

AKEMI OSHIRO GUIRELLI

**PADRONIZAÇÃO DA DETECÇÃO MOLECULAR DE
SARS-COV-2 EM AMOSTRAS DE ESCARRO DE
PACIENTES COM SUSPEITA DE TUBERCULOSE EM
POPULAÇÃO PRIVADA DE LIBERDADE NA REGIÃO
DO ABC/SP**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciência da Coordenadoria de
Controle de Doenças da
Secretaria de Estado da Saúde de
São Paulo, para obtenção do
Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Pesquisas Laboratoriais em
Saúde Pública

Orientadora: Profa. Dra. Erica Chimara Silva

Coorientadora: Profa. Dra. Andréia Moreira dos Santos
Carmo

**SÃO PAULO
2022**

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pelo Centro de Documentação – Coordenadoria de Controle de Doenças/SES-SP

©reprodução autorizada pelo autor, desde que citada a fonte

Guirelli, Akemi Oshiro

Padronização da detecção molecular de Sars-Cov-2 em amostras de escarro de pacientes com suspeita de tuberculose em população privada de liberdade na região do ABC/SP / Akemi Oshiro Guirelli - 2022.

Dissertação (Mestrado em Ciências) - Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças, São Paulo, 2022.

Área de concentração: Pesquisas Laboratoriais em Saúde Pública

Orientação: Profa. Dra. Erica Chimara Silva

Coorientador: Profa. Dra. Andréia Moreira dos Santos Carmo

1. Mycobacterium tuberculosis/patogenicidade. 2. Sars-cov-2/diagnóstico. 3. Tuberculose/diagnóstico. 4. Reação em cadeia da polimerase/métodos. 5. Diagnóstico.

SES/CCD/CD - 447/2022

Elaborada por Renan Matheus Predasoli CRB 8/9275

AGRADECIMENTOS

A Deus e aos meus Antepassados, graças a eles estamos aqui.

Aos meus filhos Heitor e Breno, meu marido Celso, meus irmãos Márcia, Nelson e Keiko, familiares e amigos pelo incentivo.

A minha orientadora, Professora Dra. Erica Chimara, pela paciência, oportunidade, confiança, e por ter compartilhado seus conhecimentos e experiências. Para uma grande líder: *“O crescimento e desenvolvimento das pessoas é a mais alta vocação de liderança.” (Harvey Samuel Firestone).*
Minha eterna gratidão!

A minha coorientadora, Professora Dra. Andréia M. S. Carmo, pela confiança, incentivo e apoio no meu crescimento profissional.

A Thayná Bispo, bolsista do Projeto PPSUS, pelo apoio na execução técnica, desenhos, gráficos, pelo incentivo, dedicação.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo e a todos os Docentes que foram importantes para esta formação.

A Tirces, sempre muito gentil, atenciosa, prestativa.

A banca de avaliadores do exame de qualificação e defesa, Professora Dra. Adriana Luchs, Professora Dra. Suely Carlos Ferreira Sampaio, Professor Dr. Sidney Bombarda e Professor Dr. Valdes Roberto Bollela, pelas pertinentes sugestões.

As minhas amigas Flávia Carvalho, Elaine Mattos, pelo apoio, incentivo, correção do texto.

Amigas da Pós-graduação, Ana Carolina Bocewicz, Claudia Saleme, Fabiana Cabral, Lais Sampaio, Edilene Afonso Vieira, que me auxiliaram e incentivaram nos momentos de dificuldade.

Aos Irmãos de lenço, pelo incentivo.

A Vilma Daros, diretora do CLR-IAL Santo André-VIII, pelo incentivo, apoio e oportunidade.

A Juliana Pinhata, pelo apoio, incentivo, sugestões.

Ao Centro de Laboratório Regional do Instituto Adolfo Lutz de Santo André -VIII espaço onde realizei a parte prática.

A todos os colegas do CLR-IAL Santo André-VIII, pelo incentivo e apoio.

A Marta Dias, Adriana Gomes, Mário, Rute Dal Col, Maria Cecília e Ivana Campos, pelo incentivo e apoio.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Ao Centro de Detenção Provisória de Mauá.

A Vigilância Epidemiológica de Santo André.

Ao Centro de Vigilância Epidemiológica- “Prof. Alexandre Vranjac”.

A Todos a minha gratidão!

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ag	Antígeno
BAAR	Bacilos álcool-ácido resistentes
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CDC	(do inglês <i>Centers for Disease Control</i>) Centro de Controle de Doenças
CDP	Centro de detenção provisória
CEPIAL	Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz
CLIA	Imunoensaio por quimioluminescência
CLR IAL	Centro de Laboratório Regional do Instituto Adolfo Lutz
CMTB	Complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
COREMETRO	Coordenadoria Regional de Unidades Prisionais da Região Metropolitana
COVID-19	(do inglês <i>corona virus disease</i>) doença por coronavírus
CT	(do inglês <i>Cycle Threshold</i>) número de ciclos
CTC	Comitê Técnico Científico
DNA	(do inglês <i>deoxyribonucleic acid</i>) ácido desoxirribonucleico
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
E	Envelope Viral
ECLIA	Eletroquimioluminescência
ELISA	(do inglês <i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>) teste imunoenzimático
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FDA	(do inglês <i>Food and Drug Administration</i>) controle de alimentos e medicamentos
GAL	Gerenciamento de Ambiente Laboratorial
GRATE	Grupo Regional de Ações de Trabalho e Educação
H1N1	Subtipo de Influenza A
H5N1	Subtipo de Influenza A
HCL	Ácido clorídrico
HIV	(do inglês <i>Human Immunodeficiency Virus</i>) Vírus da Imunodeficiência
IBGE	Instituto Brasileiro geografia e estatística
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
ILTB	Infecção latente da tuberculose
Infopen	Informações Penitenciárias
LoD	Limite de detecção
M	Membrana Viral
MDR	Multidroga resistente
Mers-CoV	(do inglês <i>Middle East respiratory Syndrome</i>) síndrome respiratória do oriente médio
MGIT	Tubo indicador de crescimento de micobactérias
MNT	Micobactéria Não Tuberculosa
MS	Ministério da Saúde
MTB	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
N	Nucleocapsideo Viral
NaOH	Hidróxido de sódio

OMS	Organização Mundial da Saúde
ORF	(do inglês <i>Open Reading Frames</i>) fase de leitura aberta
PANTA	Mistura liofilizada de agentes antimicrobianos
PCR	(do inglês <i>Polymerase Chain reaction</i>) Reação em cadeia da polimerase
qPCR	PCR em tempo real
PFU	Unidades formadora de placas
pH	Potencial Hidrogeniônico
PPL	População Privada de liberdade
PPSUS	Programa de Pesquisa para o SUS
RIF	Rifampicina
RNA	(do inglês <i>ribonucleic acid</i>) Ácido Ribonucleico
RT –PCR	(do inglês <i>Reverse transcription polymerase chain reaction</i>) Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase
S	(do inglês <i>Spike</i>) espícula viral
SAP	Secretaria de Administração Penitenciária
SARS-CoV	(do inglês <i>Severe Acute Respiratory Syndrome</i>) Síndrome respiratória aguda grave
SNF	Secreção Nasofaríngea
SUS	Sistema Único de Saúde
TB	Tuberculose
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TRM	Teste rápido molecular
TS	Teste de sensibilidade

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do SARS-Cov-2. Localização dos genes N, S, E, M, RdRP... ..	27
Figura 2. Fluxograma de realização dos testes para avaliação da utilização de amostra respiratória para detecção de COVID-19 (A) e do escarro para diagnóstico de TB e COVID-19 (B).....	33
Figura 3. Localização da região do ABC no Estado de São Paulo	36
Figura 4. Esquema de diluição de amostras para padronização do protocolo de extração do RNA de SARS-CoV-2 em amostras de escarro	39
Figura 5. Desenho esquemático da extração automatizada (Loccus do Brasil®) e RT q-PCR para detecção de SARS-CoV-2 em amostras de escarro.....	40
Figura 6. Bacilos crescidos em meio líquido, dispostos empilhada com formação de corda(Fator Corda). Coloração de Ziehl Neelsen. Aumento 100x.....	46
Figura 7. Regressão linear simples entre RT-qPCR e Xpert Xpress SARS-CoV-2® para comparação da detecção dos genes E, N e N2 entre os dois testes com amostras de escarro “batizado”	50
Figura 8. Número de testes positivos de TB e COVID-19, obtidos com as metodologias testadas	51
Figura 9. Tempo de realização de cada uma das etapas necessárias para completar as metodologias estudadas	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados obtidos utilizando o protocolo de detecção do SARS CoV-2 com cartuchos Xpert® Xpress SARS-Cov-2 em amostras de escarro “batizadas” com amostras com CT conhecidos.....49

Tabela 2. Sensibilidade e especificidade na detecção de SARS-CoV-2, de acordo com o método e o tipo de material usado, usando RT-qPCR como padrão ouro.....54

Tabela 3. Valores atuais (em reais) dos insumos e profissionais necessários por hora trabalhada para a realização de um teste para o diagnóstico da COVID-19 utilizando o RT-qPCR e Teste Rápido Molecular.....55

Tabela 4. Valores atuais (em reais) dos equipamentos e materiais de limpeza necessários para a realização de um teste para o diagnóstico da COVID-19 utilizando o RT-qPCR e Teste Rápido Molecular.....56

Tabela 5. Custo e tempo de execução dos testes para detecção de SARS-CoV-2 nas plataformas Genexpert e RT-qPCR.....58

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	16
1.1 TUBERCULOSE	16
1.2 COVID-19	18
1.3 SURGIMENTO DA PANDEMIA DE COVID-19.....	18
1.4 COINFECÇÃO TB/COVID-19	19
1.5 IMPACTO DA COVID-19 NO DIAGNÓSTICO DE TB	21
1.6 POPULAÇÕES VULNERÁVEIS.....	22
1.7 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	24
1.7.1 Tuberculose.....	24
1.7.2 COVID-19.....	25
1.7.3 Coinfecção TB/COVID-19.....	27
1.8 JUSTIFICATIVA.....	28
2. OBJETIVO	31
2.1 OBJETIVO GERAL.....	31
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3. METODOLOGIA	32
3.1 TIPO DE ABORDAGEM.....	32
3.2 AMOSTRAGEM/ PARTICIPANTES DA PESQUISA	32
3.3 Aspectos éticos.....	34
3.3.1 Critérios de inclusão.....	34
3.3.2 Critérios de exclusão	35
3.3.3 Biossegurança	35
3.4 LOCAL DA REALIZAÇÃO DA PESQUISA.....	36
3.5 AMOSTRAS	37
3.5.1 Coleta de Escarro.....	37
3.5.2 Coleta de secreção nasal e de orofaringe (swabs combinados)	37
3.6 TESTES REALIZADOS.....	38
3.6.1 Padronização do protocolo de extração automatizada do RNA de SARS-CoV-2 em amostras de escarro.....	38
3.6.2 Teste Rápido Molecular Xpert® Ultra MTB/RIF™ (TRM-TB).....	41
3.6.3 Teste Rápido molecular Xpert® Xpress SARS-CoV-2 (TRM-COVID).....	41
3.6.4 Extração/purificação de RNA de SARS-CoV-2 por beads magnéticas	42
3.6.5 PCR em tempo real para a detecção de SARS-CoV-2.....	43
3.6.6 Tempo de execução dos testes	44
3.6.7 Cultura em meio líquido – BD BACTEC MGIT 960™	44
3.6.8 Identificação de espécie.....	45
3.6.9 Teste de Sensibilidade – BD BACTEC MGIT 960™	46
3.7 ANÁLISE DOS DADOS	47

3.8 AVALIAÇÃO DE CUSTO.....	47
4. RESULTADOS.....	48
4.1 PADRONIZAÇÃO DO PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DO RNA DE SARS-CoV-2 EM AMOSTRAS DE ESCARRO	48
4.3 TESTE RÁPIDO MOLECULAR XPERT® <i>ULTRA MTB/RIF</i> ™ (TRM-TB).....	50
4.4 TESTE RÁPIDO MOLECULAR XPERT® XPRESS SARS-CoV-2 (TRM-COVID).....	51
4.5 PCR EM TEMPO REAL PARA A DETECÇÃO DE SARS-CoV-2	52
4.6 CULTURA E IDENTIFICAÇÃO	52
4.7 COINFECÇÃO.....	52
4.8 ANÁLISE DOS DADOS	53
4.9 AVALIAÇÃO DE CUSTO.....	54
4.10 TEMPO DE EXECUÇÃO	56
5. DISCUSSÃO	59
6. CONCLUSÕES	64
7. REFERÊNCIAS.....	65

Anexos

Anexo 1 – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	74
Anexo 2 – Aprovação do projeto no Conselho Técnico Científico do Instituto Adolfo Lutz.....	76
Anexo 3 - Aprovação do projeto no Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz.....	77
Anexo 4 – Autorização judicial para realização da pesquisa.....	83

RESUMO

A tuberculose (TB) é das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo, especialmente em países em desenvolvimento. O diagnóstico e o tratamento podem evitar milhões de mortes todos os anos. Há dois anos o SARS-CoV-2, um vírus que provoca uma infecção viral altamente transmissível e patogênica, que causa a doença denominada COVID-19 (relativa ao Coronavírus-19), causou a perda de um grande número de vidas em todo o mundo. Conforme a OMS, aproximadamente 80% dos acometidos pelo SARS-CoV-2 variaram de casos assintomáticos e manifestações clínicas leves a moderados, graves e críticos, e muitos foram a óbito. Sendo assim, é necessária atenção especial aos sinais e sintomas que indicam piora do quadro clínico e exijam a hospitalização. A infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), principal agente da TB, que infecta de forma latente cerca de 25% da população global, incluindo a população privada de liberdade (PPL), pode ser um dos fatores agravantes da infecção pelo SARS-CoV-2. Esse estudo teve como objetivo padronizar, na plataforma GeneXpert, a utilização de amostras de escarro no diagnóstico molecular para detecção do SARS-CoV-2. A utilização do escarro para diagnóstico de SARS-CoV-2 poderá trazer benefícios ao paciente por ser uma coleta não invasiva, proporcionar a detecção de TB no mesmo material, permitindo o rápido isolamento do paciente para evitar transmissão e empregar o tratamento correto. Foram testadas 100 amostras de escarro de PPL para diagnóstico de TB e pesquisa de COVID-19 por metodologia padrão ouro (RT-qPCR) e teste rápido molecular (TRM-COVID). Destas, 12 amostras foram positivas para SARS-CoV-2 pela metodologia RT-qPCR e 13 amostras pelo TRM-COVID. Sete amostras foram positivas para o complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) no TRM-TB e confirmadas pela cultura em meio líquido. Foi detectado um caso de coinfeção TB/COVID-19. O TRM-COVID apresentou sensibilidade de 90,9% quando utilizadas amostras de escarro para o diagnóstico da COVID-19. O teste pode agilizar o início do tratamento e os resultados rápidos permitem o

isolamento de indivíduos, a detecção de coinfeções TB/COVID-19 e o diagnóstico diferencial entre as doenças.

Palavras-chave: *Mycobacterium tuberculosis*, SARS-CoV-2, Tuberculose, PCR, Diagnóstico.

ABSTRACT

STANDARDIZATION OF THE MOLECULAR DETECTION OF SARS-COV-2 IN SPECIMENS OF PATIENTS WITH SUSPECTED TUBERCULOSIS IN A PRIVATE POPULATION OF FREEDOM IN THE ABC/SP REGION

Tuberculosis (TB) is one of the main causes of morbidity and mortality in the world, especially in developing countries. Diagnosis and treatment can prevent millions of deaths every year. Two years ago, SARS-CoV-2, a virus that causes a highly transmissible and pathogenic viral infection, which causes the disease called COVID-19 (relating to Coronavirus-19), caused the loss of a large number of lives throughout the world. According to the WHO, approximately 80% of those affected by SARS-CoV-2 ranged from asymptomatic cases and mild clinical manifestations to moderate, severe and critical, and many died. Therefore, special attention is needed to the signs and symptoms that indicate a worsening of the clinical condition and require hospitalization. Infection with *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), the main agent of TB, which latently infects about 25% of the global population, including the population deprived of liberty, may be one of the aggravating factors of SARS-CoV-2 infection. This study aimed to standardize, on the GeneXpert platform, the use of sputum samples in molecular diagnosis for the detection of SARS-CoV-2. The use of sputum for diagnosis of SARS-CoV-2 may bring benefits to the patient as it is a non-invasive collection, provides the detection of TB in the same material, allowing the rapid isolation of the patient to avoid transmission and employ the correct treatment. 100 sputum samples were tested from individuals deprived of liberty were tested for TB for TB diagnosis and COVID-19 research by gold standard methodology (RT-qPCR) and rapid molecular test (TRM-COVID). Of these, 12 samples were positive for SARS-CoV-2 by the RT-qPCR methodology and 13 samples by the TRM-COVID. Seven samples were positive for *Mycobacterium tuberculosis* complex (CMTB) on TRM-TB and confirmed by culture in liquid medium. One case of

TB/COVID-19 co-infection was detected. TRM-COVID showed a sensitivity of 90,9% when using sputum samples for the diagnosis of COVID-19. The test can expedite treatment initiation, and rapid results allow for isolation of individuals, detection of TB/COVID-19 co-infections, and differential diagnosis between diseases.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, SARS-CoV-2, Tuberculosis, PCR, Diagnosis

1. INTRODUÇÃO

As doenças respiratórias são uma preocupação para a saúde mundial, sendo que dentre estas enfermidades, cinco estão entre as causas mais comuns de morte em todo o mundo, a saber, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) moderada a grave, asma, tuberculose (TB), neoplasia (pulmonar) e infecções agudas do trato respiratório inferior (Marciniuk et al., 2017). Existem ainda doenças respiratórias menos frequentes como transtornos respiratórios do sono, hipertensão pulmonar e doenças pulmonares ocupacionais, mas que também configuram como importantes patologias do trato respiratório.

As doenças respiratórias representam mais de 10% de perda de vida ativa (incapacidade) e produtiva, ficando abaixo apenas das doenças cardiovasculares (Marciniuk et al., 2017).

1.1 Tuberculose

A TB é um mal que assola a humanidade desde a pré-história (Mousquer et al., 2021). Conhecida como peste branca ainda no século XIX, foi descrita como tísica, e atualmente é uma doença possível de ser prevenida, tratada e curada (Brasil, 2019a).

Esta doença pode ser causada por qualquer uma das espécies que compõem o complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB): *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis BCG*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. mungi*, *M. orygis* e *M. suricatta*. A evolução do *M. tuberculosis* resultou em um patógeno altamente adaptado, que coexiste e prospera entre os seres humanos (Mousquer et al., 2021).

O bacilo é transmitido por via aérea, de uma pessoa a outra, por meio da exalação de aerossóis proveniente de tosse, fala ou espirros. Estima-se que uma pessoa infectada possa transmitir para 10 a 15 pessoas em média, em uma comunidade, durante um ano (Brasil, 2019a).

A TB é a principal causa de morbidade e mortalidade no mundo, especialmente em países em desenvolvimento. Globalmente, estima-se que 10,6 milhões de pessoas desenvolveram a doença em 2021 (WHO, 2022), 14,1 milhões de pessoas foram tratadas para TB em 2018 e 2019 e 6,3 milhões de pessoas iniciaram o tratamento de infecção latente para TB (ILTB). Em 2019, foram notificados às autoridades nacionais e comunicados à Organização Mundial da Saúde (OMS) 7,1 milhões de novos casos de TB (WHO, 2020a) e em 2020 o número caiu para 5,8 milhões (WHO, 2021) e em 2021 o número subiu para 6,4 milhões (WHO, 2022). Estima-se ainda que dois bilhões de pessoas encontram-se infectadas com ILTB em todo o mundo e que esses indivíduos apresentam 10% de chance de desenvolver a doença ativa ao longo da vida (Mousquer et al., 2021).

Em 2018, 3% dos casos de TB concentravam-se na região das Américas e foram registrados aproximadamente 234 mil casos novos e recidivas. No mesmo ano, o Brasil registrou 45 casos/100.000 hab., dos quais 68% correspondiam a pacientes do sexo masculino. O maior número de óbitos e casos ocorre na população mais idosa e que apresenta comorbidades (WHO, 2019). Em 2021, no Brasil, foram notificados 68.271 casos novos de TB, 32 casos/100.00 hab. (Brasil, 2022d).

No ano de 2020, de acordo com a OMS, a TB causou 1,3 milhões de mortes no mundo, incluindo 214.000 pessoas soropositivas para o HIV (WHO, 2021). No entanto, sabe-se que o diagnóstico e o tratamento, quando bem-sucedidos, podem evitar milhões de mortes todos os anos. Neste mesmo relatório, a OMS afirma que o Brasil está entre os 30 países com elevada carga de TB e com uma maior incidência estimada de 46/100.000 habitantes para todas as formas de TB (WHO, 2020a).

O Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde (MS) relata que o Brasil teve 73.864 casos novos diagnosticados de TB ocorridos no ano de 2019, 14.821 retratamentos e 548 de TB multi-droga resistente (TB-MDR) detectados pelo teste GeneXpert MTB/RIF™ (Cepheid, Sunnyvale, EUA), denominado Teste Rápido Molecular (TRM) (Brasil, 2019b).

1.2 COVID-19

A síndrome respiratória aguda grave e a síndrome respiratória do oriente médio causadas pelos coronavírus SARS-CoV e coronavírus MERS-CoV, H1N1, H5N1, influenza A, provocam lesões pulmonares de forma aguda que podem ocasionar insuficiência respiratória pulmonar, levando o indivíduo à morte (Shereen et al., 2020).

O coronavírus, pertencente à família *Coronaviridae*, é classificado nos subgrupos alfa, beta, gama e delta. No final de 2019, em Wuhan, na província de Hubei, na República Popular da China, ocorreu um surto e os pesquisadores relataram a ocorrência do vírus do grupo beta. A doença causada por este novo coronavírus, ou SARS-CoV-2, ficou conhecida como COVID-19 (Shereen et al., 2020).

1.3 Surgimento da Pandemia de COVID-19

A OMS, em 31 de dezembro de 2019, foi alertada sobre os casos de pneumonia em Wuhan, na China, os quais foram causados por uma nova cepa de coronavírus. Essa nova cepa foi confirmada, em 07 de janeiro de 2020, como responsável por causar um resfriado comum, porém, em 11 de fevereiro de 2020, o novo coronavírus 2019, recebeu o nome de SARS-Cov-2. Em 30 de janeiro de 2020, a OMS declarou como um novo surto e em 11 de março de 2020 foi caracterizada pandemia por COVID-19 (OPAS, 2020).

O SARS-CoV-2 causa uma infecção viral altamente transmissível e patogênica e tem gerado uma dramática perda de vidas humanas em todo o mundo (Shereen et al., 2020). Foram confirmados 6.545.929 óbitos no mundo e 686.254 no Brasil até o dia 1º de outubro de 2022 (Brasil, 2022b). A análise do genoma deste agente mostrou similaridade filogenética a vírus isolados de morcegos, o que leva à hipótese de que estes animais poderiam ser o possível reservatório primário (Shereen et al., 2020a). A fonte intermediária de origem e transferência para pessoas não é conhecida, no

entanto, a rápida transferência de humano para humano foi amplamente confirmada (Shereen et al., 2020a).

Segundo a OMS, a transmissão ocorre de forma direta e indireta. A transmissão direta pode ocorrer pelo contato próximo com indivíduos doentes ou portadores do SARS-CoV-2, assim como pelo toque do aperto de mãos contaminadas, por inalação de gotículas e aerossóis. O contato indireto pode ocorrer por meio de superfícies e objetos contaminados que, ao serem tocados, podem contaminar mãos que levarão as partículas virais à boca, nariz ou olhos (WHO, 2020b).

Aproximadamente 80% dos pacientes com COVID-19 podem ser assintomáticos ou oligossintomáticos (MS, 2021). A infecção pelo SARS-CoV-2 pode variar de casos assintomáticos e manifestações clínicas leves, até quadros moderados, graves e críticos, sendo necessária atenção especial aos sinais e sintomas que indicam piora do quadro clínico que exijam a hospitalização do paciente (MS, 2021).

O primeiro caso de COVID-19 foi notificado no Brasil em 26 de fevereiro de 2020. Com base nos dados informados pelas secretarias Estaduais de Saúde, entre o período de 26 de fevereiro de 2020 a 23 de abril de 2022 foram notificados 30.345.654 casos de COVID-19 e 686.254 óbitos no Brasil até 1º de outubro de 2020 (Brasil, 2022; Brasil, 2022b).

1.4 Coinfecção TB/COVID-19

Apesar da TB ser considerada a principal causa de morte entre as doenças infecciosas, a COVID-19 também alcançou números muito elevados de mortes diárias pelo mundo. Nos países onde a TB é endêmica, houve uma preocupação das autoridades de saúde com a convergência entre as duas infecções, pois a pandemia de COVID-19 prejudica o diagnóstico e tratamento da TB, criando novos desafios aos programas de controle da doença (Alagna et al., 2020).

Os sintomas de TB e COVID-19 podem ser semelhantes, dificultando a suspeita clínica e identificação dessas infecções e

influenciando negativamente no tratamento, com impacto no prognóstico de ambas as doenças (Mousquer et al., 2021). Para o manejo adequado da doença é importante a identificação da coinfeção TB/COVID-19 (Srivastava; Jaggi, 2022).

He e col. (2020), em seu estudo, acompanharam três casos de TB/COVID-19, com manifestações clínicas compatíveis, dos quais dois tiveram evolução grave para COVID-19. Os autores verificaram que pacientes que apresentam doença pulmonar pregressa estão propensos a um pior prognóstico da COVID-19. A idade avançada, bem como o uso de glicocorticóides por tempo prolongado, também foram apontados como fatores de risco. O longo tempo de recuperação e o aparecimento de outras infecções bacterianas foram consequências dos fatores de risco identificados.

Os fatores de risco e comorbidades associados à COVID-19 ainda precisam ser mais bem estudados para que se possa entender o modo de contribuição na magnitude da doença. No entanto, a forma latente da tuberculose, que infecta cerca de 25% da população global (Brasil, 2019a), pode ser um dos fatores agravantes da infecção por SARS-CoV-2 e pneumonia grave (Chen et al., 2020a).

Em um estudo realizado em hospitais da China, os mesmos autores compararam as taxas de infecções de TB e pneumonias bacterianas e virais associadas a casos de COVID-19 e observaram que as taxas de infecção por TB (36%) foram mais altas entre pacientes com COVID-19 do que entre pacientes com pneumonia bacteriana (20%) e pacientes com pneumonia viral (16%), sugerindo que a infecção por TB é um fator de risco específico para infecção por SARS-CoV-2 e não para pneumonia em geral (Chen et al., 2020b). Os autores relataram que pacientes com infecção por TB também apresentavam número maior de coinfeção com SARS-CoV-2 quando comparados a pacientes com outras comorbidades como diabetes (25%), hipertensão (22%), doença coronariana (8%) e DPOC (5%) (Chen et al., 2020b).

No entanto, poucos são os estudos que abordam as manifestações

clínicas em pacientes com TB/COVID-19. Alguns outros aspectos merecem destaque nessa população, pois há relatos na literatura da preocupação dos achados radiológicos não específicos, da reativação da ILTB devido ao uso de imunomoduladores, da gravidade do caso nos pacientes com TB pré-existente e a interação medicamentosa dos antituberculosstáticos com os tratamentos empregados para COVID-19 (Kumar et al., 2020).

1.5 Impacto da COVID-19 no diagnóstico de TB

A coinfeção TB/COVID é um motivo de preocupação para a saúde pública, pois existe maior risco de morte para esses pacientes se comparado àqueles com diagnóstico somente de COVID-19 (Maia, 2022). Segundo Maia (2022), durante a pandemia (2020-2021), o número médio de notificações de TB no Brasil diminuiu em 6.501 casos quando comparados ao período de 2017 a 2019. Srivastava e Jaggi (2022) relatam uma queda da notificação e diagnóstico da TB em 2020, porém observou um aumento de casos confirmados de TB em relação ao ano de 2019.

De acordo com os dados fornecidos pelo Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”, foram notificados em 2020 um total de 16.118 casos novos de TB no Estado de São Paulo, com uma queda de 11% em relação ao ano de 2019, sendo 5.697 casos na capital, 2.912 casos na região metropolitana do Estado de São Paulo, 4.299 casos no interior e 1.565 casos na baixada santista (comunicação pessoal).

Com início dos bloqueios das atividades dos países durante a pandemia, conhecido por todos como *lockdown*, verificou-se a diminuição da procura pelos atendimentos aos serviços de saúde, dificultando o diagnóstico dos sintomáticos respiratórios e principalmente da ILTB. Estimase que 45% das pessoas não foram testadas para TB-MDR. No Brasil, houve um decréscimo de 14% na realização de testes para detecção de TB durante esse período, consequentemente causando atraso no diagnóstico, com a possibilidade de impactar no aumento de casos de TB-MDR no futuro

(Migliori et al., 2022). Em 2019, no Estado de São Paulo foram notificados 37 casos de TB-MDR, 21 casos de TB-MDR em 2020 com queda de 43% dos casos, dados fornecidos pelo Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac” (comunicação pessoal).

Os dados recentemente publicados pela OMS (WHO, 2022) mostram que a pandemia de COVID-19 teve um impacto negativo nos programas de controle de TB e a redução no número de pessoas diagnosticadas em 2020-2021 sugere que o número de pessoas que deixaram de ser diagnosticadas e tratadas tem crescido, o que leva a um aumento da transmissão e do número de mortes.

As medidas de prevenção, como o uso de máscaras, reduziram a transmissão das doenças como a COVID-19. No entanto, o isolamento domiciliar propiciou a transmissão entre familiares e residentes de um mesmo local, ou seja, os bloqueios foram eficazes para a redução dos casos de COVID-19, mas não nos casos da TB. Os casos de TB não tratados e não diagnosticados podem estar contribuindo para a transmissão domiciliar (Srivastava e Jaggi, 2022). Os indicadores mostram que haverá mais de 6,3 milhões de casos de TB e 1,4 milhões de mortes no período entre 2020 e 2025 (Migliori et al., 2022; Acuña-Villaorduña et al., 2018).

1.6 Populações vulneráveis

Visto que, no Brasil, não será alcançada a meta da “Estratégia Fim da TB” estabelecida pela OMS, que consiste na redução de 95% da mortalidade e 90% da incidência de TB, no período de 2015 a 2035 (Maciel et al., 2020) pelo estabelecimento dos três pilares, voltados a atenção do paciente, componente social e inovação e pesquisa, será necessário estabelecer novas formas de pensar sobre a eliminação e o controle da TB (Marciniuk et al., 2017).

De acordo com o Boletim Epidemiológico Especial (Brasil, 2020a),

no ano de 2019 houve uma tendência à elevação na incidência da TB no país, e a associação de TB e COVID-19 pode ter uma maior probabilidade de ocorrência, sobretudo em grupos de populações vulneráveis.

Em todo o mundo há uma grande preocupação com as populações mais vulneráveis ao adoecimento por TB. Neste contexto, ressalta-se uma preocupação adicional com a PPL, com as pessoas em situação de rua e as institucionalizadas (Chen et al., 2020a). Segundo os dados do MS (Brasil, 2019a), as populações vulneráveis, como a PPL apresentam um risco 28 vezes maior de adoecimento por TB e correspondem a 8,3% dos casos novos em comparação com a população em geral.

Uma das populações vulneráveis mais atingidas pela TB é a PPL. Conforme informado pelo Departamento Penitenciário Nacional, a partir de dados do Levantamento Nacional de Informações Penitenciárias (Infopen) de 2021, o Brasil possui uma população prisional de 679.577 indivíduos (Brasil, 2019c). No Estado de São Paulo em 2019 foram notificados 1.911 casos novos de TB e 1.644 casos em 2020, dados fornecidos pelo Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac” (comunicação pessoal).

Essa população requer medidas específicas para o tratamento de diferentes doenças contagiosas, como a TB, principalmente neste momento, em relação à pandemia da COVID-19, uma vez que as recomendações das medidas de distanciamento social, isolamento, higienização de mãos e superfícies são mais difíceis de serem implantadas em ambientes de residência coletiva e confinamento. As condições de aglomerações, insalubridade e serviços de saúde precários aos quais essa população está exposta, facilitam a alta incidência das doenças infecciosas (Brasil, 2019c).

Outro agravante são os baixos investimentos na busca do diagnóstico e tratamento para esta população, além do potencial risco de transmissão para a comunidade, diante das saídas temporárias, visitas e contato com profissionais da unidade de detenção, o que pode agravar a situação dos sistemas de saúde (Kinner et al., 2020).

Conforme dados do Departamento Penitenciário Nacional, desde o

início da pandemia até setembro de 2022, foram detectados 67.266 casos de coronavírus no sistema penitenciário brasileiro e 15.052 no estado de São Paulo (Brasil, 2022c).

1.7 Diagnóstico laboratorial

1.7.1 Tuberculose

O diagnóstico laboratorial da TB é feito por meio da baciloscopia direta, com utilização do método de coloração de Ziehl-Neelsen, que permite a pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) em amostras pulmonares e extrapulmonares. A sensibilidade de detecção do método varia entre 60% a 80% dos casos de TB pulmonar em adultos e é utilizado também para avaliar pacientes em controle de tratamento (Brasil, 2019a).

O teste Xpert[®] MTB/RIF Ultra (Cepheid, EUA), denominado no Brasil de teste rápido molecular (TRM-TB), é outro teste de diagnóstico, porém baseado na amplificação de ácidos nucleicos para detecção de DNA dos bacilos do *M. tuberculosis* pela técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real. A sensibilidade do método é maior que 90% e detecta simultaneamente a resistência a rifampicina, com uma sensibilidade de 95% (Cepheid, 2020).

O MS recomenda a realização do TRM-TB em pelo menos uma amostra para casos novos, em pessoas privadas de liberdade, pessoas em situação de rua, em profissionais de saúde, em indígenas e em contatos de TB-MDR (Brasil, 2022).

A cultura é o método de maior especificidade e sensibilidade para diagnóstico da TB, considerado o padrão ouro. Após tratamento com agentes descontaminantes, as amostras biológicas são semeadas em meios líquidos ou sólidos. O meio MGIT (Becton Dickinson, EUA) é um dos meios líquidos e sua incubação pode ser automatizada no equipamento BD BACTEC MGIT[™] 960, disponível em vários laboratórios no Brasil. A leitura é realizada por esse sistema a cada hora e o tempo de positividade varia entre 5 a 12 dias e 42 dias para os negativos (Brasil, 2019a). A cultura sólida

realizada em meio Lowenstein Jensen ou Ogawa-Kudoh, é realizada visualmente a cada semana durante 8 semanas e os resultados negativos são liberados com 60 dias (Brasil, 2022).

No Brasil, a cultura é recomendada para os casos em que, ao final do segundo mês de tratamento, a baciloscopia seja persistentemente positiva e nos casos de retratamento após falência ao esquema de tratamento ou recidiva após abandono/cura (Brasil, 2008). Esta recomendação também é feita para pacientes de outros grupos considerados de risco para TB resistente, tais como a população em situação de rua, contatos de TB pulmonar resistentes, indivíduos privados de liberdade, institucionalizados e profissionais da saúde (Brasil, 2008).

1.7.2 COVID-19

Para a investigação laboratorial dos casos de COVID-19, o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC, EUA) preconiza a coleta de amostras do trato respiratório superior (nasofaringe e orofaringe). No entanto, existem estudos que relatam a utilização de amostras do trato respiratório inferior tais como escarro e lavado broncoalveolar (Wang et al., 2020; Lai et al., 2020).

Existem hoje no mercado opções de testes laboratoriais para detecção do vírus SARS-CoV-2, mas o teste padrão ouro é a reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa em tempo real (RT-qPCR) (PAHO/WHO, 2020). O MS recomenda o método RT-qPCR para confirmação de casos suspeitos e óbitos por COVID-19, além da pesquisa de síndrome respiratória aguda grave.

O diagnóstico laboratorial, além do teste molecular RT-qPCR, pode ser realizado por sorologia, método que detecta anticorpos IgM, IgA e IgG, produzidos pela resposta imunológica do paciente frente a infecção pelo vírus SARS-CoV-2, podendo diagnosticar infecção ativa ou infecção prévia.

Os principais testes utilizados são: Ensaio Imunoenzimático (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* – Elisa), Imunoensaio por Quimioluminescência (Clia) e Imunoensaio por Eletroquimioluminescência (Eclia). Testes rápidos, de antígeno (infecção ativa) em amostra do trato respiratório superior, e de anticorpos (IgG e IgM) em amostra de sangue, realizada pela metodologia de imunocromatografia, estão disponíveis no mercado (MS, 2021).

A partir de estudos sobre as características estruturais do vírus SARS-CoV-2 foram desenvolvidas técnicas moleculares RT-qPCR para a detecção deste vírus com base nos genes E, RdRp, e N (Helmy et al., 2020). Este vírus envelopado possui RNA fita simples que codifica 27 poliproteínas com fase de leitura aberta (ORF) e aproximadamente 30.000 bases. Além disso, na extremidade 5', a ORF1ab é o maior gene e está envolvido na codificação de 16 proteínas não estruturais. Entre os genes que codificam as proteínas não estruturais do SARS-CoV-2 está a RNA polimerase dependente de RNA (RdRP) (Helmy et al., 2020). Na extremidade 3' existem genes que codificam as seguintes proteínas estruturais: Spike (S), responsável pela ligação do vírus ao receptor e fusão com a membrana celular; Envelope (E), auxilia na montagem de partículas virais completa, que não são necessárias para replicação viral mas são essenciais para a infectividade e evolução da doença; Membrana (M) participa na montagem de novas partículas virais; e Nucleocapsídeo (N) interage com o RNA viral para formar a ribonucleoproteína (Kandeel et al., 2020).

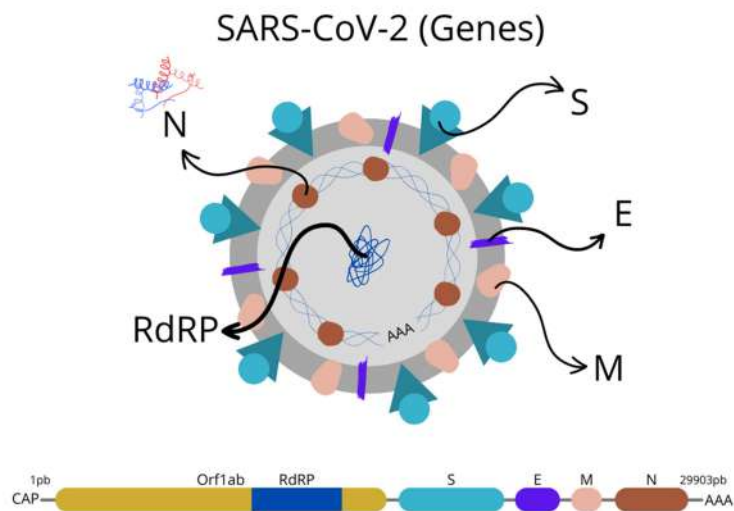


Figura 1. Estrutura do vírus SARS-Cov-2. Desenho esquemático da localização dos genes N, S, E, M, RdRP.

Fonte: Autoria própria, criado em https://www.canva.com/pt_br/

1.7.3 Coinfecção TB/COVID-19

Os sintomas comuns da COVID-19 são dor de cabeça, dor no corpo, dor de garganta, febre, tosse, dores musculares, fadiga e dispneia (Vieira et al., 2020; Sharma et al., 2021) No entanto, esses sintomas também podem ser causados por outras doenças que acometem as vias respiratórias, incluindo pneumonia, bronquiolite, bronquite aguda, influenza, TB, entre outros, o que pode dificultar a diferenciação entre TB e COVID-19 (Silva et al., 2021).

As populações mais vulneráveis, como os indivíduos PPL, que vivem em ambientes superlotados com saneamento e acesso precário a cuidados básicos, apresentam maior risco de adoecimento por vários tipos de doenças quando comparados à população em geral (Beaudry et al., 2020). Obviamente, nesta população, as medidas de contenção de quaisquer doenças tendem a ser mais difíceis de implementação (Neto et al., 2019).

1.8 Justificativa

Surtos de COVID-19 nas unidades prisionais podem ser difíceis de conter, com o agravante da natureza assintomática de alguns casos, que não deixam de ser contagiosos (Buitrago-Garcia et al., 2020). Sendo assim, para evitar a sobrecarga do sistema de saúde prisional, é imprescindível o aumento da testagem, como um elemento de contribuição para o controle da disseminação, pela possibilidade de identificação precoce do vírus em indivíduos assintomáticos (Gouvea-Reis et al., 2021). Nesse cenário, é importante realizar o diagnóstico precoce de casos de COVID-19, sem minimizar o diagnóstico da TB, dando preferência ao diagnóstico conjunto que pode proporcionar a detecção de possíveis casos de coinfeção TB/COVID-19.

Com a identificação dos indivíduos coinfectados, esta abordagem poderá contribuir para a adoção precoce de medidas de isolamento de casos, monitoramento de contatos e quebra da cadeia de transmissão não somente para a PPL, uma vez que há uma grande rotatividade de pessoas nos presídios representada por familiares, visitantes, colaboradores e outros profissionais (Sanchez et al., 2020).

Tendo como base que a TB está entre as condições clínicas de risco para o desenvolvimento de complicações quando associadas à COVID-19, é imprescindível que seja mantida a continuidade de prevenção, diagnóstico, tratamento e atendimento às pessoas com TB. Dessa forma, sugere-se que a aplicação de testes diagnósticos para detecção de COVID-19 em amostras de escarro, material primário para detecção de TB, seja útil para ampliar a possibilidade de diagnóstico precoce em indivíduos assintomáticos ou oligossintomáticos, sobretudo em populações em condições de vulnerabilidade, destacando-se a PPL (Brasil, 2020b).

Atualmente a rede de diagnóstico laboratorial de TB utiliza a plataforma de equipamentos GeneXpert (Cepheid) para o diagnóstico e detecção de resistência a rifampicina com o uso dos cartuchos Xpert MTB/RIF Ultra. Esta plataforma também pode ser utilizada para a realização

do teste Xpert Xpress SARS-CoV-2 que, no presente trabalho, chamaremos de teste rápido molecular COVID (TRM-COVID).

O TRM-COVID foi autorizado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) e fornece resposta rápida na detecção de casos de COVID-19, tornando-se importante ferramenta no diagnóstico. O teste apresenta 97% de sensibilidade e 97% de especificidade, de acordo com o estudo de Cao e col. (2022), exibindo porcentagens elevadas frente a outros testes moleculares, quando analisadas amostras de secreção nasofaríngea e lavado/aspirado nasal (Cepheid, 2020). Alguns estudos têm demonstrado ser viável a utilização de amostras de escarro na detecção do SARS-CoV-2 (Wang et al., 2020; Deng et al., 2020).

Menezes e col. (2020) avaliaram a sensibilidade do método RT-PCR em diferentes amostras biológicas para detecção do SARS-CoV-2 e observaram 93% para amostras de lavado broncoalveolar, 72% para escarro, 63% para swab nasal, 32% para swab de orofaringe, 29% para fezes, 1% para sangue e 0% para urina.

Wölfel e col. (2020) identificaram RNA viral em ensaio de RT-PCR quantitativo específico para o gene N em amostras de escarro, mesmo após a remissão dos sintomas (Wölfel et al., 2020). No estudo de Pan e col. (2020) foi demonstrado que as amostras de escarro geralmente tinham cargas virais mais altas do que as amostras de orofaringe (Pan et al., 2020).

O presente estudo tem como foco prioritário a padronização do uso de amostras de escarro para diagnóstico de COVID-19 na plataforma GeneXpert, sendo a mesma amostra de escarro para o diagnóstico da TB. Considerando que no momento a metodologia para detecção de COVID-19 está validada somente para amostras de nasofaringe, haverá inovação no processo de detecção do SARS-CoV-2 e esta melhoria poderá ser utilizada no Sistema Único de Saúde (SUS).

Baseados em estudos prévios e na rotina diagnóstica de TB no Centro de Laboratório Regional do Instituto Adolfo Lutz de Santo André (CLR-IAL Santo André), os cartuchos de Xpert MTB/RIF ULTRA, utilizados para a detecção do CMTB, podem processar tanto a amostra de escarro *in*

natura como o sedimento obtido no processo de descontaminação de amostras para cultura. Seguindo o mesmo raciocínio, a avaliação da utilização deste sedimento na padronização do Xpert® Xpress SARS-CoV-2 visa otimizar a integração do uso das amostras de escarro na rotina laboratorial de diagnóstico da TB e da COVID-19 (Brasil, 2022a).

A nova abordagem desse teste poderá impactar positivamente o SUS, pois demandará menor número de profissionais para sua realização e diminuirá o risco na coleta e manipulação do material biológico. Não só a diminuição da quantidade de insumos utilizados irá gerar economia aos cofres públicos, mas a diminuição do tempo de liberação do resultado permitirá o rápido isolamento do paciente e diminuição da cadeia de transmissão do vírus, resultando em menor número de pacientes infectados e tratados.

Uma vez que a TB e a COVID-19 afetam os pulmões, com sintomas de tosse e febre, a abordagem adotada pelo estudo também poderá contribuir para o diagnóstico diferencial ou conjunto das duas doenças.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Padronizar a detecção molecular de SARS-CoV-2 em amostras de escarro de pacientes com suspeita de tuberculose em população privada de liberdade na região do ABC/SP e avaliar sua aplicação na detecção de pacientes com coinfeção TB/COVID-19 na mesma amostra.

2.2 Objetivos Específicos

1. Padronizar a extração de RNA viral a partir de amostras de escarro conhecidamente positivas e negativas;
2. Avaliar os limites de detecção do teste Xpert® Xpress SARS-CoV-2;
3. Analisar a acurácia diagnóstica dos métodos moleculares RT-PCR e Xpert® Xpress SARS-CoV-2
4. Avaliar casos de TB pelo método GeneXpert MTB/RIF e confirmar os casos positivos com cultura;
5. Avaliar a coinfeção TB/COVID-19 na população privada de liberdade sintomática respiratória;
6. Verificar o tempo de liberação de resultado da detecção de SARS-CoV-2 a partir dos diferentes materiais clínicos e técnicas empregadas.
7. Avaliar custo do diagnóstico do COVID-19 pelos métodos Xpert® Xpress SARS-Cov-2 e RT-PCR, tendo o escarro como material biológico.

3. METODOLOGIA

3.1 Tipo de abordagem

A pesquisa foi do tipo qualitativa, com avaliação de indivíduos pertencentes à população privada de liberdade com suspeita de tuberculose pulmonar, custodiados no Centro de Detenção Provisória (CDP) de Mauá, na região do ABC/SP, para padronização da detecção molecular de SARS-CoV-2 na plataforma GeneXpert em amostras de escarro. Esta população foi escolhida por se tratar de população vulnerável, que já realiza rotineiramente o teste para diagnóstico de TB e, por apresentar maior probabilidade de coinfeção, a qual necessita de teste rápido com menor risco possível, para cortar a cadeia de transmissão o quanto antes e minimizar os procedimentos administrativos resultantes da detecção de um indivíduo infectado.

3.2 Amostragem/ Participantes da Pesquisa

O CLR-IAL Santo André atende a região do grande ABC do Estado de São Paulo, que compreende a região de Mauá, onde se localiza o CDP, a qual encaminha amostras dos custodiados semanalmente para realização de TRM-TB e cultura para TB, sendo estes os participantes do estudo.

De acordo com dados da Secretaria de Administração Penitenciária – SAP (<http://www.sap.sp.gov.br/uni-prisionais/cdp.html###>) a população prisional do CDP do Município de Mauá (CDP Mauá), em junho de 2022 estava em torno de 983 indivíduos.

O tamanho da amostra utilizada neste estudo foi determinado aplicando a fórmula $N \geq z^2 P(1-P)/d^2$, onde N é o tamanho da amostra; P a prevalência esperada (máxima de 3,5%); d é a margem de erro e Z igual a 1,96 para um intervalo de confiança de 95%. Dessa forma, seria necessário

um mínimo de 50 amostras para a execução do estudo. Com o objetivo de minimizar o erro amostral, foi utilizado o N=100 amostras.

Para cada participante foram coletadas uma amostra de escarro pareada com uma amostra de *swab* combinado (nasal e orofaríngeo), sendo um *swab* para narina esquerda e direita e um *swab* para orofaringe. Os dois *swabs* foram colocados juntos em um tubo com 3 mL de solução fisiológica e testados simultaneamente.

As coletas foram realizadas no período de julho a novembro de 2021, com auxílio da equipe do CDP.

Para a realização dos testes com as amostras dos pacientes selecionados, foi elaborado algoritmo para o estudo (Figura 2).

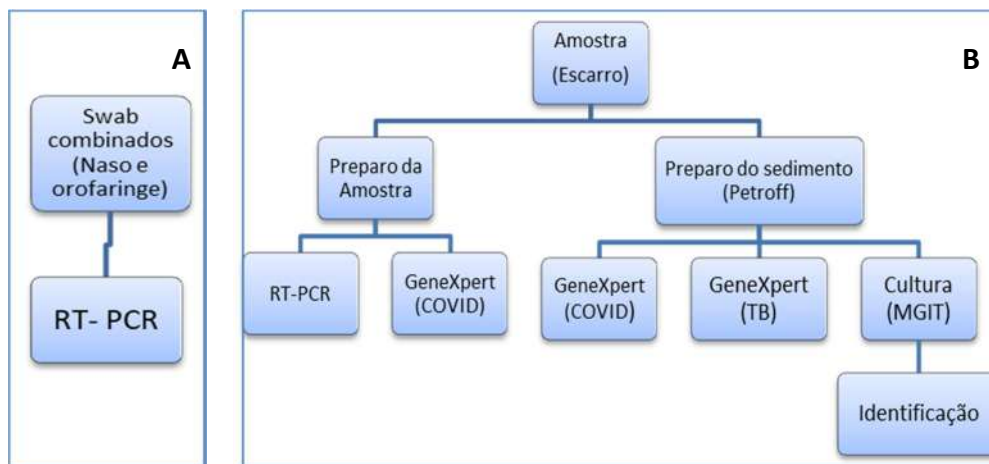


Figura 2. Fluxograma de realização dos testes para avaliação da utilização de amostra respiratória para detecção de COVID-19 (A) e do escarro para diagnóstico de TB e COVID-19 (B).

Fonte: autoria própria.

3.3 Aspectos éticos

Antes da realização da coleta dos materiais biológicos foi explicado ao participante sobre os objetivos da pesquisa, benefícios e possíveis riscos, bem como o esclarecimento de quaisquer dúvidas que o participante tivesse referentes à sua participação na pesquisa. Para a efetivação da coleta foi obtido o consentimento do paciente com a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 1).

Este trabalho é parte integrante do projeto PPSUS-2020, com financiamento FAPESP (processo 2020/12124-0) e aprovação pelo Comitê Técnico Científico do Instituto Adolfo Lutz (CTC), sob o número 42-M/2020 (Anexo 2) e Comitê de Ética em Pesquisa do IAL (CEPIAL) – CAAE: 39514520.6.0000.0059 (Anexo 3).

O estudo teve anuência do diretor do Grupo Regional de Ações de Trabalho e Educação (GRATE) do COREMETRO (Coordenadoria Regional de Unidades Prisionais da Região Metropolitana) (Anexo 4).

3.3.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo os indivíduos sintomáticos respiratórios, do sexo masculino, maiores de 18 anos, provenientes do sistema carcerário do CDP Mauá, pertencentes à população privada de liberdade, com suspeita de tuberculose pulmonar. Para a coleta de escarro, foram consideradas as amostras com volume mínimo de 2 mL para uso neste estudo.

3.3.2 Critérios de exclusão

As amostras de escarro com volumes insuficientes não foram incluídas, ou seja, amostras provenientes de pacientes com critérios de inclusão, mas com volume menor que 2 mL não foram processadas devido aos erros metodológicos implicados. As amostras de nasofaringe com *swabs* sem solução fisiológica, amostras sem identificação, ou prazo de entrega no laboratório após 72 horas da coleta do material, não foram incluídas no estudo, pois estas condições inviabilizam a realização de algum dos testes. Não foram incluídas no estudo as amostras de secreção nasal e de orofaringe provenientes de pacientes sem o consentimento e assinatura do TCLE.

3.3.3 Biossegurança

Para a realização dos testes RT-PCR foram utilizadas medidas de biossegurança em todas as etapas dos procedimentos da fase pré-analítica, analítica e pós-analítica. Os equipamentos de proteção individual como máscara N95, óculos de proteção ou protetor facial, avental descartável manga longa, calçado fechado e luvas foram utilizados (SES, 2021). Para o preparo das amostras foi utilizada cabine de segurança biológica Classe II A2 e as salas de preparação de amostras, extração de RNA viral, cabine de segurança, pipetas, maleta de transporte, estantes, bancadas, equipamentos foram descontaminados com hipoclorito 1% e álcool 70 % (de acordo com o descontaminante apropriado para cada equipamento), bem como todo o material biológico foi submetido a autoclavação antes de seu descarte em local apropriado.

Para realização dos testes Xpert Xpress SARS-Cov-2, os mesmos equipamentos de proteção individual foram utilizados. Para esta metodologia é necessário apenas uma sala, pois o sistema GeneXpert automatiza e

integra a preparação de amostras, a extração e amplificação de ácidos nucleicos e a detecção das sequências-alvo em amostras. Os cartuchos são de utilização única e descartáveis, sendo descartados como material biológico após o seu uso (Cepheid, 2020).

3.4 Local da Realização da Pesquisa

A região do Grande ABC está localizada a sudeste da Região Metropolitana do Estado de São Paulo, sendo formada por sete municípios: Santo André, São Bernardo do Campo, São Caetano, Diadema, Mauá, Ribeirão Pires e Rio Grande da Serra, perfazendo uma área de 825 km² e contemplando uma população de 2.798.048 habitantes (estimativa do IBGE para 2021). A região é atendida por quatro CDP, sendo: CDP Diadema, CDP Santo André, CDP São Bernardo do Campo e CDP Mauá, com uma população total aproximada de 3.500 detentos (SAP, 2022).

As amostras foram encaminhadas pelo CDP Mauá e os testes foram realizados no CLR-IAL Santo André, que é referência na realização de exames dos municípios na região do Grande ABC.

Brasil



São Paulo



Região do ABC

Figura 3. Localização da região do ABC no Estado de São Paulo.

Fonte: <https://br.depositphotos.com/stock-photos/sao-paulo-3d.html>
<https://ufabcsocial.files.wordpress.com/2008/08/abc-mapa.jpg>

3.5 Amostras

3.5.1 Coleta de Escarro

As amostras de escarro foram obtidas conforme já estabelecido na rotina diagnóstica de TB pulmonar da Rede Estadual de São Paulo. Basicamente, após o profissional de saúde orientar os indivíduos e o participante voluntariamente concordar em participar do estudo e assinar o TCLE, o escarro foi coletado em potes plásticos, previamente identificados com os dados do paciente e data de coleta, conforme Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil (Brasil, 2019a).

3.5.2 Coleta de secreção nasal e de orofaringe (swabs combinados)

Para a obtenção de amostras de trato respiratório superior para diagnóstico de COVID-19, foram seguidas as recomendações da OMS e do CDC, com a utilização de dois *swabs* combinados, ou seja, um *swab* para as duas narinas e um *swab* para a orofaringe, transportados juntos em tubo de tampa de rosca com três mL de solução fisiológica estéril (<https://www.cdc.gov/flu/pdf/professionals/flu-specimen-collection-poster.pdf>).

A coleta foi realizada em indivíduos sintomáticos respiratórios, a partir do 1º até o 8º dia de sintomas, por profissional da saúde treinado e atuante no CDP Mauá, seguindo todas as instruções de biossegurança, inclusive o uso de equipamentos de proteção individual adequados para

garantir a proteção do profissional. No mesmo momento da coleta do swab, foi fornecido o pote para o participante realizar a coleta do escarro.

As amostras foram encaminhadas ao CLR-IAL Santo André, na mesma data da coleta, adequadamente identificadas, refrigeradas de 2°C a 8°C, cadastradas no Sistema de Gerenciamento de Ambiente Laboratorial (GAL), acompanhadas das respectivas requisições e fichas de notificação.

3.6 Testes realizados

3.6.1 Padronização do protocolo de extração automatizada do RNA de SARS-CoV-2 em amostras de escarro

Para padronização deste protocolo, foi separada uma amostra de escarro, da rotina de diagnóstico da tuberculose. A amostra foi testada por RT-qPCR para SARS-CoV-2 e apresentou resultado negativo. Esta amostra foi dividida em oito alíquotas de 600 µL. Cada alíquota foi batizada com 200 µL de secreção nasofaríngea (SNF) positiva para SARS-CoV-2, testada previamente e com Ct conhecido, e foram acrescentados 1000 µL de solução fisiológica estéril (Figura 4). As alíquotas foram diluídas em solução fisiológica 0,9% estéril correspondente ao dobro do volume da amostra e homogeneizadas em vórtex. O RNA viral de cada alíquota batizada foi extraído em duplicata, obtendo-se 16 extrações, realizadas pela metodologia automatizada por beads magnéticas, conforme instrução do fabricante Extracta Kit Fast DNA e RNA Viral (Loccus do Brasil® Cotia, SP, Brasil) (Figura 5).

De cada uma das extrações foi realizada a RT-qPCR utilizando kit comercial SARS-CoV-2 Assay (Allplex™ Seegene Inc., Seoul, Republic of Korea) em quadruplicada, totalizando 64 reações. A partir dos resultados foram selecionadas as oito reações com valores de Ct para os Genes E e N correspondentes aos verificados nas amostras de SNF (Tabela 1).

Esse kit comercial foi escolhido para ser utilizado no presente estudo por detectar o Gene N e o Gene E, para efeito de comparação com os resultados do Xpert Xpress SARS-Cov-2.

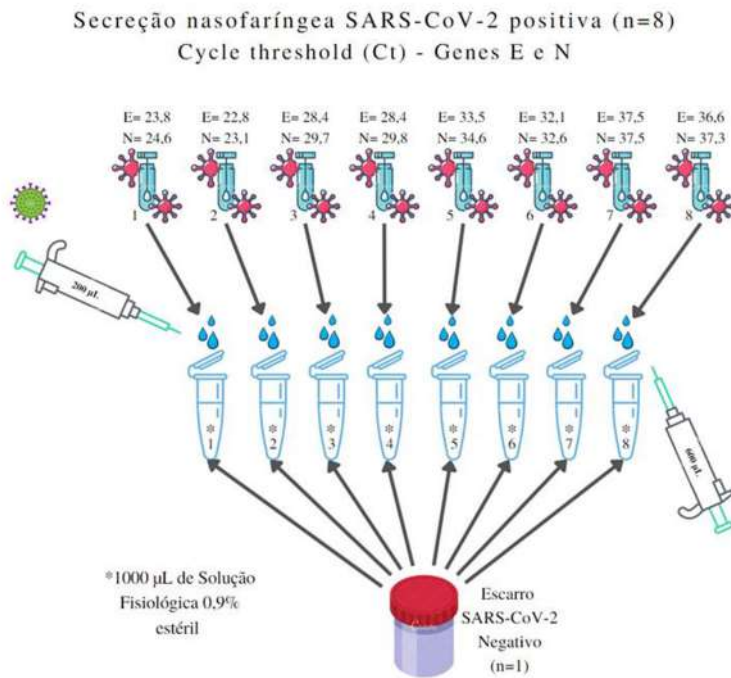


Figura 4. Esquema de diluição de amostras para padronização do protocolo de extração do RNA de SARS-CoV-2 em amostras de escarro.
Fonte: autoria própria, criado em https://www.canva.com/pt_br/

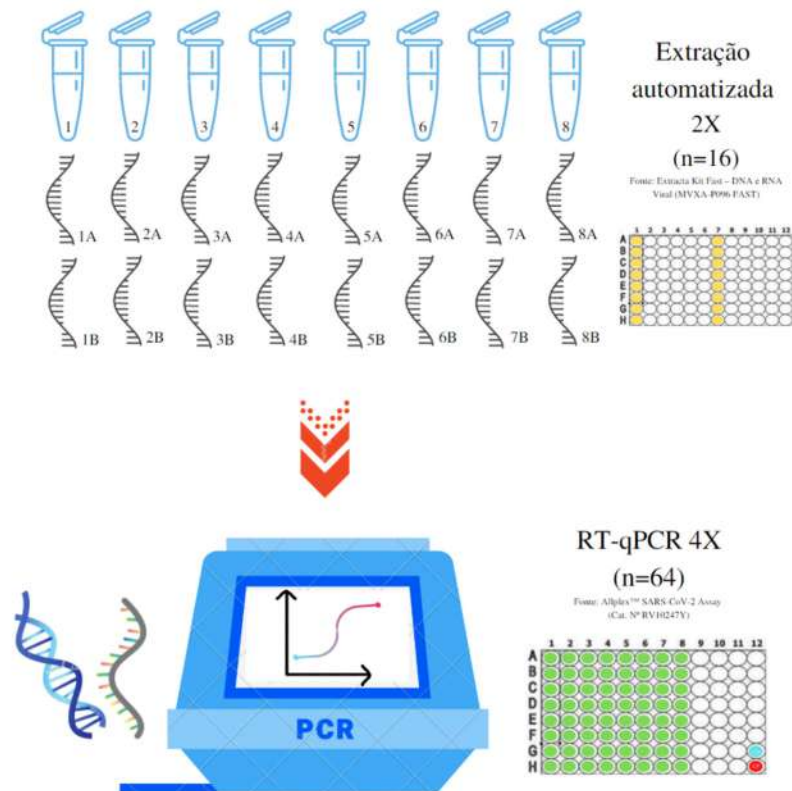


Figura 5. Desenho esquemático da extração automatizada (Loccus do Brasil®) e RT q-PCR para detecção de SARS-CoV-2 em amostras de escarro.

Fonte: autoria própria, criado em https://www.canva.com/pt_br/

De acordo com o manual do fabricante, o limite de detecção (LoD) é a concentração mais baixa de partículas virais que o método consegue detectar. Para o Xpert Xpress SARS-CoV-2 foi utilizada pelo fabricante a linhagem USA_WA1/2020, preparada em meio de transporte viral e matriz clínica de exsudado nasofaríngeo. O fabricante determinou o LoD deste kit com um nível de concentração igual ou superior a 95% e os resultados foram de 0,0050 UFP/mL para o alvo N2 e para e 0,0200 UFP/mL para o alvo E (Cepheid, 2020).

Para determinar o LoD do Kit Allplex™ SARS-CoV-2 Assay, o RNA genômico viral foi obtido a partir de linhagens TWIST BIOSCIENCE (Cat. N.º 102024) e BEI Resources (Cat. N.ºNR-52286) diluídas em série em matriz

de amostra de secreção nasofaríngea negativa. O LoD do Allplex™ SARS-CoV-2 Assay para o RNA genômico de TWIST BIOSICENCE foi de 5.000 cópias/mL (= 50 cópias de RNA/rxn) e para BEI Resources foi de 1.000 equivalentes de genoma viral/mL (= 1,0 GE/μL), com níveis de concentração iguais ou superiores a 95% (Seegene, 2021).

3.6.2 Teste Rápido Molecular Xpert® Ultra MTB/RIF™ (TRM-TB)

O teste consiste na extração, purificação, concentração e amplificação de ácidos nucleicos por reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR).

Após o tratamento da amostra pela metodologia de *Petroff* modificado (Pedro et al., 2011), foi utilizado 1 mL do sedimento acrescidos de 2 mL do tampão fornecido pelo kit. A mistura foi homogeneizada em vórtex e incubada em temperatura ambiente por 15 minutos. Decorrido esse período, o volume de 2 mL foi inserido no cartucho e colocado no equipamento, conforme instruções do fabricante. As etapas de captura dos bacilos existentes na amostra, lavagem da membrana com solução tampão para eliminação de inibidores, lise dos bacilos para liberação de DNA, eluição e reação de PCR foram realizadas automaticamente pelo equipamento. Para resultados positivos, com detecção de MTB, o equipamento libera em aproximadamente 80 minutos e em casos negativos os resultados são liberados em 70 minutos (Cepheid, 2019).

3.6.3 Teste Rápido molecular Xpert® Xpress SARS-CoV-2 (TRM-COVID)

Trata-se de um teste de diagnóstico *in vitro* automatizado para detecção qualitativa do ácido nucleico do SARS-CoV-2 analisando os genes E e N2 (N2, região do Gene N) (Falasca et al., 2020) nos sistemas de instrumentos GeneXpert (Cepheid, 2020), o mesmo utilizado para diagnóstico de TB.

A) Teste para detecção de SARS-CoV-2 a partir de escarro *in natura*

Para o preparo da amostra foram utilizados 600 µL do escarro *in natura* em tubo contendo 1,2 mL de solução fisiológica. A mistura foi homogeneizada em vórtex até completa dissolução. Em seguida, foram adicionados 300 µL da mistura no cartucho Xpert® Xpress SARS-CoV-2 com a pipeta disponibilizada no kit. O cartucho foi manualmente carregado no equipamento e identificado na plataforma do sistema GeneXpert, que realizou o processamento automático da amostra, sem a intervenção manual do analista. O resultado foi liberado em até 50 minutos (Cepheid, 2020).

B) Teste para detecção de SARS-CoV-2 a partir de sedimento da cultura

Para avaliar as condições que poderiam ser implantadas em uma rotina diagnóstica, foram utilizados 300 µL dos sedimentos provenientes do preparo para cultivo de micobactérias, os quais foram transferidos com a pipeta Pasteur própria do kit para a câmara de amostra do cartucho Xpert® Xpress SARS-CoV-2. O cartucho foi manualmente carregado no equipamento e identificado na plataforma do sistema GeneXpert, que realizou o processamento automático da amostra, sem a intervenção manual do analista. O resultado foi liberado em até 50 minutos (Cepheid, 2020).

3.6.4 Extração/purificação de RNA de SARS-CoV-2 por *beads* magnéticas

Para a realização da extração/purificação do RNA viral, foi utilizado o equipamento EXTRACTA 32 (Loccus do Brasil®, 2020) e o kit FAST-DNA e RNA Viral (MVXA-P016FAST). O princípio do teste é baseado em *beads* magnéticas revestidas de dióxido de silício, que adsorve as moléculas

negativamente carregadas, promovendo ligações com ácidos nucleicos presentes na amostra. A separação ocorre por meio de hastes magnetizadas com alto poder de atração e várias etapas de lavagem e eluição. O kit é composto por placas que processam no máximo 16 amostras. Para o preparo da placa foram adicionados 100 µL da amostra e 5 µL de proteinase K nas colunas 1 e 7. A placa foi colocada no equipamento e, após aproximadamente 30 minutos, o material, que passou por diversas etapas de lavagem, estava purificado nas colunas 6 e 12, respectivamente. Esse material foi transferido para um microtubo e armazenado a -70°C até o momento da reação.

3.6.5 PCR em tempo real para a detecção de SARS-CoV-2

Como controle do TRM-COVID foi utilizada a PCR por transcrição reversa em tempo real (Wölfel et al., 2020), técnica considerada padrão ouro para a detecção qualitativa de SARS-CoV-2, utilizada na rotina diagnóstica no CRL- IAL Santo André a partir de *swab* combinado (nasal e orofaringe) e as amostras de escarro foram preparadas conforme descrito no item 3.6.3.

Foi preparada a master mix, utilizando o kit Allplex™ SARS-CoV-2 Assay (Seegene), com os seguintes reagentes e volumes por reação: 5 µL de SARS2 MOM, 5 µL EM8 e 5 µL de água livre de RNase. Para o preparo da placa foram colocados 15 µL da master mix na placa de reação da PCR e 5 µL do material extraído em cada poço. Em seguida, a placa foi vedada com selo óptico para placa de PCR, submetida a centrifugação para retirar bolhas e inserida no aparelho QuantStudio5 (ThermoFisher Scientific). Após o término da corrida, de cerca de 110 minutos, as curvas de amplificação dos genes E, N e RdRP foram analisadas utilizando o software QuantStudio™ Design & Analysis Software.

3.6.6 Tempo de execução dos testes

O tempo de execução dos testes foi calculado para cada metodologia, com base no tempo de preparo e reação, assim como na capacidade analítica de cada equipamento.

3.6.7 Cultura em meio líquido – *BD BACTEC MGIT 960™*

A cultura possui maior sensibilidade e especificidade e é um dos métodos de referência para diagnóstico de TB (Brasil, 2022) por propiciar o isolamento do bacilo para posterior identificação da espécie e realização do teste de sensibilidade aos fármacos (TS) utilizados no tratamento da TB (Becton Dickinson, 2006).

O sistema BD BACTEC MGIT 960™ é um método de cultura líquida automatizado para isolamento primário de micobactérias a partir de amostras clínicas pulmonares e extrapulmonares (exceto sangue) e TS para o MTB (Brasil, 2008). Para a cultura, um volume aproximado de 1 mL da amostra foi tratado com igual volume de solução de NaOH 1N, contendo indicador vermelho de fenol. As amostras tratadas foram homogeneizadas e mantidas em estufa bacteriológica a 36°C por 15 minutos para fluidificação e descontaminação. Em seguida, foram centrifugadas a 3.000g durante 15 minutos. O sobrenadante foi desprezado em recipiente a prova de respingos e ao sedimento foi acrescentado HCl 1N gota a gota até a viragem para a cor amarela. Posteriormente, foi adicionada a solução neutralizante estéril (4 g de NaOH, 0,004 g de vermelho de fenol, 0,2 g de sulfato de alumínio e potássio, 1.000 mL de água destilada) gota a gota até a viragem da cor amarela para a cor rosa (Pedro et al., 2011). Uma alíquota de 0,5 mL do sedimento tratado foi semeada em tubos de meio de cultura líquido *Middlebrook 7H9* acrescidos de 800 µL de solução de enriquecimento e antibióticos – PANTA (Becton & Dickinson, Sparks, MD, USA). Os tubos foram incubados no sistema automatizado BD BACTEC MGIT 960™. Nesse sistema o protocolo utilizado é padronizado para finalização do teste em 42

dias, tempo estabelecido para considerar uma cultura negativa neste sistema. Resultados positivos na maioria das vezes levam menos tempo, em torno de 14 a 21 dias. A presença de BAAR nos tubos positivos foi confirmada por baciloscopia e a identificação foi realizada por meio do teste imunocromatográfico TB Ag MPT64 (Abbott Diagnostics, 2020), que utiliza anticorpos monoclonais anti-MPT64 para identificação rápida do CMTB. No caso de amostras de pacientes que atenderam aos critérios preconizados pelo MS, foi realizado o TS para os fármacos utilizados no tratamento da TB (Pedro et al., 2011; Brasil, 2022).

3.6.8 Identificação de espécie

Em toda cultura sinalizada como positiva pelo sistema automatizado MGIT 960-TB foi realizada a identificação presuntiva dos isolados por meio da análise microscópica em lâmina a partir do esfregaço de uma amostra/alíquota da cultura líquida. As culturas foram avaliadas quanto à pureza, presença de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) e formação de corda. O fator corda é um efeito causado por um componente da parede celular das micobactérias, o glicolípido dimicolato de trealose, que promove a ligação dos bacilos lado a lado, os quais, após coloração pela metodologia Ziehl Neelsen, podem ser vistos em disposição de paliçada, semelhante ao formato de uma corda e é uma característica responsável pela virulência do bacilo da TB (Coelho, 2007).

A presença da formação de corda é um teste presuntivo, utilizado para separação das espécies do complexo *M. tuberculosis* das micobactérias não tuberculosas (MNT), uma vez que a maioria das MNT não produz corda (Coelho, et al. 2007; Brasil, 2008; Brasil, 2010). Em caso de presença de BAAR, os isolados foram encaminhados ao IAL Central para identificação da espécie, de acordo com as técnicas preconizadas pelo MS (Brasil, 2008; Chimara et al., 2008).



Figura 6. Bacilos crescidos em meio líquido, dispostos em paliçada com formação de corda (Fator Corda). Coloração Ziehl Neelsen. Aumento 100x.

Fonte: Autoria própria

3.6.9 Teste de Sensibilidade – BD BACTEC MGIT 960™

O kit BD BACTEC MGIT 960™ é utilizado como um procedimento qualitativo rápido para o teste da sensibilidade do *M. tuberculosis* para vários fármacos utilizados nos esquemas primário e secundário de tratamento da TB.

O tubo indicador do crescimento de micobactérias (BD BBL MGIT Micobacteria Growth indicador tube) é um tubo que contém o meio líquido Middlebrook 7H9 modificado para o crescimento e a detecção de micobactérias. O sistema BD BACTEC MGIT 960™ é um método automatizado, que permite a detecção do crescimento da micobactéria por meio da fluorescência do composto rutênio impregnado em silicone no fundo de cada tubo. A fluorescência deste composto é inibida pela presença de oxigênio e, conforme o microrganismo consome este oxigênio, aumenta a

emissão de fluorescência, detectada pelo equipamento e interpretada em unidades de crescimento (GU).

No presente estudo foi utilizado o kit IR que possibilita a detecção de resistência aos fármacos isoniazida e rifampicina. Para o preparo das amostras, foi realizada uma suspensão com 1 mL das bactérias diluídas com 4 mL de solução fisiológica, conforme instrução do fabricante, e 0,5 mL desta suspensão foi inoculada a cada tubo de meio líquido contendo cada fármaco (Becton, Dickinson, EUA).

3.7 Análise dos dados

O desempenho do teste Xpert Xpress SARS-CoV-2 foi avaliado por meio do cálculo de sensibilidade e especificidade. As variáveis categóricas foram apresentadas em percentuais e foi utilizado o teste do qui-quadrado (χ^2) para avaliar a hipótese de homogeneidade de proporções. A comparação entre as concordâncias observadas e esperadas empregou o indicador *kappa*, com nível de significância de 5% para todos os testes.

3.8 Avaliação de custo

A pesquisa do custo de mercado dos insumos, equipamentos e hora/trabalho dos recursos humanos foi realizada por meio de ferramentas de busca na internet, consulta das notas fiscais do equipamento e kits já utilizados na rotina. Posteriormente, foram comparados os valores atualmente praticados no mercado com os custos do método proposto.

4. RESULTADOS

4.1 Padronização do protocolo de extração do RNA de SARS-CoV-2 em amostras de escarro

O protocolo de extração foi testado em amostra de escarro “batizada” com amostras de nasofaringe previamente testadas por RT-PCR e com Ct conhecido. As extrações de RNA realizadas a partir destas amostras pela metodologia automatizada escolhida obtiveram resultados correspondentes comparadas com as amostras SNF, demonstrando eficácia e possibilidade de análise de amostras de escarro (Tabela 1). Diante destes resultados, foram conduzidos os experimentos com as amostras provenientes dos pacientes selecionados para o estudo.

Tabela 1. Resultados obtidos utilizando o protocolo de detecção dos Genes E e N2 de SARS-CoV-2 com cartuchos Xpert® Xpress SARS-Cov-2 em amostras de escarro comparadas com resultados prévios obtidos com RT-qPCR (Allplex) em amostras de SNF.

Amostras	RT- qPCR (Allplex) (Ct)				Xpert Xpress SARS- Cov-2® (Ct)	
	SNF		Escarro (“batizado”)			
	gene E	gene N	gene E	gene N	gene E	gene N2
1	23,8	24,6	28,9	28,3	28,1	32,3
2	22,8	23,1	33,0	31,7	31,1	34,0
3	28,4	29,7	33,0	32,4	31,8	35,0
4	28,4	29,8	36,5	35,8	38,6	35,2
5	33,5	34,6	0,0	37,3	0,0	40,8
6	32,1	32,6	0,0	37,3	0,0	42,2
7	37,5	37,5	0,0	0,0	0,0	0,0
8	36,6	37,3	0,0	37,6	0,0	44,1

Ct: Cycle threshold; SNF: Secreção nasofaríngea; RT-qPCR: Reação de Transcriptase Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real.

Fonte: Autoria própria.

A partir dos valores de Ct obtidos em ambas as metodologias, foram construídos gráficos de dispersão utilizando o software *GraphPad Prism*

9.3.1. A Figura 7 mostra a comparação entre as metodologias (RT- qPCR) e (Xpert Xpress SARS-Cov-2[®]) com os Genes E e N utilizando amostra de escarro “batizado” e indicando correlações lineares positivas, verificadas pelo Coeficiente de Correlação de Pearson (r).

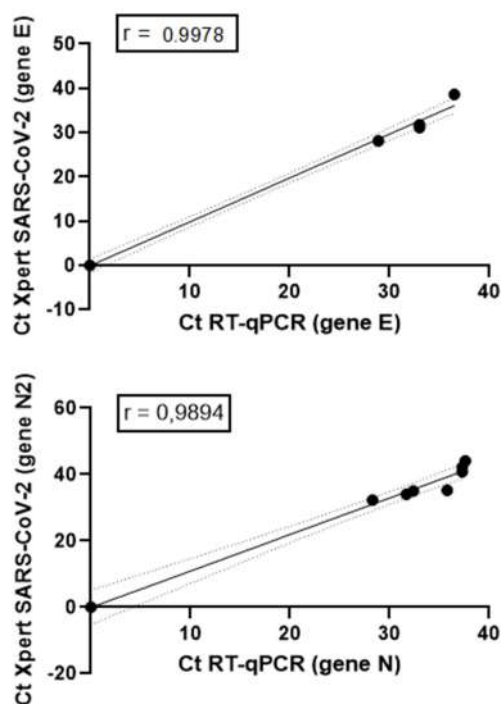


Figura 7. Regressão linear simples entre RT-qPCR (Allplex) e Xpert Xpress SARS-CoV-2[®] para comparação da detecção dos genes E, N e N2 entre os dois testes com amostras de escarro “batizado”.

Fonte: Autoria própria.

4.3 Teste Rápido Molecular Xpert[®] Ultra MTB/RIF[™] (TRM-TB)

As 100 amostras de escarro para detecção de TB, obtidas dos pacientes PPL, foram processadas *in natura* e outra parte pelo método *Petroff* modificado, com utilização do sedimento para realização do teste TRM-TB e cultura. O teste TRM-TB detectou sete amostras positivas, que foram confirmadas por positividade em cultura (Figura 8).

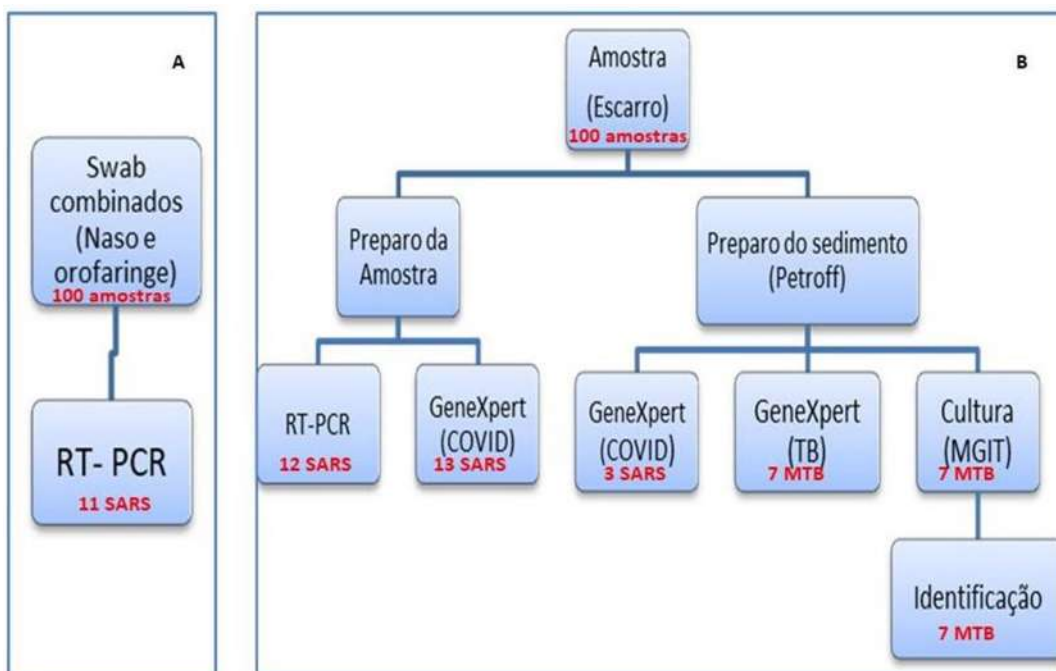


Figura 8. Número de testes positivos TB e COVID-19, obtidos após o processamento das amostras com as metodologias avaliadas.

Fonte: autoria própria.

4.4 Teste Rápido molecular Xpert® Xpress SARS-CoV-2 (TRM-COVID)

Após a análise das amostras de escarro com o teste TRM-COVID, foram observadas 13 amostras positivas para SARS-CoV-2 a partir do exame de escarro *in natura* e apenas três amostras positivas utilizando o sedimento da cultura como amostra (Figura 8).

4.5 PCR em tempo real para a detecção de SARS-CoV-2

O teste padrão ouro para detecção de SARS-Cov-2 foi positivo para 11 amostras de swab combinado. Ao ser aplicado o mesmo teste para amostras de escarro *in natura*, 12 amostras apresentaram positividade enquanto que apenas três amostras de sedimento foram positivas. Portanto, o teste a partir de amostras de escarro *in natura* identificou uma amostra positiva a mais que o teste padrão ouro (Figura 8).

4.6 Cultura e identificação

Em relação aos resultados para CMTB, todas as 100 amostras foram testadas no método GeneXpert MTB/RIF Ultra (Cepheid, EUA). Os resultados revelaram sete amostras positivas com diferentes níveis de detecção (3 baixos, 1 médio, 2 altos e 1 traços) e todos sensíveis a rifampicina. Todas as amostras positivas foram confirmadas pela cultura líquida e por microscopia para verificação do fator corda. Os testes de identificação e de sensibilidade foram realizados e todas as amostras foram negativas para a presença de mutação nos genes que codificam resistência a rifampicina e isoniazida, significando sensibilidade para todas as amostras, resultado concordante com o teste GeneXpert MTB/RIF Ultra.

4.7 Coinfecção

Um caso de coinfecção TB/COVID-19 foi detectado a partir do exame da amostra de escarro *in natura* no teste TRM-COVID e no RT-qPCR a partir do swab. A positividade para TB foi confirmada por cultura e TRM-TB em sedimento. No histórico do paciente foi observado que o custodiado foi

admitido no CDP de Mauá e, 10 dias antes da coleta do material, apresentou tosse, vômito, falta de ar, sem febre e estava imunizado com a vacina de dose única contra a COVID-19. Não havia histórico de TB e iniciou o tratamento somente para TB em 01/09/2021. O paciente foi transferido para uma penitenciária em novembro do mesmo ano, encerrando o tratamento em 01/03/2022.

A partir destes dados foi elaborado um manuscrito, submetido ao Brazilian Journal of Microbiology em 09 de novembro de 2021, o qual foi aceito para publicação em 27 de dezembro de 2021 (Anexo 5 - [Braz J Microbiol.](#) 2022 Jun; 53(2): 633–639. Feb 2. doi: [10.1007/s42770-021-00677-y](#)).

4.8 Análise dos dados

A sensibilidade e especificidade do TRM-COVID foram calculadas com base no teste padrão ouro RT-qPCR e podem ser observadas na Tabela 3. Para amostras de escarro *in natura* a sensibilidade do teste foi 100,0% e para o sedimento de cultura a sensibilidade do teste foi de 18,2%. O índice kappa foi de 0,28, indicando fraca concordância entre os resultados.

Tabela 2. Sensibilidade e especificidade na detecção de SARS-CoV-2, de acordo com o método e o tipo de material usado, usando RT-qPCR swab combinado e escarro como padrão ouro.

TESTE	RT-qPCR Swab combinado									
TRM Escarro	Positivo	Negativo	Total	Acurácia	Kappa	Valor P	Especificidade	Sensibilidade	FP	FN
Positivo	10	3	13	96,00%	0,81	<0,0001	96,63%	90,91%	3	1
Negativo	1	86	87							
Total	11	89	100							
RT-qPCR Swab combinado										
RT-qPCR Escarro	Positivo	Negativo	Total							
Positivo	10	2	12	97,00%	0,85	<0,0001	97,75%	90,91%	2	1
Negativo	1	87	88							
Total	11	89	100							
RT-qPCR Swab combinado										
TRM sedimento	Positivo	Negativo	Total							
Positivo	2	1	3	90,00%	0,28	<0,0010	98,88%	18,18%	1	9
Negativo	9	88	97							
Total	11	89	100							
RT-qPCR Escarro										
TRM Escarro	Positivo	Negativo	Total							
Positivo	12	1	13	99,00%	0,95	<0,0001	98,86%	100,00%	1	0
Negativo	0	87	87							
Total	12	88	100							

FP: Falso positivo / FN: Falso negativo

Fonte: A autoria própria

4.9 Avaliação de custo

Para realizar a avaliação de custo do diagnóstico de um teste pelas metodologias RT-qPCR e TRM, foram obtidos os valores (em reais) de cada insumo ou componente utilizado no teste e o valor da hora trabalhada de recursos humanos (Tabelas 3 e 4). Os valores de mercado atuais dos equipamentos necessários para a realização dos testes também foram obtidos e o valor de cada teste foi calculado com base no tempo de execução em função do custo de todos os insumos, equipamentos e recursos humanos.

Tabela 3. Valores atuais (em reais) dos insumos e profissionais necessários por hora trabalhada para a realização de um teste para o diagnóstico da COVID-19 utilizando o RT-qPCR e Teste Rápido Molecular.

Origem do gasto (por reação)	GeneXpert	RT-qPCR	Fonte
Kit diagnóstico	R\$ 113,35	R\$ 42,00	Nota fiscal compra 2021
Kit para extração	-	R\$ 27,70	Nota fiscal compra 2021
Recursos humanos laboratório	R\$ 9,77	R\$ 157,85	http://www.recursoshumanos.sp.gov.br/retribuicao.asp?pagina=saude6 (Acesso em 02 de junho de 2022).
Recursos humanos para coleta	-	R\$ 6,07	http://www.recursoshumanos.sp.gov.br/retribuicao.asp?pagina=saude6 (Acesso em 02 de junho de 2022).
Material de consumo/descartáveis	R\$ 3,38	R\$ 38,37	https://www.vitchlab.com.br/ ; https://www.ciencor.com.br/ ; https://www.drogarianovaesperanca.com.br/ (Acesso em 09 de junho de 2022).
Equipamentos de proteção individual	R\$ 5,13	R\$ 10,26	https://www.utilidadesclinicas.com.br/ (Acesso em 09 de junho de 2022).
Consumo de energia equipamentos	R\$ 0,07	R\$ 1,14	https://enel-sp.simuladordeconsumo.com.br/ambiente (Acesso em 02 de junho de 2022).
Consumo de energia predial	R\$ 1,13	R\$ 14,13	https://enel-sp.simuladordeconsumo.com.br/ambiente (Acesso em 02 de junho de 2022).
TOTAL	R\$ 132,83	R\$ 297,52	-

Tabela 4. Valores atuais (em reais) dos equipamentos e materiais de limpeza necessários para a realização de um teste para o diagnóstico da COVID-19 utilizando o RT-qPCR e Teste Rápido Molecular.

Origem do gasto (por reação)	GeneXpert	RT-qPCR	Fonte
Equipamento para extração	-	R\$125.440,00 (Loccus)	Nota fiscal compra 2021
Equipamento para reação RT-qPCR	R\$144.663,00	R\$276.237,76 (QuantStudio 5)	Nota fiscal compra 2021
Materiais para limpeza (mês)	R\$108,65	R\$217,30	https://www.utilidadesclinicas.com.br/ (Acesso em 09 de junho de 2022).

Portanto, realizar um teste pela plataforma Genexpert é 2,2 vezes mais barato que realizar pelo RT-qPCR. No entanto, é possível realizar somente 4 testes simultâneos no Genexpert, enquanto que no equipamento para reação RT-qPCR podem ser testadas 96 amostras por placa, incluindo controles positivo e negativo.

4.10 Tempo de execução

O tempo de execução de cada metodologia foi calculado considerando o tempo do preparo, execução e análise dos resultados (Figura 9). A detecção por meio do TRM é seis vezes mais rápida que a detecção pelo RT-qPCR, considerando o tempo por amostra. No entanto, se considerarmos a quantidade de amostras feitas em um mesmo ciclo, para realizar o mesmo número de amostras que o RT-qPCR, o TRM leva 23 vezes mais tempo (Tabela 5).



Figura 9: Tempo de realização de cada uma das etapas necessárias para completar as metodologias estudadas.

Fonte: Autoria própria, criado em www.canva.com/pt.br

Considerando o custo e o tempo que cada teste leva para ser realizado, o teste RT-qPCR faz 94 amostras a um custo de R\$ 13.983,44 e o geneXpert pode realizar até 4 amostras por equipamento a R\$ 531,32. Importante salientar que os cartuchos podem ser utilizados individualmente enquanto que o RT-qPCR precisa ter sua completa utilização, ou seja, o uso da placa cheia, para ter esse preço, caso contrário o valor do teste é maior.

Tabela 5. Custo e tempo de execução dos testes para detecção de SARS-CoV-2 nas plataformas Genexpert e RT-qPCR.

Dados analisados	GeneXpert (R\$)	RT-qPCR (R\$)
Custo teste	132,83	148,76
Tempo execução (minutos)	53	330
Quantidade de testes realizados por ciclo	4	94*
Custo do ciclo	531,32	13.983,44

* 94 amostras testadas, excluindo os controles negativo e positivo.

5. DISCUSSÃO

Durante a pandemia de COVID-19 foi observada uma diminuição na notificação de casos de TB no mundo todo (WHO, 2022). De acordo com a OMS, em 2019 o número de casos novos no mundo chegou a 7,1 milhões, mas em 2020 houve uma queda de 18%. Uma das razões para esta diminuição seria um fator operacional, efeito da contenção realizada para que não houvesse aglomerações e conseqüentemente a transmissão do SARS-CoV-2, fazendo com que a procura pelos serviços de diagnóstico e tratamento de TB caísse drasticamente. No entanto, estima-se que a incidência e a taxa de mortes por TB aumentem cerca de 9% e 16%, respectivamente, nos próximos cinco anos (Cilloni et al., 2020), e essa recuperação já foi observada em 2021, com 6,4 milhões de casos notificados (WHO, 2022).

Pensando na similaridade entre os sintomas de TB e COVID-19 e na necessidade de diagnóstico diferencial destas doenças para o emprego do tratamento correto, foi levantada a hipótese de que o material coletado para fazer o exame para detecção de TB pudesse também ser utilizado para detectar SARS-CoV-2, o que facilitaria a obtenção destes diagnósticos não somente pela facilidade e segurança da coleta como também pela rapidez na obtenção dos resultados. Dessa forma, o presente trabalho padronizou a utilização de escarro para execução do método Xpert® Xpress SARS-CoV-2 e os resultados obtidos foram comparados ao método padrão ouro RT-qPCR com sensibilidade 90,9%, especificidade 96,6% e Kappa de 0,81.

De acordo com o manual do fabricante do teste RT-qPCR para o kit Allplex™ SARS-CoV-2 Assay (Seegene), a sensibilidade analítica é de 100% em amostras de secreção de nasofaringe. Nesta pesquisa para padronização, a sensibilidade do teste Xpert® Xpress SARS-CoV-2 em amostras de escarro obtivemos sensibilidade de 100% quando comparada a metodologia padrão ouro.

De forma semelhante, Wong e col. (2020) realizaram um estudo com 162 amostras, sendo 120 amostras de saliva e 42 amostras provenientes do

trato respiratório inferior, dentre elas 35 escarros, um lavado broncoalveolar, seis aspirados traqueais, sendo estas amostras não validadas pelo método. Neste trabalho, o ensaio Xpert® Xpress SARS-CoV-2 foi comparado com o kit molecular de referência utilizado pelos autores e obtiveram bom desempenho. A concordância entre as amostras positivas de saliva foi de 98,86% e Kappa 0,98; para o trato respiratório inferior foi de 100% e Kappa 1,00, e para as amostras negativas foi de 100% para ambas as amostras.

Outro estudo, que analisou 40 amostras de saliva, testou o método padrão ouro RT-qPCR em comparação com Xpert® Xpress SARS-CoV-2 e obtiveram 100% de concordância (Vaz et al., 2021).

O presente estudo avaliou o ensaio Xpert® Xpress SARS-CoV-2 utilizando amostras de escarro *in natura* ou de sedimento produzido a partir do tratamento do escarro para ser utilizado na cultura para TB. A menor acurácia obtida foi de 90%, quando comparados os resultados da RT-qPCR de swab de nasofaringe com o método Xpert® Xpress SARS-CoV-2 de sedimento de escarro, conforme demonstrado na Tabela 2. Esse resultado pode ter sido influenciado pelo tratamento da amostra com soluções fluidificantes e da mudança de pH, que podem destruir o RNA viral alvo. Substâncias que estão presentes na preparação das amostras podem levar à diminuição da sensibilidade até mesmo a resultados falso negativos (Schrader et al., 2012).

Diante do resultado da sensibilidade de 18,18%, foi realizado um teste com o sobrenadante do sedimento para cultura, com a hipótese do RNA viral permanecer no sobrenadante, porém o RNA viral não foi detectado, descartando a hipótese de o vírus permanecer no sobrenadante.

A acurácia dos testes realizados em escarro foi superior à dos realizados de outros materiais. As amostras de escarro são consideradas melhores porque permanecem mais tempo positivas do que as amostras do trato respiratório superior, o que corrobora com os resultados apresentados neste trabalho (Wong et al., 2020; Loeffelholz et al., 2020).

O presente estudo detectou somente um caso de coinfeção TB/COVID-19 em 31/08/2021. Consultando o histórico do prontuário médico

do custodiado, e após busca no sistema de notificação do Centro de Vigilância Epidemiológica (TBWEB) verificou-se que o paciente não havia sido diagnosticado anteriormente para TB, não apresentava nenhuma comorbidade, e tinha resultados negativos para os testes para hepatite, sífilis e HIV. Por conta da pandemia, os detentos não estavam saindo para consulta, entretanto o paciente iniciou tratamento para TB ativa em 01/09/2021, e em novembro do mesmo ano foi transferido para uma unidade penitenciária.

A detecção da coinfeção é de grande importância pois os pacientes com sequelas pulmonares por COVID-19 podem ter maior risco de desenvolver TB no futuro (Tamuzi et al., 2020). Outro estudo demonstrou que pacientes com TB e COVID-19 têm 25% menos chance de se recuperar da TB e o risco de morte foi de 2,17 vezes maior em pacientes coinfectados do que naqueles com apenas COVID-19 (SY et al., 2020).

Em um hospital localizado na China, na cidade Wenzhou, três casos diagnosticados como coinfeção TB/COVID-19, foram confirmados por RT-qPCR, todos masculinos, com idade entre 26 anos e 76 anos, sendo que dois pacientes com idades mais avançadas evoluíram para caso grave de COVID-19 (He et al., 2020).

Outro estudo feito com amostras de escarro em Gana, com 774 pacientes suspeitos de COVID-19 e contatos de TB, detectou seis casos positivos para TB, 111 positivos para SARS-CoV-2 e dois casos foram positivos para ambas as doenças. Entretanto, esses dois casos positivos não apresentavam sintomas e sinais de TB (Afum et al., 2021).

A importância do diagnóstico da coinfeção se dá pelo fato de que a TB é uma doença infecto contagiosa de grande impacto na saúde pública e a associação com COVID-19, pode ocasionar casos graves levando o paciente a óbito.

Para a avaliação do custo de acordo com os cálculos feitos no presente estudo (Tabelas 3 e 4), o método RT-qPCR teve custo 2,2 vezes (R\$ 297,52) e tempo de execução seis vezes (5h e 30 min) maiores do que o método Xpert Xpress SARS-CoV-2. Deve se agregar a esses valores o custo

de aquisição dos equipamentos de extração e PCR (R\$ 401.677,76), 2,8 vezes maior que a plataforma GeneXpert.

Entretanto, o método RT-qPCR possibilita o diagnóstico de até 94 amostras por reação. Portanto, em situação de pandemia, onde o número de testes é elevado e é possível utilizar uma placa completa, é preferível, por questões de tempo e custo, a utilização deste método. Diferentemente, o método GeneXpert executa análises individuais, que são essenciais em casos de urgência e emergência, além da praticidade do equipamento em não precisar de uma sala especial, ser de fácil manipulação, não requerendo conhecimentos técnicos adicionais dos profissionais envolvidos no preparo da amostra. Em adição, o método fornece resultados rápidos e precisos na detecção viral a partir de amostras de escarro. Loeffelholz e col. (2020) também relataram em seus estudos que a plataforma é fácil de manipular e o teste é simples, fornecendo resultados em torno de 45 minutos. Adicionalmente, a metodologia proposta permite a detecção de dois agravos a partir da mesma amostra, COVID-19 e TB, liberando os resultados simultaneamente, pois permite a utilização individual dos módulos. O equipamento GeneXpert® permite o diagnóstico da TB através do Xpert® MTB/RIF Ultra e diagnóstico de COVID-19 por meio do Xpert® Xpress SARS-Cov-2. Desta forma, o programa de controle da TB pode compartilhar sua rede laboratorial para apoiar o diagnóstico de COVID-19 (Silva et al., 2021).

Em Gana, o Instituto de Pesquisa Médica do Departamento de Virologia do Memorial Noguchi da Universidade de Gana tornou-se centro de coordenação Nacional para diagnóstico de COVID-19, aproveitando as amostras de escarro recebidas, para realizar concomitantemente testes para TB (Afum et al., 2021). Embora não tenha sido feito um estudo sobre o custo-utilidade da utilização do mesmo material biológico para diagnósticos distintos, o estudo forneceu informações valiosas ao Programa Nacional de Tuberculose e ao serviço de saúde sobre a necessidade de diagnóstico diferencial bem como sobre o fortalecimento da vigilância de doenças infecciosas endêmicas de longa data em meio à pandemia (Afum et al.,

2021). Com a adaptação do programa, há a possibilidade de redução da transmissão do vírus SARS-CoV-2, auxiliando também no controle da TB.

6. CONCLUSÕES

1. O processo de padronização da extração automatizada de RNA do vírus SARS-CoV-2 apresentou resultados reprodutivos em amostras de escarro *in natura*, demonstrando eficácia e possibilidade de análise deste tipo de amostra;
2. A utilização de amostras de escarro *in natura* para realização do teste Xpert Xpress SARS-CoV-2 em comparação ao teste padrão ouro RT-qPCR apresentou correlações lineares positivas, indicando que o material pode ser utilizado nestes métodos;
3. O presente estudo observou que o sedimento obtido após descontaminação do escarro não é uma boa amostra para realização do teste Xpert Xpress SARS-CoV-2, dada sua baixa sensibilidade;
4. A realização da detecção de SARS-CoV-2 pelo Xpert Xpress a partir de escarro *in natura* apresentou melhor especificidade que o RT-qPCR de amostra nasofaríngea e maior sensibilidade e especificidade que o RT-qPCR de amostra de escarro *in natura*;
5. No presente estudo, o método RT-qPCR teve custo 2,2 vezes e tempo de execução seis vezes maior do que o método Xpert Xpress SARS-CoV-2.
6. O estudo apresentou a detecção de duas doenças em concomitância TB/COVID-19 usando o equipamento GeneXpert, o que mostra a possibilidade de uso da plataforma para a detecção simultânea destes agravos.

7. REFERÊNCIAS

Abbott. TBAg MPT64. Abbott Diagnostics Korea Inc. 2020. Bioline™ [Acesso em: 20 de Maio de 2022]. Disponível em: <http://www.masterdiagnostica.com.br/public/files/produtos/139413557413941355740103649530.pdf>.

Acuña-Villaorduña C, Jones-Lopez E, Fregona G, Marques-Rodriguez P, Geadas C, Hadad DJ, et al. Intensity of exposure to pulmonary tuberculosis determines risk of tuberculosis infection and disease. *Eur Respir J*. 2018;51(1):1701578. <https://doi.org/10.1183/13993003.01578-2017>.

Afum T, Asare P, Asante-Poku A, Darko-Otchere I, Morgan PA, Bedeley E, et al. (2021) Diagnosis of tuberculosis among COVID-19 suspected cases in Ghana. *PLoS ONE*. 2021.16(12): e0261849. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261849>

Allplex™ .SARS-CoV-2 Assay. Seegene. Brasil. Instrução de uso. 2020. V1.15 [Acesso em: 15 de janeiro de 2022]. Disponível em: https://seegenebrazil.com.br/wp-content/uploads/2021/01/RV10247Y_V1-15_PT-Manual.pdf.

Alagna R, Besozzi G, Codecasa LR, Gori A, Migliori GB, Raviglione M, et al. Celebrating world tuberculosis day at the time of COVID-19. *Eur Respir J*. 2020. 55: 2000650. <https://doi.org/10.1183/13993003.00650-2020>

BECTON DICKINSON. BBL™ MGIT™ 960 SIRE KIT. Instrução de uso. 2019. [Acesso em: 12 de setembro de 2021]. Disponível em: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=18306>

BECTON DICKINSON. BBL™ MGIT™ 960 Mycobacteria Growth Indicator Tube 7ml. Instruções de uso. 2006. [Acesso em: 12 de setembro de 2021]. Disponível em: [https://legacy.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/L000180JAA\(04\).pdf](https://legacy.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/L000180JAA(04).pdf)

Beaudry G, Zhong S, Whiting D, Javid B, Frater J, Fazel S. Managing outbreaks of highly contagious diseases in prisons: a systematic review. *BMJ Global Health*. 2020. 5(11):e003201.

Buitrago-Garcia D, Egli-Gany D, Counotte MJ, Hossmann S, Imeri H, Ipekci AM, et al. Occurrence and transmission potential of asymptomatic and presymptomatic SARS-CoV-2 infections: A living systematic review and meta-analysis. *PLoS Med*. 2020. 17(9):e1003346.

Cao XJ, Fang KY, Li YP, Zhou J, Guo XG. The Diagnostic Accuracy of Xpert Xpress to SARS-CoV-2: A systematic review. *J Virol Methods*. 2022. 301:114460.

CEPHEID. Xpert ® Xpert SARS-CoV-2 PT Package Insert (GeneXpert System). Instruções de uso. 2020. [Acesso em: 15 de Julho de 2021]. Disponível em: <https://www.cepheid.com/Package%20Insert%20Files/Xpert%20Xpress%20SARS-CoV-2%20Assay%20PORTUGUESE%20Package%20Insert%20302-3787-PT%2C%20Rev.%20B.pdf>.

CEPHEID. Xpert ® Xpert MTB/RIF Ultra PT Package Insert (GeneXpert System). Instruções de uso. 2019. [Acesso em: 12 de setembro de 2021]. Disponível em: <https://www.cepheid.com/Package%20Insert%20Files/Xpert-MTB-RIF-PORTUGUESE-Package-Insert-301-1404-PT-Rev-G.pdf>.

Cilloni, L., Fu, H., Vesga, J. F., Dowdy, D., Pretorius, C., Ahmedov, S., et al. The potential impact of the COVID-19 pandemic on the tuberculosis epidemic a modelling analysis. 2020. *Clinical Medicine*, 28, 100603. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2020.100603>

Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020a. 395(10223):507–13.

Chen Y, Wang Y, Fleming J, Yu Y, Gu Y, Liu C, et al. Active or latent tuberculosis increases susceptibility to COVID-19 and disease severity. *MedRxiv*. 2020b .03.10.20033795.

Chimara E, Ferrazoli L, UekY SY, Martins MC, Durham AM, Arbeit RD, Leão SC. Reliable identification of mycobacterial species by PCR-restriction enzyme analysis (PRA)-hsp65 in a reference laboratory and elaboration of a sequence-based extended algorithm of PRA-hsp65 patterns. *BMC Microbiol*. 2008.8:48.

Coelho AGV, Zamarioli LA, Reis CMPV, Duca BFL. Avaliação do crescimento em cordas na identificação presuntiva do complexo *Mycobacterium tuberculosis*. *J Bras Pneumol*. 2007. 33(6): 707-711.

Deng W, Guang TW, Yang M, Li JR, Jiang DP, Li C yi, et al. Positive results for patients with COVID-19 discharged from hospital in Chongqing, China. *BMC Infect Dis*. 2020. 20:429.

Falasca F, Sciandra I, Di Carlo D, et al. Detection of SARS-COV N2 Gene: Very low amounts of viral RNA or false positive? *J Clin Virol*. 2020.133:104660. doi:10.1016/j.jcv.2020.104660

Gouvea-Reis FA, Borja LS, Dias PO, Silva DCS, Percio J, Peterka C, Silva GO, Adjuto RNP, et al. SARS-CoV-2 among inmates aged over 60 during a COVID-19 outbreak in a penitentiary complex in Brazil: Positive health outcomes despite high prevalence. *Int J Infect Dis*. 2021. 110 Suppl 1:S25-S27. doi: 10.1016/j.ijid.2021.03.080.

He G, Wu J, Shi J, Dai J, Gamber M, Jiang X, et al. COVID-19 in Tuberculosis patients: a report of three cases. *J Med Virol*. 2020. 10.1002/jmv.25943.

Helmy YA, Fawzy M, Elasad A, Sobieh A, Kenney SP, Shehata AA. The COVID-19 Pandemic: A Comprehensive Review of Taxonomy, Genetics, Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control. *J Clin Med*. 2020. 9(4):1225.

Kandeel M, Ibrahim A, Fayez M, Al-Nazawi M. From SARS and MERS CoVs to SARS-CoV-2: Moving toward more biased codon usage in viral structural and nonstructural genes. *J Med Virol*. 2020. 10.1002/jmv.25754.

Kinner SA, Young JT, Snow K, Southalan L, Lopez-Acuña D, Ferreira-Borges C, et al. Prisons and custodial settings are part of a comprehensive response to COVID-19. *The Lancet Public Health* 2020. 5:e188–9. [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(20\)30058-X](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(20)30058-X).

Kumar R, Bhattacharya B, Meena V, Soneja M, Wig N. COVID-19 and TB co-infection - “Finishing touch” in perfect recipe to 'severity' or 'death'. *J Infect*. 2020, 81:e39–40. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.06.062>.

Lai T, Xiang F, Zeng J, Huang Y, Jia L, Chen H, et al. Reliability of induced sputum test is greater than that of throat swab test for detecting SARS-CoV-2 in patients with COVID-19: A multi-center cross-sectional study. *Virulence*. 2020. 11(1):1394–401.

Loccus. Manual de Instruções – Extracta Kit Fast - Kit de extração de ácidos nucleicos virais por beads magnéticas- para utilização no sistema automatizado de extração Extracta 16 e Extracta 32. 2020. [Acesso em: 20 de agosto de 2021]. Disponível em: www.loccus.com.br.

Loeffelholz MJ, Alland D, Butler-Wu SM, et al. Multicenter Evaluation of the Cepheid Xpert Xpress SARS-CoV-2 Test. *J Clin Microbiol.* 2020. 58(8):e00926-20. doi:10.1128/JCM.00926-20.

Maciel ELN, Gonçalves Júnior E, Dalcolmo MMP. Tuberculose e coronavírus: o que sabemos? *Epidemiol Serv Saúde.* 2020. [Acesso em: 12 de setembro de 2021]. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/ress/a/3DCGfRhVL88VxRZY9zdfz7x/?lang=pt>.

Maia CMF, Martelli DRB, Silveira DMMLD, Oliveira EA, Martelli Júnior H. Tuberculosis in Brazil: the impact of the COVID-19 pandemic. *J Bras Pneumol.* 2022. 48(2):e20220082. doi: 10.36416/1806-3756/e20220082.
Marciniuk DD, Schraufnagel ED, Ferkol T, Fong MK, Joos G, Varela LV, et al. O Impacto Global da Doença Respiratória. *Fórum das Sociedades Respiratórias Internacionais.* [Acesso em: 20 de agosto de 2021]. Disponível em: https://theunion.org/sites/default/files/2020-08/The_Global_Impact_of_Respiratory_Disease_port.pdf.

Menezes ME, Lima LM, Martinello F. Diagnóstico Laboratorial do SARS-CoV-2, por Transcrição Reversa Seguido de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (RT-PCR). *RBAC.* 2020. 52 (2): 122-30. Doi: 10.21877/2448-3877.20200006.

Ministério da Saúde. Brasil. Manual de Recomendações para o Diagnóstico Laboratorial de Tuberculose e Micobactérias não Tuberculosas de Interesse em Saúde Pública no Brasil. Brasília (DF): Ministério da Saúde, 2022a. [Acesso em: 20 de junho de 2022]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/tuberculose/manual-de-recomendacoes-e-para-diagnostico-laboratorial-de-tuberculose-e-micobacterias-nao-tuberculosas-de-interesse-em-saude-publica-no-brasil.pdf/view>.

Ministério da Saúde. Brasil. Doença pelo Coronavírus 2019. COVID-19: boletim epidemiológico especial. n.133, 2022b. [Acesso em: 13 de out. 2022]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/covid-19/2022/boletim-epidemiologico-no-133-boletim-coe-coronavirus/view>.

Ministério da Justiça e Segurança Pública. Brasil. Departamento Penitenciário Nacional. Medida contra à COVID-19. 2022c. Painéis de Monitoramento. [acessado 13 de outubro 2022]. Disponível em: <https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjojYThhMjk5YjgtZWQwYS00ODIkJmZThIMSJ9>.

Ministério da Saúde. Brasil. Boletim Epidemiológico Secretaria de Vigilância em Saúde Ministério da Saúde. Número Especial. 2022d. [Acesso em: 28 de outubro. 2022]. Disponível em: www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/especiais/2022/boletim-epidemiologico-de-tuberculose-numero-especial-marco-2022.pdf

Ministério da Saúde. Brasil. Doença pelo Coronavírus 2019. COVID-19: boletim epidemiológico. n.5, 2020a. [Acesso em: 10 de ago. 2020]. Disponível em: <https://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2020/April/19/BE12-Boletim-do-COE.pdf>.

Ministério da Saúde. Brasil. Manual de Recomendações para prevenção e cuidado da COVID_19 no sistema prisional brasileiro. Brasília (DF): Ministério da Saúde Secretaria de Atenção Primária. Ministério da Justiça e Segurança Pública Departamento Penitenciário Nacional. 2020b. [Acesso em: 20 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.gov.br/depen/pt-br/arquivos/ManualCOVID19DEPEN1edicao.pdf>.

Ministério da Saúde. Brasil. Acurácia dos testes diagnósticos registrados na ANVISA para a COVID-19. Brasília (DF): Ministério da Saúde. 2020c. [Acesso em: 26 de agosto de 2021]. Disponível em: https://www.sbmfc.org.br/wp-content/uploads/2020/04/Acuracia_dos_testes_para_COVID_19_1586558625.pdf.pdf.

Ministério da Saúde. Brasil. Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil. Brasília (DF): Ministério da Saúde. 2019a. [Acesso em: 5 de dezembro de 2021]. Disponível em:

https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_recomendacoes_control_e_tuberculose_brasil_2_ed.pdf.

Ministério da Saúde. Brasil. Boletim Epidemiológico Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília (DF): Ministério da Saúde. 2019b. (50) 9. . [Acesso em: 5 de fevereiro de 2022]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos>.

Ministério da Justiça. Brasil. Departamento Penitenciário Nacional. Levantamento Nacional de Informações Penitenciárias (INFOPEN). 2019c. [Acesso em 20 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.gov.br/depen/pt-br/aceso-a-sistemas/sisdepen/infopen>.

Ministério da Saúde. Brasil. Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e Outras Micobactérias. Brasília (DF): Ministério da Saúde. 2008. 436 p. [Acesso em: 28 de outubro de 2021]. Disponível em: https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_laboratorial_tuberculose.pdf.

Migliori GB, Thong PM, Alffenaar JW, Denholm J, Tadolini M, Alyaquobi F, et al. Country-specific lockdown measures in response to the COVID-19 pandemic and its impact on tuberculosis control: a global study. *J Bras Pneumol*. 2022. 48(2):e20220087.

Mousquer GT, Peres A, Fiegenbaum M. Pathology of TB/COVID-19 Co-Infection: The phantom menace. *Tuberculosis* .Edinb. 2021.126:102020.

Neto JF, Miranda BR, Coelho AR, Gonçalves PC, Zandonade E, Miranda EA. Morbidade em saúde em presídios brasileiros: um estudo de tendências temporais a partir de bases de dados nacionais. *BMJ open*. 9(5), e026853. 2019. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-026853>.

Pan American Health Organization (PAHO) / World Health Organization (WHO). Interim laboratory biosafety guidelines for the handling and transport of samples Diagnóstico Laboratorial da COVID-19 8 associated with the novel coronavirus 2019 (2019- nCoV). Washington, DC: PAHO / WHO; 2020. Acesso em Disponível em: <https://www.paho.org/en/documents/interim-laboratory-biosafety-guidelines-handling-and-transport-samples-associated-novel>.

Pan Y, Zhang D, Yang P, Poon LLM, Wang Q. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Lancet Infect Dis*. 2020. 20(4):411–2. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30113-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30113-4).

Pedro HSP, Nardi SMT, Arroyo MG, Ferreira MIP, Goloni M do RA, Ferrazoli L. Avaliação do desempenho dos meios de cultura Ogawa-Kudoh e MGIT tm para isolamento de micobactérias. Boletim Epidemiológica Paulista (BEPA). 2011. 5–13.

Sanchez A, Simas L, Diuana V, Larouze B. COVID-19 nas prisões: um desafio impossível para a saúde pública? Cadernos de Saúde Pública. 2020. v. 36, n. 5, p. 1-5. Doi: 10.1590/0102-311x00083520.

Secretaria de Administração Penitenciária. (SAP). Unidades prisionais em São Paulo, SP 2020. [Acesso em: 01 de junho 2022]. Disponível em: <http://www.sap.sp.gov.br>.

Secretaria Estadual da Saúde. Manual do Diagnóstico da COVID-19. Coordenação Estadual de Laboratórios e Pesquisa em Vigilância. Minas Gerais (MG). V.5. 2021 [Acesso em: 15 de setembro de 2022]. Disponível em: https://coronavirus.saude.mg.gov.br/images/1_2021/08-agosto/.

Schrader C, Schielke A, Ellerbroek L, Johne R. PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. J Appl Microbiol. 2012. ;113(5):1014-26. doi: 10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x.

Sharma A, Ahmad Farouk I, Lal SK. COVID-19: A Review on the Novel Coronavirus Disease Evolution, Transmission, Detection, Control and Prevention. Viruses. 2021. 13(2):202.

Shereen MA, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. J Adv Res. 2020. 24:91–8.

Srivastava S, Jaggi N. TB positive cases go up in ongoing COVID-19 pandemic despite lower testing of TB: An observational study from a hospital from Northern India. Indian J Tuberc. 2022. 69(2):157-160. doi: 10.1016/j.ijtb.2021.04.014.

Silva DR, Mello FC de Q, D'Ambrosio L, Centis R, Dalcolmo MP, Migliori GB. Tuberculosis and COVID-19, the new cursed duet: what differs between Brazil and Europe? J Bras Pneumol. 2021. 47:e20210044. <https://doi.org/10.36416/1806-3756/e20210044>.

Sy KTL, Haw NJL, Uy J. Previous and active tuberculosis increases risk of death and prolongs recovery in patients with COVID-19. Infectious Diseases. 2020. 52(12):902–7.

Tadolini M, Codecasa LR, García-García JM, Blanc FX, Borisov S, Alffenaar JW, et al. Active tuberculosis, sequelae and COVID-19 co-infection: first cohort of 49 cases. *Eur Respir J*. 2020. 56(1):2001398. <https://doi.org/10.1183/13993003.01398-2020>.

Tamuzi JL, Ayele BT, Shumba CS, Adetokunboh OO, Uwimana-Nicol J, Haile ZT, et al. Implications of COVID-19 in high burden countries for HIV/TB: A systematic review of evidence. *BMC Infectious Diseases*. 2020. 20(1):744. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05450-4>.

Vaz SN, Santana DS de, Netto EM, Wang WK, Brites C. Validation of the GeneXpert Xpress SARS-CoV-2 PCR assay using saliva as biological specimen. *Braz J Infect Dis*. 2021. 25(2):101543. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2021.101543>.

Vieira MF, Emeryll E, Anddriolo A. COVID-19-Diagnóstico laboratorial par Clínicos. *Scielo- preprints*. 2022. <https://preprints-scielo.org.translate.google/index.php/scielo/preprint/view/411>.

Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*. 2020. 323(18):1843–4.

World Health Organization (WHO). Global tuberculosis report 2022. Geneva: World Health Organization; Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. [Acesso em 28 de outubro de 2022]. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240061729>.

World Health Organization (WHO). Global tuberculosis report 2021. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. [Acesso em 16 de novembro de 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240037021>.

World Health Organization (WHO). Global tuberculosis report 2020. Geneva: World Health Organization; 2020a. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO [Acesso em 29 de novembro de 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>.

World Health Organization (WHO). “Modes of Transmission of Virus Causing COVID-19: Implications for IPC Precaution Recommendations.” Scientific Brief. Geneva: World Health Organization; 2020b. [Acesso em 29 de novembro de 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/modes-of-transmission-of-virus-causing-covid-19-implications-for-ipc-precaution-recommendations>.

World Health Organization (WHO). Consolidated guidelines on drug-resistant tuberculosis treatment. Geneva: World Health Organization; 2019. [Acesso em 29 de novembro de 2021]. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1211676/retrieve>.

Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020. 581(7809):465–9. <https://doi.org/10.1038/s41586-0202196-x>.

Wong RCW, Wong AH, Ho YII, Leung ECM, Lai RWM. Evaluation on testing of deep throat saliva and lower respiratory tract specimens with Xpert Xpress SARS-CoV-2 assay. *J Clin Virol*. 2020. 131:104593. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104593>.

Anexo 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr. está sendo convidado a ser um “participante” da pesquisa “*Deteção molecular precoce de SARS-CoV-2 em escarro de populações vulneráveis com suspeita de tuberculose pulmonar*”, que se refere a um projeto coordenado pela Profª Drª Andréia Moreira dos Santos e pela Profª Drª Andréa Gobetti Coelho Bombonatte, pesquisadoras do Instituto Adolfo Lutz (IAL) - Centro de Laboratório Regional de Santo André (CLR-IAL Santo André) e Santos (CLR-IAL de Santos), respectivamente.

O objetivo deste estudo é verificar se em sua amostra de escarro há a presença do vírus causador da COVID-19 e/ou a bactéria causadora de tuberculose pulmonar. Para esta verificação serão utilizadas metodologias laboratoriais que utilizam como princípio a Biologia Molecular.

Para a sua participação na pesquisa, você poderá contribuir de forma espontânea e sigilosa com amostras de escarro e secreções obtidas a partir das narinas e garganta.

Para a coleta do escarro você deverá inspirar profundamente e segurar o ar por alguns segundos, expirar e depois tossir no pote de plástico fornecido pela equipe de enfermagem. Esse procedimento deverá ser repetido até obter aproximadamente 2 mL de escarro.

A coleta das outras secreções será realizada por um profissional treinado que irá introduzir uma haste longa e flexível com algodão na ponta em suas narinas e sua garganta. Este procedimento poderá gerar um leve desconforto momentâneo, mas sem risco para a sua saúde. A sua privacidade será respeitada, ou seja, seu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, lhe identificar, será mantido em sigilo.

A divulgação dos resultados será feita de forma a não identificar os participantes. Para esta pesquisa não será cobrado nada e não haverá pagamentos pela sua participação. Se houver algum dano decorrente da pesquisa, o Sr. será indenizado nos termos da Lei.

São esperados os seguintes benefícios imediatos da sua participação nesta pesquisa: os resultados obtidos servirão de subsídio para ações de controle das doenças aqui pesquisadas e seu diagnóstico precoce nas populações vulneráveis.

Os benefícios diretos e a curto prazo ao participante referem-se ao resultado precoce do diagnóstico, que permitirá a busca de um tratamento imediato e adequado,

Gostaríamos de deixar claro que sua participação é voluntária e que poderá recusar-se a participar ou retirar o seu consentimento, ou ainda, descontinuar sua participação se assim o preferir, sem penalização alguma ou sem prejuízo ao seu cuidado. Em caso de quaisquer dúvidas sobre este estudo você deve entrar em contato com um dos pesquisadores abaixo:

- ✓ Andréia Moreira dos Santos Carmo (CLR IAL de Santo André) telefone: 11 4990 1267 e-mail: santoandre@ial.sp.gov.br
- ✓ Andréa Gobetti Coelho Bombonate (CLR IAL de Santos) telefone : 13 3232-5112. e-mail: santos@ial.sp.gov.br

Quanto aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar também o Comitê de Ética do Instituto Adolfo Lutz (CEPIAL), Av. Dr. Arnaldo, 355 – Cerqueira César, São Paulo, SP - CEP: 01246-902. Tel. (11) 3068-2859 e-mail: cepial@ial.sp.gov.br

Local e data:

_____, ____ de _____ de _____.

(Assinatura do participante)

(Identificação e assinatura do pesquisador responsável)

Anexo 2



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE CONTROLE DE DOENÇAS
INSTITUTO ADOLFO LUTZ
CONSELHO TÉCNICO CIENTÍFICO – CTC / IAL



São Paulo, 25 de Junho de 2021

Projeto: **CTC 42-M / 2020**

“Detecção molecular precoce de SARS-CoV-2 em escarro de populações vulneráveis com suspeita de tuberculose pulmonar”

Coordenação: Andréia Moreira dos Santos Carmo

Prezado(s) Coordenador(es),

Comunicamos que o projeto **CTC-IAL 42-M/2020** foi **cadastrado** no Conselho Técnico Científico do Instituto Adolfo Lutz, após aprovação quanto o mérito científico e após aprovação quanto aos aspectos éticos pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz (Parecer nº 4.746.896).

Atenciosamente,

ADRIANA BUGNO
Presidente do CTC/IAL

1ª Via: Coordenador
2ª Via: Diretor de Núcleo
3ª Via: Diretor de Centro
4ª Via: CTC

Anexo 3

INSTITUTO ADOLFO LUTZ/SES



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Detecção molecular precoce de SARS-CoV-2 em escarro de populações vulneráveis com suspeita de tuberculose pulmonar

Pesquisador: Andréia Moreira dos Santos Carmo

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 39514520.6.0000.0059

Instituição Proponente: Instituto Adolfo Lutz

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.746.896

Apresentação do Projeto:

Trata-se de protocolo de pesquisa sob a responsabilidade da pesquisadora Andréia Moreira dos Santos Carmo do CLR IAL de Santo André, em parceria com CLR IAL Santos e o Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac"/CCD/SES/SP.

Segundo os autores, o desenvolvimento das formas graves de COVID-19 está associado a alguns fatores de risco, entre eles a infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis*. Para o diagnóstico da COVID-19, normalmente são utilizadas amostras de secreção nasofaríngea, entretanto há relatos de pesquisas em diferentes amostras biológicas, tais como escarro, fezes e urina pareadas com amostras de nasofaringe. Com o presente estudo, os autores esperam obter dados para avaliar a utilização de amostras de escarro na detecção do RNA de SARS-CoV-2 em população de indivíduos privados de liberdade (PPL), sintomáticos respiratórios para a COVID-19 e/ou tuberculose (TB). Serão analisadas prospectivamente as amostras de escarro da PPL das Unidades Prisionais (UPs) situadas na Região Metropolitana da Baixada Santista (RMBS) e dos Centros de Detenção Provisória (CDPs) da Região do ABC Paulista, provenientes de indivíduos sintomáticos respiratórios de TB pulmonar e/ou COVID-19, cujas amostras são encaminhadas rotineiramente para os Centros de Laboratório Regional do Instituto Adolfo Lutz (CLR-IAL) de Santos e Santo André para diagnóstico da tuberculose. Com a avaliação dos dados obtidos na pesquisa poderão ser extraídas informações sobre a factibilidade do uso da metodologia Xpert Xpress SARS-CoV-2

Endereço: Av. Dr. Arnaldo 355 - 3º andar - Sala 90
Bairro: Corqueira César **CEP:** 01.246-902
UF: SP **Município:** SÃO PAULO
Telefone: (11)3068-2859 **Fax:** (11)3085-3505 **E-mail:** cepial@ial.sp.gov.br

INSTITUTO ADOLFO LUTZ/SES 

Continuação de Parecer: 4.746.896

que permita reduzir o tempo de diagnóstico da COVID-19. Será avaliada a possibilidade da utilização da metodologia atrelar-se à Rede de Teste Rápido Molecular para TB, como auxiliar no diagnóstico do COVID-19 em diferentes capitais e municípios do país, o que pode representar uma ampliação na disponibilidade do diagnóstico laboratorial e detecção precoce do vírus em indivíduos sintomáticos e contactantes. Conseqüentemente, contribuir para a adoção precoce de medidas de isolamento e redução de novas infecções.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral

Avaliar a presença de RNA viral do SARS-CoV-2 em amostras de escarro de indivíduos sintomáticos respiratórios para COVID-19 e/ou Tuberculose pertencentes à população privada de liberdade utilizando as metodologias RT-PCR e Teste Rápido Molecular (TRM - Xpert® Xpress SARS-CoV-2-Cepheid).

Objetivos Secundários

1. Analisar a acurácia diagnóstica dos métodos moleculares RT-PCR e TRM Xpert® Xpress SARS-CoV-2 tendo o escarro como material viável à detecção da presença do SARS-CoV-2 em indivíduos privados de liberdade, usando como padrão-ouro o método de RT-PCR a partir de swab combinado.
2. Detectar casos de TB pelo método GeneXpert MTB/RIF e confirmar os casos positivos com cultura.
3. Avaliar custo-utilidade do diagnóstico do COVID-19 pelos métodos TRM Xpert® Xpress SARS-CoV-2 e RT-PCR, tendo o escarro como material biológico.
4. Verificar a coinfeção TB/COVID 19 na população privada de liberdade sintomática respiratória.
5. Validar o Teste ® Xpress SARS-CoV-2 em condições de rotina diagnóstica.
6. Avaliar o tempo de liberação de resultado da detecção de SARS-CoV-2 a partir dos diferentes materiais clínicos e técnicas empregadas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo os autores, a seguir.

Riscos

O risco pode ser avaliado como mínimo, com probabilidade de um pequeno desconforto ocasionado pela coleta de material clínico.

Análise satisfatória.

Endereço: Av. Dr. Arnaldo 355 - 3º andar - Sala 90
Bairro: Corqueira César CEP: 01.246-902
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3066-2859 Fax: (11)3085-3505 E-mail: cepial@lal.sp.gov.br

Página 02 de 04

INSTITUTO ADOLFO LUTZ/SES 

Continuação de Parecer: 4.746.896

Benefícios]

Os benefícios a curto prazo aos participantes da pesquisa referem-se ao diagnóstico rápido da COVID-19 e da tuberculose, além da identificação de uma possível coinfeção causada por estes dois patógenos. Ainda, permitirá o início de tratamentos precoces e adequados. A longo prazo, os resultados deste projeto poderão contribuir com a comunidade científica na construção do conhecimento a respeito dos mecanismos de transmissão e da coinfeção do SARS-CoV-2 e Mycobacterium tuberculosis.

Análise satisfatória.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Nada a declarar.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Trata-se de protocolo de pesquisa cuja submissão anterior apresentou pendências: Parecer Consubstanciado do CEPAL nº 4.501.427 de 18/01/2021.

Em segunda submissão foram apresentados os documentos TCLE_modificado.pdf e a_ctc_0005_001_acordo_de_colaboracao_em_projeto_de_pesquisa_TB_COVID.pdf, além do formulário PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1651052.pdf revisado. Em tempo desta análise ética, a pesquisadora responsável encaminhou uma nova versão do TCLE reformulada e de acordo: TCLE_20_05_2021.pdf. O documento foi adicionado ao protocolo de pesquisa por Luz Marina Trujillo, coordenadora do comitê de ética, em 21/05/2021.

Assinam o "Acordo de colaboração em projeto de pesquisa" de 19/01/2021 Andréia Moreira dos Santos Carmo, pesquisadora responsável, Vilma S. M. G. Daros, Diretor Técnico de Saúde II do CLR IAL Santo André, Andréa G. C. Bombonate, Diretor Técnico de Saúde II do CLR IAL Santos, Adriana Bugno, Diretor Geral do IAL, Suely Fukasava, Coordenador Externo, e Maria Cecília S. V. Ribeiro, Diretor Técnico de Saúde II da Divisão de Tuberculose, do Centro de Vigilância Epidemiológica

Endereço: Av. Dr. Arnaldo 355 - 3º andar - Sala 90
Bairro: Corqueira César CEP: 01.246-902
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3066-2859 Fax: (11)3085-3505 E-mail: cepial@ial.sp.gov.br

Página 03 de 04

INSTITUTO ADOLFO LUTZ/SES



Continuação de Parecer: 4.746.896

"Prof. Alexandre Vranjac"/CCD/SES/SP.

Trata o documento da coordenação, da responsabilidade e das atividades em cada instituição, do financiamento pela FAPESP, da propriedade intelectual, da publicação e apresentação dos resultados. Uma vez o documento sendo constituinte de um protocolo de pesquisa com seres humanos e na Folha de rosto tendo a declaração de compromisso com o cumprimento dos requisitos da Resolução CNS N° 466/2012 pela pesquisadora responsável, assume-se o entendimento de autorização das partes envolvidas para o uso de amostras de indivíduos e informações associadas.

Os documentos estão de acordo do ponto de vista ético.

O protocolo de pesquisa está aprovado do ponto de vista ético e em consonância com as diretrizes institucionais.

Considerações Finais a critério do CEP:

O protocolo de pesquisa, pela análise do conjunto dos documentos, foi considerado aprovado do ponto de vista ético à luz da Resolução CNS N° 466/2012.

Em conformidade com a Resolução CNS N° 466 de 12/12/2012, o pesquisador responsável deverá cumprir o item transcrito integralmente a seguir.

XI - Do pesquisador responsável

XI.1 - A responsabilidade do pesquisador é indelegável e indeclinável e compreende os aspectos éticos e legais.

XI.2 - Cabe ao pesquisador:

a) apresentar o protocolo devidamente instruído ao CEP ou à CONEP, aguardando a decisão de aprovação ética, antes de iniciar a pesquisa; b) elaborar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; c) desenvolver o projeto conforme delineado; d) elaborar e apresentar os relatórios parciais e final; e) apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento; f) manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa; g) encaminhar os resultados da pesquisa para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto; e h) justificar fundamentadamente, perante o CEP ou a CONEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Os relatórios deverão ser adicionados ao protocolo de pesquisa na Plataforma Brasil para análise

Endereço: Av. Dr. Arnaldo 355 - 3º andar - Sala 90
Bairro: Corqueira César CEP: 01.246-902
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3066-2859 Fax: (11)3085-3505 E-mail: cepial@lal.sp.gov.br

Página 04 de 06

INSTITUTO ADOLFO LUTZ/SES



Continuação de Parecer: 4.746.896

do CEPIAL a cada seis meses a partir do início da pesquisa.

O trâmite e a apreciação ética do protocolo de pesquisa seguiram as diretrizes postuladas pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep) no documento "Orientações para condução de pesquisas e atividade dos CEP durante a pandemia provocada pelo Coronavírus SARS-CoV-2 (COVID 19)" de 09 de maio de 2020.

E por contingência, em razão do estado de calamidade pública decorrente da Emergência em Saúde Pública Internacional no contexto da pandemia da COVID-19 (Novo Coronavírus), teve sua análise ética de modo virtual.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_20_05_2021.pdf	21/05/2021 12:38:52	Luz Marina Trujillo	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1651052.pdf	02/02/2021 21:47:52		Aceito
Outros	a_ctc_0005_001_acordo_de_colaboracao_em_projeto_de_pesquisa_TB_COVID.pdf	02/02/2021 21:46:13	Andréia Moreira dos Santos Carmo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_modificado.pdf	02/02/2021 21:35:04	Andréia Moreira dos Santos Carmo	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	26/10/2020 12:05:07	Deolinda Valéria Martins Pereira	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_PPSUS.pdf	22/10/2020 22:01:27	Andréia Moreira dos Santos Carmo	Aceito
Outros	42_M_2020_Cadastro_provisorio.pdf	20/10/2020 18:32:14	Andréia Moreira dos Santos Carmo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_de_pesquisa_TB_COVID.pdf	20/10/2020 18:24:09	Andréia Moreira dos Santos Carmo	Aceito
Declaração de Pesquisadores	a_ctc_0004_001_termo_de_anuancia_d_e_participacao_externo_TB_COVID.pdf	20/10/2020 18:23:11	Andréia Moreira dos Santos Carmo	Aceito
Declaração de concordância	a_ctc_0002_001_formulario_para_manifestacao_de_diretores_TB_COVID.pdf	20/10/2020 18:21:59	Andréia Moreira dos Santos Carmo	Aceito

Endereço: Av. Dr. Arnaldo 355 - 3º andar - Sala 90
 Bairro: Corqueira César CEP: 01.246-902
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)3066-2859 Fax: (11)3085-3505 E-mail: cepial@ial.sp.gov.br

Página 01 de 04

INSTITUTO ADOLFO LUTZ/SES 

Continuação de Parecer: 4.746.896

Declaração de Pesquisadores	a_ctc_0003_001_termo_de_anuenciacão_e_participação_TB_COVID.pdf	20/10/2020 18:18:34	Andréia Moreira dos Santos Carmo	Aceito
-----------------------------	---	---------------------	----------------------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 31 de Maio de 2021

Assinado por:
Luz Marina Trujillo
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Dr. Arnaldo 355 - 3º andar - Sala 90
Bairro: Corqueira César CEP: 01.246-902
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3068-2859 Fax: (11)3085-3505 E-mail: cepial@lal.sp.gov.br


Página 01 de 01

Anexo 4

Firefox

about:blank

fls. 14

**TRIBUNAL DE JUSTIÇA DO ESTADO DE SÃO PAULO**
COMARCA DE SÃO PAULO -SÃO PAULO-DEECRIM URI
UNIDADE REGIONAL DE DEPARTAMENTO ESTADUAL DE EXECUÇÃO
CRIMINAL DEECRIM 1ª RAJ -Avenida Doutor Abraão Ribeiro, Nº 313, Barra
Fundada - CEP 01133-020, Fone: ., São Paulo-SP - E-mail:
deecrimsaopaulo@tjsp.jus.br
Horário de Atendimento ao Público: das 12h30min às 19h00min

DECISÃO

Processo Digital nº: 1001023-06.2021.8.26.0041
Classe - Assunto: Pedido de Providências - Assistência médica
Requerente: CDP Mauá
:

Vistos.

Trata-se de pedido de autorização judicial para fins de realização de pesquisa científica, denominada Detecção molecular precoce de SARS-Co-2 em escarro de população vulneráveis com suspeita de tuberculose pulmonar, junto à população carcerária do Centro de Detenção Provisória de Mauá.

O Ministério Público manifestou-se favoravelmente a fls. 13.

Considerando que o material biológico será coletado dentro da unidade, somente daqueles detentos que manifestem concordância em participar da referida pesquisa e, desde que observadas os protocolos de segurança, autorizo o pedido na forma requerida a fls. 01/02.

Intime-se.

Servirá a cópia desta decisão como ofício para o Diretor do CDP Mauá, para ciência e cumprimento.

São Paulo, 08 de julho de 2021.

PAULO EDUARDO DE ALMEIDA SORCI
Juiz Coordenador e Corregedor do DEECRIM da 1ª RAJ
(assinado digitalmente, nos termos da Lei 11.119/2005)

Este documento é cópia do original, assinado digitalmente por PAULO EDUARDO DE ALMEIDA SORCI, liberado nos autos em 08/07/2021 às 16:57 .
Para conferir o original, acesse o site <https://esaj.tjsp.jus.br/pastadigital/pg/abrirConferenciaDocumento.do>, informe o processo 1001023-06.2021.8.26.0041 e código 47F-2314.