samples. Not all participants were able to produce a sample, and we were unable to perform sputum induction in this environment. As culture was performed in a minority of participants who had sufficient sputum, we were unable to assess Xpert positivity against a composite microbiologic reference standard. Third, we only collected one sputum sample per patient and were unable to perform sputum induction in the prison setting, which together precluded our ability to evaluate spot sputum collection against a higher quality sputum reference standard. This study should not be viewed as a diagnostic evaluation of sputum quality, as we did not employ comprehensive microbial reference testing, including collection of multiple samples and use of liquid cultures. Rather, we designed this study as a pragmatic evaluation of Xpert yield according to sputum characteristics when used for ACF. The findings of the study should be understood as indicative of the likelihood of a positive result in sputum samples, rather than as a measure of active TB based on a more comprehensive reference standard. Fourth, as indicated above, we used two different types of Xpert

cartridges (Xpert G4 and Ultra) during the study period as per changes in the Brazilian NTP. We did not identify evidence of effect mediation between Xpert cartridge type and the relationship between sputum quality and Xpert positivity.²¹ Finally, our study was conducted in prison settings where the TB burden is significantly higher than in the general population.^{22, 23} The PDL in our cohort, in particular, were more likely to be male and in younger age groups, commonly reported current smoking and illicit drug use, which are established TB risk factors. Thus, our results may not be generalizable to other settings with different population characteristics and TB prevalence.

In conclusion, we reported a high predictive value of mucoid/mucopurulent samples for Xpert positivity in the context of TB ACF in three high TB burden prisons. Xpert positivity was high even in salivary samples, particularly among individuals with established TB risk factors. Sputum quality had comparable predictive value to clinical characteristics commonly used in screening algorithms (symptoms, previous TB) and could be incorporated into such algorithms to better guide the use of individual or pooled confirmatory molecular testing. Such approaches could enable ACF to be more efficient and scalable in high TB burden communities.

DECLARATIONS AND ACKNOWLEDGEMENTS

Acknowledgments

The authors thank the Agência Estadual de Administração do Sistema Penitenciário (State Agency for the Administration of the Prison System) of the state of Mato Grosso do Sul) for their full support during the study period, the study participants for their kind cooperation during the data collection, process and the Laboratório Central de Saúde Pública de Mato Grosso do Sul (Central Public Health Laboratory of the State of Mato Grosso do Sul) for its support in the accomplishment of the laboratory tests. This study was supported by the National Institute of Allergy and Infectious Diseases at the US National Institutes of Health (NIH) (grant number R01 AI130058 to JRA, grant number R01 AI149620 to JRA and JC) and Brazilian National Council for Scientific and

Technological Development (CNPq-404182/2019-4 to JC). The content is solely the responsibility of the authors and does not necessarily represent the official views of the NIH.

Competing interest

We have no conflict of interest to declare.

Authors contributions

JRA and JC conceived the study design. BdS and RdO collected the data. TG, EC, AdSS, PdS, IL, DS, VO assisted with the data collection process. ADS performed the analyses. ADS and JRA interpreted the results. BdS, RdO, ADS, and JRA wrote the first draft of the manuscript. JC assisted with further drafting and revisions of manuscripts. All authors reviewed and approved the final version of the manuscript.

References

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2022. Geneva: World Health Organization; 2022.
2. Ortiz-Brizuela E, Menzies D. Tuberculosis active case-finding: looking for cases in all the right places? *The Lancet Public Health*. 2021;6(5):e261-e2.
3. Burke RM, Nliwasa M, Feasey HRA, Chaisson LH, Golub JE, Naufal F, et al. Community-based active case-finding interventions for tuberculosis: a systematic review. *The Lancet Public Health*. 2021;6(5):e283-e99.
4. World Health Organization. Systematic screening for active tuberculosis: principles and recommendations: World Health Organization; 2013.
5. 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*. 2013;13:97.
6. Zimba O, Tamuhla T, Basotli J, Letsibogo G, Pals S, Mathebula U, et al. The effect of sputum quality and volume on the yield of bacteriologically-confirmed TB by Xpert MTB/RIF and smear. *Pan Afr Med J*. 2019;33:110.
7. Shah W. To determine diagnostic accuracy of gene xpert and sputum Ziehl-Neelsen staining taking sputum culture as gold standard. *European Respiratory Journal*. 2016;48(suppl 60):PA2779.
8. Yoon SH, Lee NK, Yim JJ. Impact of sputum gross appearance and volume on smear positivity of pulmonary tuberculosis: a prospective cohort study. *BMC Infect Dis*. 2012;12:172.
9. Bhat J, Rao V, Muniyandi M, Yadav R, Karforma C, Luke C. Impact of sputum quality and quantity on smear and culture positivity: findings from a tuberculosis prevalence study in central India. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2014;108(1):55-6.
10. Meyer AJ, Atuheire C, Worodria W, Kizito S, Katamba A, Sanyu I, et al. Sputum quality and diagnostic performance of GeneXpert MTB/RIF among smear-negative adults with presumed tuberculosis in Uganda. *PLoS One*. 2017;12(7):e0180572.
11. Sinshaw W, Kebede A, Bitew A, Tadesse M, Mehamed Z, Alemu A, et al. Effect of sputum quality and role of Xpert. *Afr J Lab Med*. 2022;11(1):1671.
12. Theron G, Venter R, Calligaro G, Smith L, Limberis J, Meldau R, et al. Xpert MTB/RIF Results in Patients With Previous Tuberculosis: Can We Distinguish True From False Positive Results? *Clin Infect Dis*. 2016;62(8):995-1001.
13. Haraka F, Schumacher SG, Ross A, Mantsoki A, Gagneux S, Reither K, et al. Effect of history of tuberculosis on specificity of Xpert MTB/RIF. *Eur Respir J*. 2020;56(3).

14. Santos ADS, de Oliveira RD, Lemos EF, Lima F, Cohen T, Cords O, et al. Yield, Efficiency, and Costs of Mass Screening Algorithms for Tuberculosis in Brazilian Prisons. *Clin Infect Dis*. 2021;72(5):771-7.
15. Carbone Ada S, Paião DS, Sgarbi RV, Lemos EF, Cazanti RF, Ota MM, et al. Active and latent tuberculosis in Brazilian correctional facilities: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis*. 2015;15:24.
16. Ministry of Health of Brazil. Guidance for Sputum Collection. Brasilia: Ministry of Health of Brazil; 2014.
17. World Health Organization. WHO meeting report of a technical expert consultation: non-inferiority analysis of Xpert MTB/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF. Geneva: World Health Organization; 2017.
18. Ho J, Nguyen PT, Nguyen TA, Tran HK, Nguyen VS, Nhung NV, et al. The role of macroscopic sputum quality assessments to optimise sputum testing for tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2016;20(3):319-22.
19. Cuevas LE, Santos VS, Lima S, Kontogianni K, Bimba JS, Iem V, et al. Systematic Review of Pooling Sputum as an Efficient Method for Xpert MTB/RIF Tuberculosis Testing during the COVID-19 Pandemic. *Emerg Infect Dis*. 2021;27(3):719-27.
20. Dos Santos PCP, da Silva Santos A, de Oliveira RD, da Silva BO, Soares TR, Martinez L, et al. Pooling Sputum Samples for Efficient Mass Tuberculosis Screening in Prisons. *Clin Infect Dis*. 2022;74(12):2115-21.
21. Dorman SE, Schumacher SG, Alland D, Nabeta P, Armstrong DT, King B, et al. Xpert MTB/RIF Ultra for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampicin resistance: a prospective multicentre diagnostic accuracy study. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(1):76-84.
22. Cords O, Martinez L, Warren JL, O'Marr JM, Walter KS, Cohen T, et al. Incidence and prevalence of tuberculosis in incarcerated populations: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Public Health*. 2021;6(5):e300-e8.
23. Mabud TS, de Lourdes Delgado Alves M, Ko AI, Basu S, Walter KS, Cohen T, et al. Evaluating strategies for control of tuberculosis in prisons and prevention of spillover into communities: An observational and modeling study from Brazil. *PLoS Med*. 2019;16(1):e1002737.

Tables and figure

Table 1: Characteristics of participants according to sputum quality.

Table 2: GeneXpert positivity according to participant demographic and clinical characteristics.

Figure 1: Xpert MTB/RIF positivity stratified by previous tuberculosis status.

Supplementary tables

Table S1: Sensitivity analyses to assess effects of GeneXpert MTB/RIF cartridge type on relationship between sputum quality and test positivity.

Table S2: Xpert positivity stratified by previous tuberculosis, smoking status, CAD4TB score, tuberculosis symptoms, history of incarceration, and any illicit drug use.

TABLES

Table 1. Characteristics of participants according to sputum quality (N=4,336).

Characteristics	Total N = 4336	Sputum Quality		p-values*
		Saliva	Mucoid or Mucopurulent	
		N (%) = 957 (22.1) N (%)	N (%) =3379 (77.9) N (%)	
Positive GeneXpert results	441 (10.2)	35 (3.7)	406 (12.0)	<0.001
Sociodemographic Characteristics				
Age at enrollment (years)				
Median (IQR)	30 (25 – 37)	29 (24 – 37)	30 (25 – 37)	0.563†
Age group at enrollment				
18 – 29	2143 (49.4)	485 (50.7)	1658 (49.1)	0.224
30 – 44	1772 (40.9)	370 (38.7)	1402 (41.5)	
45+	421 (9.7)	102 (10.7)	319 (9.4)	
Race				
White	1196 (27.6)	276 (28.8)	920 (27.2)	<0.001
Black	523 (12.1)	97 (10.1)	426 (12.6)	
Indigenous	186 (4.3)	108 (11.3)	78 (2.3)	
Mixed	2420 (55.8)	473 (49.4)	1947 (57.6)	
Asian	11 (0.3)	3 (0.3)	8 (0.2)	
Education level				
4 years of schooling or less	764 (17.6)	179 (18.7)	585 (17.3)	0.063
4 – 12 years of schooling	3073 (70.9)	651 (68.0)	2422 (71.7)	
>12 years of schooling	499 (11.5)	127 (13.3)	372 (11.0)	
Alcohol consumption				
Never/no longer drinking	3230 (74.5)	731 (76.5)	2499 (74.0)	0.035
≤4x/month	710 (16.4)	131 (13.7)	579 (17.1)	
>4x/month	395 (9.1)	94 (9.8)	301 (8.9)	
Missing	1	0	1	
Behavioral Characteristics				
Smoking status				
Never smoker	509 (12.5)	177 (20.2)	332 (10.4)	<0.001
Past smoker	508 (12.5)	134 (15.3)	374 (11.7)	
Current smoker	3041 (74.9)	564 (64.5)	2477 (77.8)	
Missing	278	82	196	
Any illicit drug use ^a	2579 (59.5)	460 (48.1)	2119 (62.7)	<0.001
Prison Information				
Types of correctional facilities				
PED	3285 (75.8)	848 (88.6)	2437 (72.1)	<0.001
EPJFC	742 (17.1)	86 (9.0)	656 (19.4)	
IPCG	309 (7.1)	23 (2.4)	286 (8.5)	
History of prior incarceration (n=4,334)	2972 (68.6)	581 (60.8)	2391 (70.8)	<0.001
TB Characteristics				
Previous history of TB	452 (10.4)	73 (7.6)	379 (11.2)	0.001

Characteristics	Total N = 4336	Sputum Quality		p-values*
		Saliva N (%) = 957 (22.1) N (%)	Mucoid or Mucopurulent N (%) = 3379 (77.9) N (%)	
Knew someone with TB (n=4,334)	2505 (57.8)	435 (45.5)	2070 (61.3)	<0.001
Sharing cell with somebody with symptoms (i.e., cough, fever, losing weight) (n=4,335)	1487 (34.3)	263 (27.5)	1224 (36.2)	<0.001
CAD4TB score (v5), n=4,214				
<60	2969 (70.5)	718 (76.8)	2251 (68.6)	<0.001
≥60	1245 (29.5)	217 (23.2)	1028 (31.4)	
Missing	122	22	100	
Any TB symptoms ^b	1687 (38.9)	196 (20.5)	1491 (44.1)	<0.001
Cough for at least 2 weeks	924 (21.3)	87 (9.1)	837 (24.8)	<0.001

*p-values from Chi-square tests, unless indicated otherwise

†p-values from Wilcoxon rank sum tests

^aAny use of marijuana, cocaine, crack, heroine, inhalant, cocaine base paste (CBP), hashish, or injectable drugs

^bAny symptoms was defined if screened individuals reported to have any of the following conditions: cough for ≥2 weeks, sputum production, fever, loss appetite, weight loss, night sweat, chest pain, and trouble breathing.

Abbreviations:

IQR – interquartile range; TB – tuberculosis

Bold indicated that findings are statistically significant at $\alpha=0.05$

Table 2. GeneXpert positivity according to participant demographic and clinical characteristics

Characteristics	GeneXpert positivity		
	N/Total (%) 441/4336 (10.2)	Prevalence Ratio (95%CI)	Wald X ² p-values
Sputum quality			
Saliva	35/957 (3.7)	Reference	
Mucoid/Mucopurulent	406/3379 (12.0)	3.29 (2.38 – 4.69)	<0.001
Age Group			
18 – 29	219/2143 (10.2)	Reference	
30 – 44	181/1772 (10.2)	1.00 (0.83 – 1.20)	0.996
45+	41/421 (9.3)	0.95 (0.68 – 1.29)	0.766
Smoking Status (n=4,058)			
Never smoker	21/509 (4.1)	Reference	
Past smoker	43/508 (8.5)	2.05 (1.25 – 3.48)	0.005
Current smoker	349/3041 (11.5)	2.78 (1.86 – 4.42)	<0.001
Any illicit drug use ^a			
No	120/1757 (6.8)	Reference	<0.001
Yes	321/2579 (12.4)	1.82 (1.50 – 2.24)	
Types of Correctional Facilities			
PED	132/3285 (4.0)	Reference	
EPJFC	204/742 (27.5)	6.84 (5.59 – 8.41)	<0.001
IPCG	105/309 (34.0)	8.46 (6.72 – 10.60)	<0.001
History of prior incarceration			
No	86/1362 (6.3)	Reference	
Yes	355/2972 (11.9)	1.89 (1.52 – 2.39)	<0.001
Alcohol Consumption			
Never/no longer drinking	342/3230 (10.6)	Reference	
≤4x/month	57/710 (8.0)	0.76 (0.57 – 0.98)	0.043
>4x/month	42/395 (10.6)	1.00 (0.73 – 1.34)	0.978
Previous history of TB			
No	346/3884 (8.9)	Reference	
Yes	95/452 (21.0)	2.36 (1.91 – 2.88)	<0.001
Know someone with TB			
No	130/1829 (7.1)	Reference	
Yes	311/2505 (12.4)	1.75 (1.44 – 2.13)	<0.001
Sharing cell with somebody with symptoms (i.e., cough, fever, losing weight)			
No	271/2848 (9.5)	Reference	
Yes	170/1487 (11.4)	1.20 (1.00 – 1.44)	0.047
CAD4TB score (v5), n=4,215			
<60	65/2969 (2.2)	Reference	
≥60	353/1245 (28.4)	13.0 (10.1 – 16.9)	<0.001
Any TB Symptoms ^b			
No	226/2649 (8.5)	Reference	
Yes	215/1687 (12.7)	1.49 (1.25 – 1.78)	<0.001

Characteristics	GeneXpert positivity		
	N/Total (%) 441/4336 (10.2)	Prevalence Ratio (95%CI)	Wald X ² p-values
Cough for at least 2 weeks			
No	299/3412 (8.8)	Reference	
Yes	142/924 (15.4)	1.75 (1.45 – 2.11)	<0.001

^aAny use of marijuana, cocaine, crack, heroine, inhalant, cocaine base paste (CBP), hashish, or injectable drugs

^bAny symptoms was defined if screened individuals reported to have any of the following conditions: cough for ≥ 2 weeks, sputum production, fever, loss appetite, weight loss, night sweat, chest pain, and trouble breathing.

Abbreviations:

TB – tuberculosis

Bold indicated that findings are statistically significant at $\alpha=0.05$

FIGURE

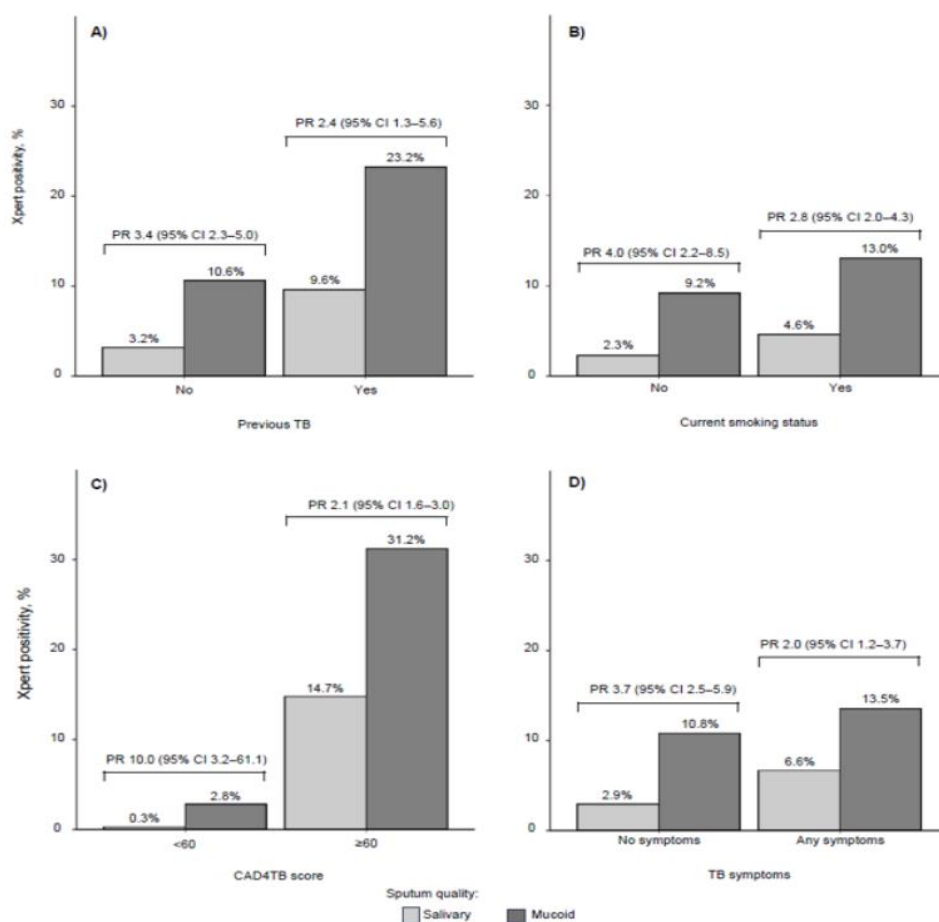


Figure 1. Xpert® MTB/RIF positivity stratified by **A)** previous TB status, **B)** current smoking status, **C)** CAD4TB score, and **D)** TB symptoms. PR (and the accompanying 95% CIs) was calculated by comparing the Xpert positivity rate among mucoid/mucopurulent samples to salivary samples. PR= prevalence ratio; CI= confidence interval.

Supplemental Table S1. Sensitivity analyses to assess effects of GeneXpert MTB/RIF cartridge type on relationship between sputum quality and test positivity.

Stratification	Sputum Quality	Xpert Positivity N/Total (%)	Prevalence Ratio (95%CI)	p-values
All Cohort	Saliva Muroid/mucopurulent	35/957 (3.7) 406/3379 (12.0)	Reference 3.29 (2.38 – 4.69)	<0.001
<i>Stratified by GeneXpert Cohort</i>				
Xpert G4	Saliva Muroid/mucopurulent	13/388 (3.4) 208/2169 (9.6)	Reference 2.86 (1.73 – 5.23)	0.281
Xpert Ultra	Saliva Muroid/mucopurulent	22/569 (3.9) 198/1209 (16.4)	Reference 4.24 (2.83 – 6.70)	

Supplemental Table S2: Xpert positivity stratified by previous tuberculosis, smoking status, CAD4TB score, tuberculosis symptoms, history of incarceration, and any illicit drug use.

Characteristics	Overall TB Positivity			Prevalence Ratios (95%CI)	p-values for interaction terms
	Sputum Quality	Total N = 4336*	Positive N (%) = 441 (10.2)		
<i>Stratified by previous TB</i>					
No previous TB	Saliva	884 (22.8)	28 (3.2)	Reference	0.461
	Mucoid + Mucopurulent	3000 (77.2)	318 (10.6)	3.35 (2.34 – 5.00)	
Previous TB	Saliva	73 (16.2)	7 (9.6)	Reference	
	Mucoid + Mucopurulent	379 (83.8)	88 (23.2)	2.42 (1.27 – 5.58)	
<i>Stratified by current smoking status</i>					
No	Saliva	393 (30.3)	9 (2.3)	Reference	0.387
	Mucoid + Mucopurulent	902 (69.7)	83 (9.3)	4.02 (2.16 – 8.52)	
Yes	Saliva	564 (18.5)	26 (4.6)	Reference	
	Mucoid + Mucopurulent	2477 (81.5)	323 (13.0)	2.83 (1.96 – 4.28)	
<i>Stratified by CAD4TB score (version 5)</i>					
CAD4TB <60	Saliva	718 (24.2)	2 (0.3)	Reference	0.036
	Mucoid + Mucopurulent	2251 (75.8)	63 (2.8)	10.0 (3.16 – 61.10)	
CAD4TB ≥60	Saliva	217 (17.4)	32 (14.7)	Reference	
	Mucoid + Mucopurulent	1028 (82.6)	321 (31.2)	2.12 (1.55 – 3.03)	
<i>Stratified by TB symptoms</i>					
No symptoms	Saliva	761 (28.7)	22 (2.9)	Reference	0.097
	Mucoid + Mucopurulent	1888 (71.3)	204 (10.8)	3.74 (2.49 – 5.93)	
Any symptoms ^a	Saliva	196 (11.6)	13 (6.6)	Reference	
	Mucoid + Mucopurulent	1491 (88.4)	202 (13.5)	2.04 (1.24 – 3.70)	
<i>Stratified by previous history of incarcerations</i>					
No	Saliva	375 (27.5)	10 (2.7)	Reference	0.790
	Mucoid + Mucopurulent	987 (72.5)	76 (7.7)	2.89 (1.59 – 5.90)	
Yes	Saliva	581 (19.5)	25 (4.3)	Reference	

Characteristics	Overall TB Positivity			Prevalence Ratios (95%CI)	p-values for interaction terms
	Sputum Quality	Total N = 4336*	Positive N (%) = 441 (10.2)		
	Mucoid + Mucopurulent	2391 (80.5)	330 (13.8)		
Stratified by any illicit drug use					
No drug use	Saliva	497 (28.3)	11 (2.2)	Reference	0.325
	Mucoid + Mucopurulent	1260 (71.7)	109 (8.7)	3.91 (2.23 – 7.65)	
Any drug use ^b	Saliva	460 (17.8)	24 (5.2)	Reference	
	Mucoid + Mucopurulent	2119 (82.2)	297 (14.0)	2.69 (1.84 – 4.14)	
^a Any symptoms was defined if screened individuals reported to have any of the following conditions: cough for ≥2 weeks, sputum production, fever, loss appetite, weight loss, night sweat, chest pain, and trouble breathing.					
^b Any use of marijuana, cocaine, crack, heroine, inhalant, cocaine base paste (CBP), hashish, or injectable drugs					
Abbreviations: TB – tuberculosis					
Bold indicated that findings are statistically significant at α=0.05					

6. CONCLUSÃO

Em síntese, os resultados deste estudo sugerem que a avaliação da qualidade do escarro, quando associada com alguns fatores de risco para TB como, história prévia de TB, tabagismo atual, pontuação de CAD4TB e qualquer sintoma de TB relatado foi associada a uma maior positividade do Xpert MTB/RIF, e pode ser utilizada como uma estratégia para contribuir para o direcionamento de testes confirmatórios de TB para indivíduos em ambientes de alto risco no contexto de busca ativa de casos de TB nas prisões.

Mesmo em indivíduos que não apresentaram histórico prévio de TB, sintomas de TB, não eram fumantes e apresentaram a pontuação de CAD4TB <60 e tinham coleta de amostra de escarro mucoide/mucopurulento apresentaram uma porcentagem significativa de positividade no Xpert MTB/RIF, sugerindo que o rastreamento de TB pelo Xpert MTB/RIF ainda consegue identificar indivíduos com TB mesmo com esses padrões, portanto, a realização do teste molecular não deve ser descartada.

A confiabilidade e reprodutibilidade da classificação das amostras de escarro realizada por dois membros da equipa do estudo de forma independente, exibiu um valor de concordância alta, com valor de (Kappa Cohen 0,830), demonstrando concordância entre a classificação dos dois observadores.

Em suma, este estudo demonstrou a importância da avaliação da qualidade do escarro na busca ativa de casos de TB em ambientes com alta carga da doença. A classificação das amostras pode ser uma estratégia importante para ser utilizada como algoritmo de triagem quando utilizada associada a fatores de risco para TB, permitindo a tomada de decisão para a realização de testes moleculares confirmatórios de TB, podendo ser individuais ou combinados.

7. ANEXOS



The impact of sputum quality on Xpert positivity in active case-finding for TB

Buy Article:

\$34.78 + tax
(Refund Policy)

ADD TO CART

BUY NOW

Authors: Oliveira da Silva, B. ¹; Salindri, A.D. ²; Gonçalves, T.O. ³; Cunha, E.A.T. ³; da Silva Santos, A. ¹; dos Santos, P.C.P. ⁴; Lemes, I.B.G. ⁴; Silva, D.P.B. ⁴; da Silva Oliveira, V. ³; Croda, J. ⁴; de Oliveira, R.D. ⁵; Andrews, J.R. ²;

Source: The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, Volume 28, Number 1, January 2024, pp. 29-36(8)

Publisher: International Union Against Tuberculosis and Lung Disease

DOI: <https://doi.org/10.5588/ijtld.23.0244>



[< previous article](#) | [view table of contents](#) | [next article >](#)

♥ ADD TO FAVOURITES

Abstract

References

Citations

Supplementary Data

Suggestions

BACKGROUND: Studies evaluating sputum quality and Xpert[®] MTB/RIF positivity in the context of active case finding are scarce. We aimed to determine whether sputum quality is associated with Xpert positivity and whether the association differed according to demographic and clinical characteristics.

METHODS: A cross-sectional analysis using data from a mass screening programme in Brazilian prisons was conducted from 2017 to 2021. We administered a standardised questionnaire, obtained a chest X-ray and collected a spot sputum sample for Xpert testing. Sputum quality was classified as 'salivary', 'mucoid/mucopurulent' or 'blood-stained'. We used log binomial regressions to estimate the relationship between sputum quality and Xpert positivity, assessing interactions with participant characteristics.

RESULTS: Among 4,368 participants for whom sputum quality was assessed, 957 (21.9%) produced salivary specimens, 3,379 (77.4%) had mucoid/mucopurulent sputum and 32 (0.7%) had blood-stained sputum. Xpert positivity was higher among those with mucoid/mucopurulent sputum than among those with salivary samples (12.0% vs. 3.7%). Mucopurulent sputum independently predicted Xpert positivity among individuals with and without symptoms, current smoking and abnormal chest radiographs on CAD4TB.

CONCLUSIONS: In our study, sputum appearance independently predicted Xpert positivity, and could be used together with chest X-ray and symptom screening to inform use of Xpert in individual or pooled testing.

Keywords: PRISON MASS SCREENING; SPUTUM QUALITY; TUBERCULOSIS; XPRT

Document Type: Research Article

Affiliations: **1:** Health Sciences Research Laboratory, Federal University of Grande Dourados, Dourados, MS, Brazil **2:** Division of Infectious Diseases and Geographic Medicine, Department of Medicine, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA, USA **3:** Laboratory of Bacteriology, Central Laboratory of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brazil **4:** School of Medicine, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brazil **5:** Graduate Program in Health Sciences, Federal University of Grande Dourados, Dourados, MS, Brazil

Publication date: 1 de Janeiro de 2024

► [More about this publication?](#)

Sign-in -

[Register](#)

Username:

Password:

SIGN IN NOW

☐ Remember
Login

☐ Login reminder

[OpenAthens](#)
[Shibboleth](#)

Tools

👤 [Activate personal subscription](#)

📄 [Reference exports +](#)

🔗 [Linking options +](#)

📧 ☒ [Receive new issue alert](#)

📡 [Latest TOC RSS Feed](#)

📡 [Recent Issues RSS Feed](#)

© [Get Permissions](#)

🔖 [Favourites](#)

♿ [Accessibility](#)

Selezione o idioma ▼

Powered by [Google Tradutor](#)

Share Content



Access Key

📄 [Free content](#)

🔒 [Partial Free content](#)