



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DR. HEITOR VIEIRA DOURADO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL
MESTRADO EM DOENÇAS TROPICAIS E INFECCIOSAS**



**ASSOCIAÇÃO DOS VALORES DE LIMIAR DE CICLO DO XPERT® MTB/RIF E
TRANSMISSÃO DO *Mycobacterium tuberculosis* PARA CONTACTANTES DE
TUBERCULOSE ATIVA ACOMPANHADOS EM UMA COORTE PROSPECTIVA**

LEANDRO SOUSA GARCIA



MANAUS

2023

LEANDRO SOUSA GARCIA

ASSOCIAÇÃO DOS VALORES DE LIMIAR DE CICLO DO XPERT® MTB/RIF E TRANSMISSÃO DO *Mycobacterium tuberculosis* PARA CONTACTANTES DE TUBERCULOSE ATIVA ACOMPANHADOS EM UMA COORTE PROSPECTIVA

Projeto de dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade do Estado do Amazonas em Convênio com a Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, como requisito parcial para obtenção do grau de *Mestre em Doenças Tropicais e Infecciosas*.

Orientador: **Prof. Dr Allyson Guimarães da Costa**

Coorientador: **Prof. Dr Marcelo Cordeiro dos Santos**

MANAUS

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

FOLHA DE JULGAMENTO

ASSOCIAÇÃO DOS VALORES DE LIMIAR DE CICLO DO XPERT® MTB/RIF E TRANSMISSÃO DO *Mycobacterium tuberculosis* PARA CONTACTANTES DE TUBERCULOSE ATIVA ACOMPANHADOS EM UMA COORTE PROSPECTIVA

LEANDRO SOUSA GARCIA

“Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Doenças Tropicais e Infecciosas, aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade do Estado do Amazonas em convênio com a Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado”.

Banca Julgadora:

Prof. Allyson Guimarães da Costa, Dr

Dr. Grafe Oliveira Pontes

Dr. Adriano Gomes da Silva

DEDICATORIA

Dedico a minha querida mãe Cleonisia Sousa Garcia (*in memoriam*) e meu pai de coração João Garcia (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família pelos incentivos e sabedoria em apoiar os meus sonhos.

A minha mãe de coração, senhora Terezinha Ferreira de Souza pelo amor, carinho, cuidado e incentivo aos estudos e busca de conhecimentos.

A minha querida mãe Cleonisia Sousa Garcia (*in memoriam*) e meu querido pai de coração, senhor João Garcia (*in memoriam*). Apesar de não estarem comigo fisicamente, estarão sempre em meu coração, sei que estão orgulhosos.

Aos meus tios Heloisa Sousa Garcia e Francisco Anderson Almeida da Silva pelo apoio, compreensão e incentivo.

A Alexandra Brito de Souza, coordenadora do RePORT-Brazil no centro Manaus, que sempre esteve comigo, aconselhando, ajudando, com sábias palavras, confortando em momentos difíceis.

Ao meu orientador, Allyson Guimarães da Costa, por sua ampla experiência compartilhada, por seus ensinamentos, orientação, cobranças e disposição em ajudar.

Ao Dr. Marcelo Cordeiro, meu coorientador, pelo grandioso pesquisador e um dos mentores desse projeto. Agradeço pelas oportunidades, ensinamentos, por sempre extrair o máximo e estimular buscar novos conhecimentos.

A Dr. Francisco Beraldi de Magalhães pelo carinho, confiança e pela oportunidade de iniciar o primeiro contato com a pesquisa clínica.

Ao consórcio RePORT-Brazil, a base para que este projeto fosse realizado. Agradeço em especial a equipe Manaus, essenciais no meu crescimento profissional.

Ao grupo CIPEM (Centro Internacional de Pesquisa em Micobacterioses), a todos que contribuíram direta ou indiretamente. Gratidão por todos os momentos.

A equipe MONSTER da Bahia, pela disposição em ajudar, em especial ao Dr. Bruno e Mariana que nos auxiliaram na análise estatística e na elaboração das figuras de qualidades absurdas.

A Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), a qual permitiu condições para a realização desse estudo.

A coordenação do Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical (PPGMT) da Universidade do Estado do Amazonas (UEA) pelo apoio. Em especial, Iza e Joas, por toda paciência, ajuda.

A todos os professores do PPGMT pela transmissão de conhecimento científico, sabedoria e experiências compartilhadas.

A minha turma de Mestrado de 2020, pelo carinho, acolhimento, apoio e incentivo durante um período difícil, devido a pandemia de COVID-19. Vocês foram importantes nesse período tão difícil.

A Universidade do Estado do Amazonas (UEA) pela oportunidade de cursar o mestrado em Doença Tropicais e Infecciosas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa concedida e incentivo à pesquisa.

Aos participantes que aceitaram participar deste estudo, mesmo encontrando-se em um momento de vulnerabilidade.

E a todos que indiretamente participaram e ajudaram na realização desse trabalho.

Sem vocês não seria possível. Gratidão por tudo!

DECLARAÇÃO DAS AGÊNCIAS FINANCIADORAS

Financiaram diretamente essa pesquisa o National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID – U01-AI069923 e U01-AI115940) e Departamento de Ciência e Tecnologia (DECIT) da Secretaria de Ciência e Tecnologia do Ministério da Saúde (MS) do Brasil (25029.000507/2013-07). Financiaram indiretamente essa pesquisa o Programa de Pesquisa da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Programa de Pesquisa Intramural da Fundação José Silveira. Além disso, o projeto teve apoio da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) e bolsa pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), durante o período de março de 2020 a fevereiro de 2022.

EPÍGRAFE

“Educação não transforma o mundo.
Educação muda as pessoas. Pessoas
transformam o mundo”.

Paulo Freire

RESUMO

O teste rápido molecular Xpert® MTB/RIF® MTB/RIF, recomendado pela Organização Mundial da Saúde desde 2010 como teste inicial para o diagnóstico de tuberculose pulmonar, fornece resultados quantitativos do DNA do *Mycobacterium tuberculosis* na forma de valores de limiar de ciclo. Esta informação pode ser traduzida em carga micobacteriana e usada como medida pontual para casos de tuberculose ativa, controle de infecção e rastreamento de contatos. Ao contrário da microscopia de escarro, o papel dos valores de limiar de ciclo na avaliação da transmissão do *Mycobacterium tuberculosis* ainda não foi demonstrado. Este estudo prospectivo foi realizado para avaliar a associação entre os valores de limiar de ciclo do Xpert® MTB/RIF e a conversão QFT-Plus em contatos próximos de pacientes com tuberculose pulmonar (casos índices de TB) em uma coorte multicêntrica no Brasil. Foram avaliados dados clínicos e laboratoriais, como idade, sexo, raça, tabagismo, uso de drogas ilícitas, uso de álcool, radiografia de tórax, resultados do Xpert® MTB/RIF e resultados do QFT-Plus na visita inicial e após o mês 6 para aqueles que tiveram resultados negativos no início do estudo. Um total de 1.055 contatos próximos de 391 casos índices de TB foram incluídos no estudo. Em M0, 333/1055 (31,6%) contatos foram QFT-Plus positivo e 91/717 (12,6%) conversão QFT-Plus para o mês 6. Os valores médios de limiar de ciclo dos casos de tuberculose com contatos de conversão QFT-Plus foram significativamente menores quando comparados com aqueles que eram negativos para QFT-Plus. Além disso, foi observada correlação negativa entre os valores de limiar de ciclo dos casos de tuberculose e o resultado QFT-Plus dos contatos no mês 6. A análise da curva ROC demonstrou que a área sob a curva (AUC) de 0,999 (IC 95%: 0,997-1.000) dos valores de limiar de ciclo do Xpert® MTB/RIF casos de tuberculose têm melhor poder para discriminar contatos próximos de conversão QFT-Plus em relação aos Contatos negativos QFT-Plus, com especificidade de 47% e sensibilidade de 78%. Por fim, a regressão logística ajustada mostrou que valores reduzidos de limiar de ciclo foram associados à conversão QFT-Plus em contatos próximos (OR: 1,61, IC 95%: 1,12-2,32). Juntos, esses resultados demonstram que pacientes com tuberculose pulmonar com valores baixos de limiar de ciclo do Xpert® MTB/RIF podem ter maior capacidade de transmissão do *Mycobacterium tuberculosis* para seus contatos próximos.

Palavras Chaves: Xpert, TB, Transmissão, QFT-Plus, ILTB

ABSTRACT

The Xpert® MTB/RIF rapid molecular test, recommended by the World Health Organization since 2010 as an initial test for the diagnosis of pulmonary tuberculosis (TB), provides quantitative results of *Mycobacterium tuberculosis* DNA in the form of cycle threshold (Ct) values. This information can be translated into mycobacterial load and used as a point measure for active tuberculosis cases, infection control and contact tracing. Unlike sputum microscopy, the role of Ct values in assessing *Mycobacterium tuberculosis* transmission has not yet been demonstrated. Thus, a prospective study was carried out to evaluate the association between Xpert® MTB/RIF Ct values with QFT-Plus conversion in close contacts of pulmonary tuberculosis patients (TB index cases) in a multicentric cohort in Brazil. We evaluated clinical and laboratorial data, such as age, sex, race, smoking habits, illicit drug use, alcohol use, chest radiograph, Xpert® MTB/RIF results, and QFT-Plus results at baseline (M0) and after month 6 (M6) for those who were negative results at baseline. A total 1,055 close contacts of 391 TB index cases were included in study. In M0, 333/1055 (31.6%) contacts were QFT-Plus positive and 91/717 (12.6%) QFT-Plus conversion to M6. The median Ct values of TB cases with QFT-Plus conversion contacts were significantly lower when compared with those who were QFT-Plus negative. In addition, negative correlation between the Ct values of the TB cases and the QFT-Plus result of the contacts at M6 was observed. Furthermore, ROC curve analysis demonstrated that area under the curve (AUC) of 0.999 (CI 95%: 0.997-1,000) of the Xpert® MTB/RIF Ct values TB cases have better power to discriminate QFT-Plus conversion close contacts in relation to the QFT-Plus negative contacts, with 47% specificity and 78% sensitivity. Finally, adjusted logistic regression showed that reduced Ct values were found to be associated with QFT-Plus conversion in close contacts (OR: 1.61, 95% CI: 1.12-2.32). Together, these results demonstrate that patients with pulmonary tuberculosis with low Xpert® MTB/RIF Ct values may have a greater capacity for *Mycobacterium tuberculosis* transmission to their close contacts.

Keywords: Xpert, TB, Transmission, QFT-Plus, LTBI.

RESUMO LEIGO

As pessoas que vivem com pacientes doentes de tuberculose têm mais risco de adoecer de tuberculose. Essas pessoas que estão vivendo com esses indivíduos (chamadas de contatos próximos) podem ser infectadas e inicialmente apresentar a infecção latente (quando a bactéria que causa a doença fica dormindo no pulmão), sem a presença de sinais e sintomas da doença. Em seguida, a tuberculose pode ficar ativa, sendo observado a presença de sintomas como tosse seca ou com catarro, febre, suores a noite, emagrecimento e posterior diagnóstico confirmado através de exames de escarro. Um dos exames realizado a partir da amostra de escarro para diagnosticar a tuberculose se chama Xpert® MTB/RIF e esse exame consegue medir a quantidade de bactéria dos doentes pela presença do material genético (DNA). Assim, avaliamos nesse estudo a possibilidade de identificar pessoas que tem maior risco de transmitir a bactéria que causa a tuberculose para seu contato próximo utilizando os resultados do teste Xpert® MTB/RIF. Realizamos o estudo avaliando os sintomas, os hábitos de vida como o consumo de tabaco, uso de álcool, drogas ilícitas e exames de escarro de 391 pessoas doentes de tuberculose e dos seus contatos próximos (Total de 1.055) os hábitos de vida como o consumo de tabaco, uso de álcool, drogas ilícitas, o resultado teste IGRA (Exame realizado no sangue) para identificar a tuberculose latente. Conseguimos observar que os contatos próximos de pacientes com tuberculose com uma quantidade maior de bactérias têm mais chance de transmitir para seu contato. Além disso, os pacientes doentes de tuberculose com maior chance de transmitir a bactéria estavam mais propensos a serem fumantes, consumir álcool, usar drogas ilícitas, apresentar suores noturnos e alteração no raios-x. Enquanto os contatos próximos mais susceptível a terem tuberculose latente eram do sexo feminino, raça parda, índice de massa corporal reduzido quando comparado aos contatos que não apresentaram tuberculose latente. Esses achados podem ajudar a organizar e priorizar a investigação mais precisa dos grupos de risco de adoecer de tuberculose.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Tendência global nas notificações de casos de pessoas recém-diagnosticadas com TB, 2015–2021.	2
Figura 2	Taxa de incidência estimada de TB no mundo, em 2021.	3
Figura 3	Coeficiente de incidência de tuberculose (por 100 mil hab.) no Brasil, 2012 a 2021.	4
Figura 4	Proporção de testagem para o HIV e de coinfeção TB-HIV entre os casos novos de tuberculose no Brasil, 2012 a 2021.	5
Figura 5	Coeficiente de mortalidade por tuberculose (por 100 mil hab.) no Brasil, 2011 a 2020	6

LISTA DE QUADRO

Quadro 1	Esquemas de tratamento da tuberculose e local de manejo clínico preferencial.	09
Quadro 2	Interpretação dos resultados do QuantiFERON®-TB Gold Plus.	17

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES DE MEDIDA

BRICS	Brasil, Federação Russa, Índia, China e África do Sul
CFP-10	Culture Filtrate Protein 10
Complexo <i>M. tuberculosis</i>	Complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
COVID-19	Coronavírus 19
Ct	Limiar de ciclo
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	Ensaio imunoenzimático
ESAT-6	Early Secretory Target 6
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
INF- γ	Interferon gama
<i>M. tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MS	Ministério da Saúde
NIL	Tubo de sangue sem estímulo (Controle negativo)
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em cadeia da polimerase
QTF-Plus	QuantiFERON-TB Gold-Plus
TB	Tuberculose
TB1 e TB2	Tubos de sangue com antígenos de <i>M. Tuberculosis</i>
TPT	Terapia Preventiva para Tuberculose
TST	Teste tuberculínico
UF	Unidade federativa
Xpert® MTB/RIF	XPRT® MTB/RIF Assay

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Tuberculose: Distribuição da doença e mortalidade	1
1.2	Etiologia e Transmissão da Tuberculose	6
1.3	Tratamento da tuberculose	8
1.4	Diagnostico da tuberculose ativa	9
1.5	Custo efetividade	14
1.6	Infecção latente por Mycobacterium tuberculosis	14
1.7	Diagnostico da ILTB	15
1.7.1	Teste Tuberculínico	15
1.7.2	Ensaio imunoenzimático QuantiFERON®-TB GOLD PLUS.....	16
2	OBJETIVOS.....	19
2.1	Geral.....	19
2.2	Específicos.....	19
3	PRODUTO DA DISSERTAÇÃO.....	20
4	LIMITAÇÕES DA PESQUISA E PERSPECTIVAS.....	45
5	CONCLUSÃO.....	45
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
7	ANEXO	53

1 INTRODUÇÃO

1.1 Tuberculose: Distribuição da doença e mortalidade

A tuberculose (TB) é um problema de saúde pública e uma das principais causas de morte em todo o mundo. Até 2019, foi considerada como a principal causa de morte por um único agente infeccioso, quando foi ultrapassada pela pandemia do coronavírus SARS-CoV-2 (COVID-19) nos anos de 2020 e 2021 (1). Após esforços e controle da COVID-19, a TB voltou para o posto da principal causa de morte por um único agente infeccioso no mundo (2).

Avanços em pesquisa e a realização de ações multissetoriais para abordar os determinantes da TB, como a pobreza, desnutrição, infecção por HIV, tabagismo e diabetes fazem-se necessários para reduzir o número de pessoas que adquirem infecção e desenvolvem doenças (e, por sua vez, o número de mortes causadas por TB). A proposta de alcançar as metas preconizadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) de reduzir a taxa de incidência para menos de 10 casos por ano e menos de uma morte por 100.000 habitantes por ano no mundo ainda não estão totalmente implementadas (3). Atualmente, com os tratamentos recomendados, cerca de 85% das pessoas que adoecem são curadas, contudo sem tratamento a taxa de mortalidade é alta, podendo alcançar 50% (1).

Estima-se que 10,6 milhões de pessoas adoeceram com TB em todo o mundo em 2021, aumento de 4,5% quando comparado com o ano de 2020. As projeções estimam aumento de 3,6% da incidência da TB (casos novos por 100.000 habitantes por ano) entre 2020 e 2021, provavelmente causado pela interrupção dos serviços essenciais durante a pandemia da COVID-19, que favoreceu o aumento na transmissão da TB (causados por mais pessoas com TB não diagnosticadas e tratadas) e desenvolvimento de doenças entre os recém-infectados (Figura 1) (1).

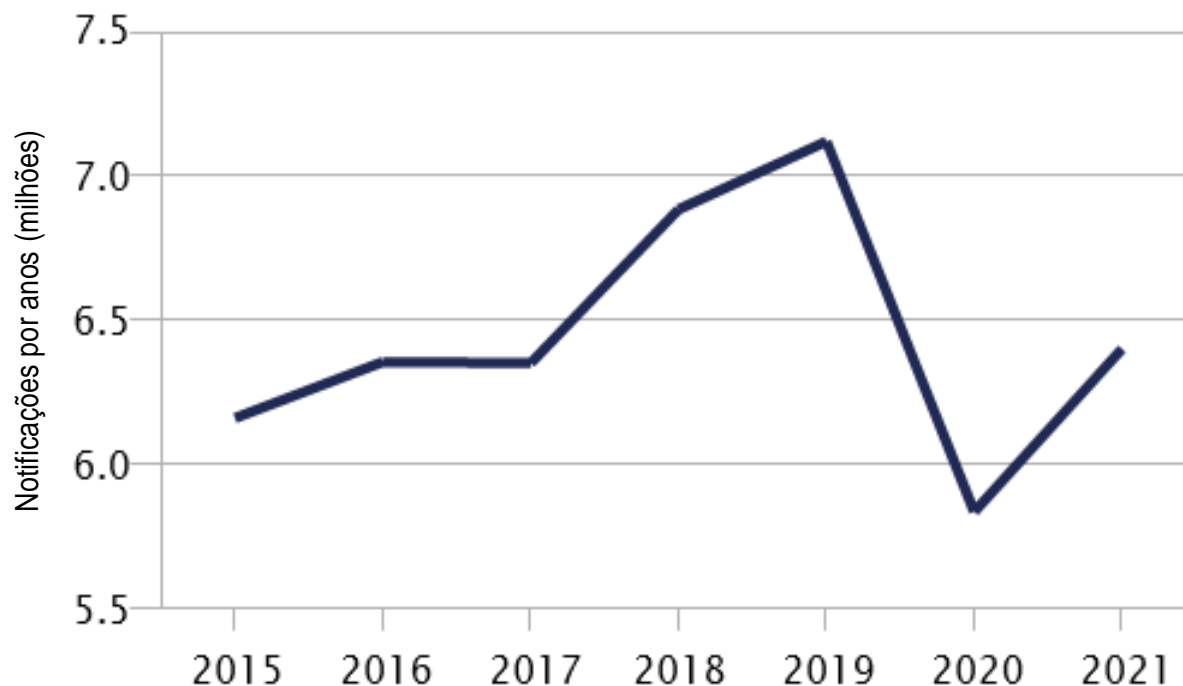


Figura 1: Tendência global nas notificações de casos de pessoas recém-diagnosticadas com TB, 2015–2021 (1).

Em 2021, a maioria das pessoas que desenvolveram TB estavam nas regiões do Sudeste Asiático (45%), África (23%) e Pacífico Ocidental (18%), com menores proporções no Mediterrâneo Oriental (8,1%), Américas (2,9%) e Europa (2,2%). Dentre os 30 países que representaram 87% das estimativas de incidência no mundo, 8 foram responsáveis por mais de dois terços do total global: Índia (28%), Indonésia (9,2%), China (7,4%), Filipinas (7,0%), Paquistão (5,8%), Nigéria (4,4%), Bangladesh (3,6%) e a República Democrática do Congo (2,9%) (Figura 2) (1).

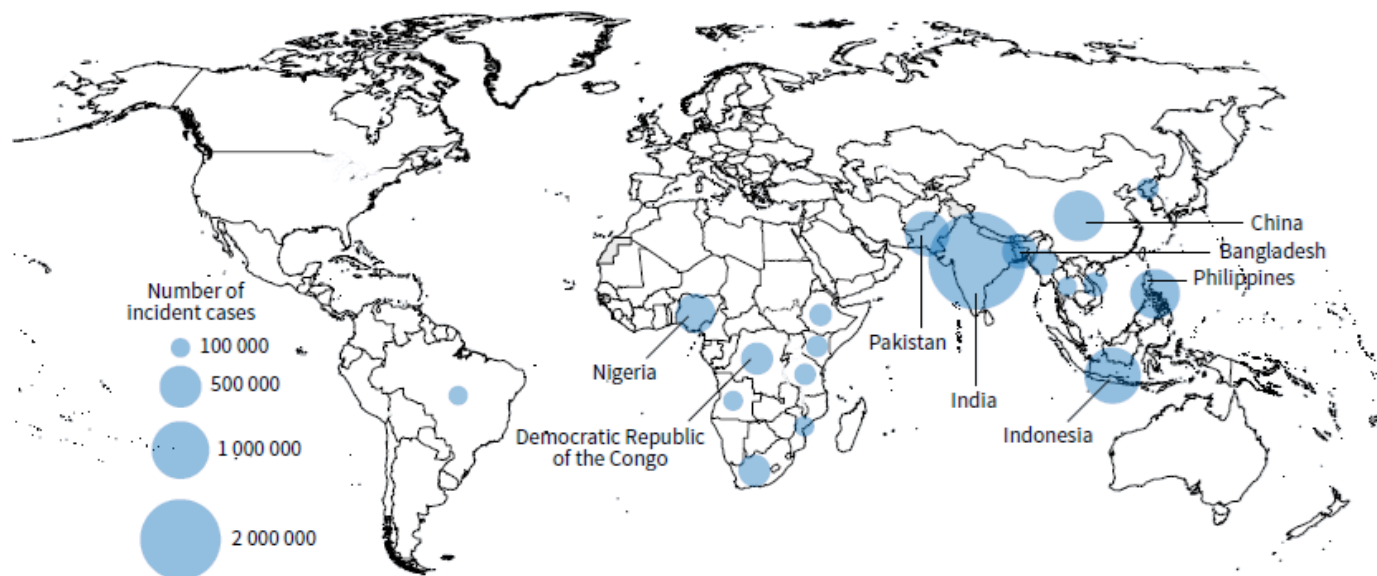


Figura 2: Incidência estimada de tuberculose em 2021, para países classificados do primeiro ao oitavo em termos de número de casos, e que representaram cerca de dois terços dos casos globais em 2021, são rotulados (1).

O Brasil integra a lista dos 30 países que concentram as maiores carga de TB no mundo, em uma nova definição de países prioritários para o período 2016-2020, ocupou a 20ª posição entre os 30 países com alta carga de TB e a 19ª entre os 30 com casos de coinfeção tuberculose/vírus da imunodeficiência humana (TB/HIV) (4). O Brasil compõem o grupo dos BRICS (Brasil, Federação Russa, Índia, China e África do Sul) e as projeções estimam que esses países concentram 40% dos casos notificados de TB no mundo (5). No ano de 2020, o Brasil junto com outros 15 países foram responsáveis por 93% da redução das notificações da TB no mundo, variação possivelmente justificada pelos impactos causados pela pandemia de COVID-19 no sistema de saúde (6).

A incidência no país apresentou declínio entre os anos de 2012 e 2015 e aumento nos anos de 2016 a 2019, justificada pela intensidade na investigação dos casos sintomáticos respiratórios e ampliação de métodos de diagnóstico mais sensíveis, como por exemplos o Xpert® MTB/RIF M. TUBERCULOSIS/RIF. Além disso, a redução acentuada entre 2020 e 2022 é explicada pela possibilidade de subnotificação, assim como a dificuldade de acesso ao sistema de saúde, observado durante o período da pandemia (Figura 3) (4).

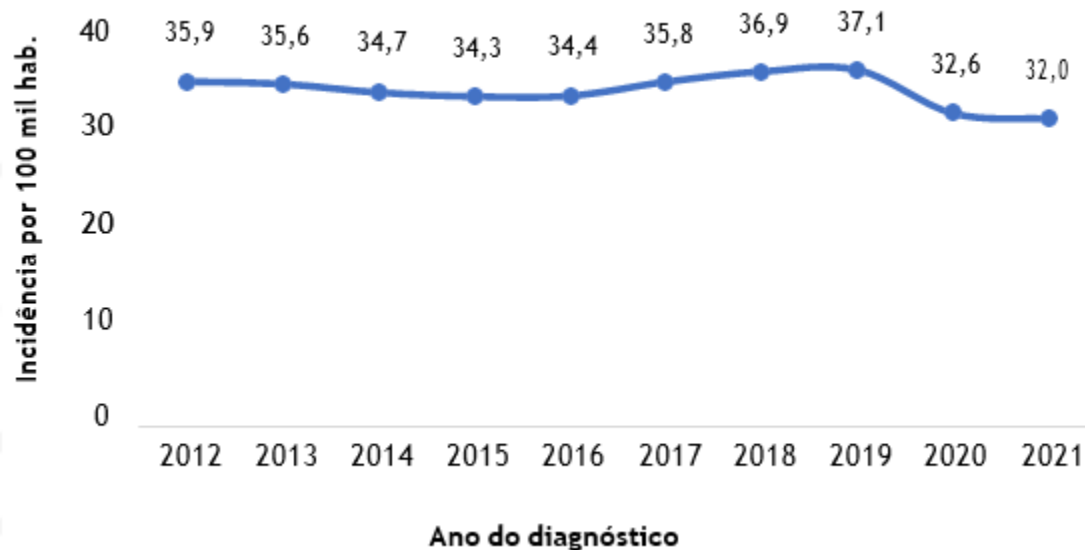


Figura 3: Coeficiente de incidência de tuberculose (por 100 mil hab.) no Brasil, 2012 a 2021 (4).

Atualmente, tem sido observado heterogeneidade nos números de notificações de TB por unidade federativa (UF) do Brasil. Destaca-se os dados dos estados do Amazonas (71,3), Rio de Janeiro (67,4), Roraima (54,6) e do Acre (50,3), como os mais expressivos, além de Pernambuco (45,9), Pará (42,6), Rio Grande do Sul (36,5), Mato Grosso do Sul (34,9), Espírito Santo (34,7), Amapá (35,2) e São Paulo (33,8), que apresentaram os maiores coeficientes registrados no país. Nota-se que os coeficientes de incidências dessas UF (total de 11) foram maiores que o do Brasil (32,0 casos de TB por 100 mil hab.) (4).

Assim como em outras regiões do mundo, no Brasil, os casos de TB são predominantes no sexo masculino em quase todas as faixas etárias, com exceção do grupo de 10 a 14 anos. Homens de 20 a 34 anos apresentam risco maior de 2,8 vezes de adoecimento por TB pulmonar do que mulheres na mesma faixa etária, seguidos do grupo de 50 a 64 anos, cujo risco de adoecimento por TB pulmonar é 2,6 vezes maior. A diferença do risco de adoecimento por TB pulmonar entre os sexos é menor entre aqueles com menos de 15 anos (4).

A coinfeção TB-HIV (9,9% em 2012 a 8,3% em 2021), vem apresentando queda entre os casos novos de TB ao longo dos anos. No entanto, houve uma

redução na testagem para HIV entre os casos novos de TB, o que pode ocasionar impactos graves no desfecho de tratamento da TB devido a possibilidade de coinfeção (Figura 4) (7). Em 2021, os estados do Acre (92,3%), Rio Grande do Norte (87,6%) e Amapá (87,1%) tiveram os maiores percentuais de testagem para o HIV e as maiores proporções de coinfeção TB-HIV foram identificadas no Distrito Federal (14,5%), Rio Grande do Sul (13,7%) e Santa Catarina (11,5%) (4).

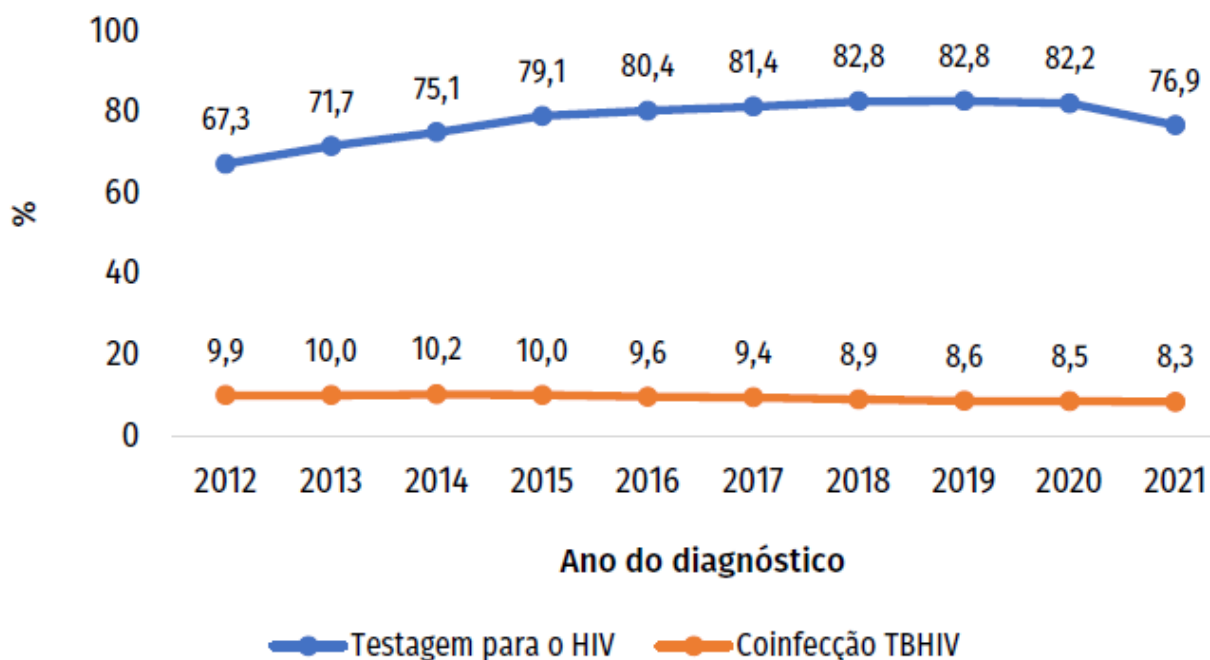


Figura 4: Proporção de testagem para o HIV e de coinfeção TB-HIV entre os casos novos de tuberculose no Brasil, 2012 a 2021 (4).

Conforme demonstrado na figura 5, uma constante no coeficiente de mortalidade, entre 2,1 e 2,3 óbitos por 100 mil hab., foi observada entre 2011 e 2020, porém, 10 UF apresentaram coeficiente de mortalidade superior ao observado no país (Em 2020, o coeficiente de mortalidade no Brasil foi de 2,1 óbitos por 100.000 hab.). Dentre os estados com maiores índices está o Acre (3,9), Rio de Janeiro (4,4), Pernambuco (3,1), Amazonas (3,6), Pará (2,8), Mato Grosso do Sul (2,6), Rio Grande do Sul (2,4), Mato Grosso (2,2), Roraima (2,2) e Rio Grande do Norte (2,2) (4).

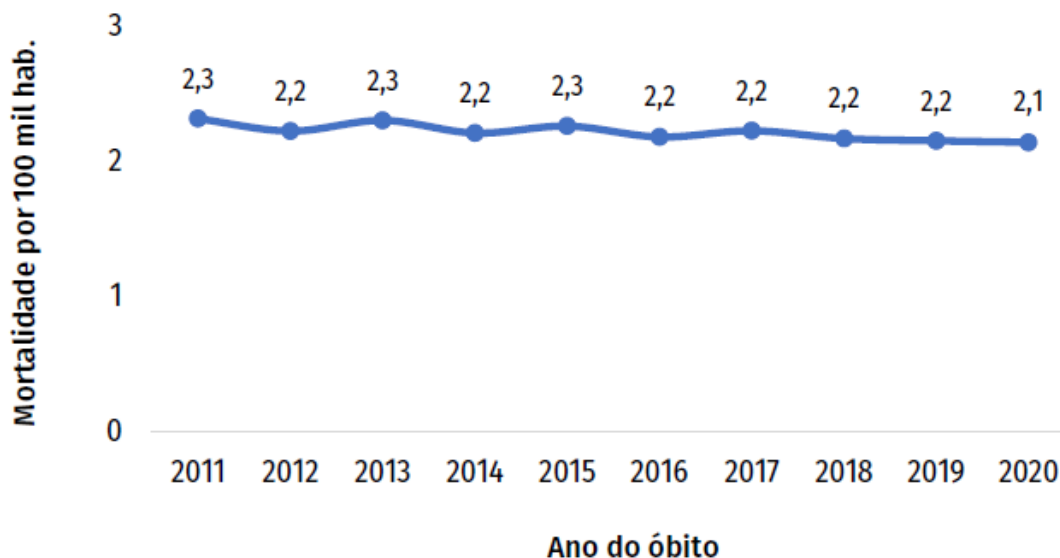


Figura 5: Coeficiente de mortalidade por tuberculose (por 100 mil hab.) no Brasil, 2011 a 2020 (4).

1.2 Etiologia e Transmissão da Tuberculose

A tuberculose em humanos é causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) e em conjunto com outras espécies, como o *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG (Bacillus Calmette-Guérin, cepa vacinal), *M. africanum*, *M. microti* e *M. caprae*, formam o complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CM. TUBERCULOSIS) (8). As micobactérias pertencem ao gênero *Mycobacterium*, da família *Mycobacteriaceae*, subordem *Corynebacterium* e ordem *Actinomyces* (9).

O bacilo *M. tuberculosis* é reto ou ligeiramente curvo, imóvel, não esporulado, não encapsulado, medindo de 1 a 10 μm de comprimento por 0,2 a 0,6 μm de largura e possuindo a propriedade morfotintorial álcool-ácido resistente. A parede é constituída principalmente por ácidos micóticos, constituindo uma barreira hidrofóbica que confere resistência à dessecação e à descoloração por álcool e ácido, além de diversos agentes químicos e antibióticos. Vale ressaltar que, o bacilo é resistente a ação de agentes

químicos, mas sensível a ação de agentes físicos como calor e radiação ultravioleta (9).

A transmissão ocorre quase que exclusivamente por gotículas (quando uma pessoa doente com TB pulmonar e/ou laríngea ao tossir, falar ou espirrar libera partículas contendo os bacilos) (10). Geralmente afeta os pulmões (TB pulmonar), mas também pode acometer outros locais como a laringe, linfonodos, pleura e meninges (TB extrapulmonar) (11). Além disso, a alta incidência dos casos de tuberculose pode estar associada a transmissão do *M. tuberculosis*, criando uma força motriz capaz de manter esse índices elevados e colocando os órgãos de saúde pública em constante alerta (12). Estimativas apontam que cerca de um quarto da população mundial está infectada com o *M. tuberculosis* e a maioria das pessoas que desenvolve a doença são adultos, com mais casos entre homens (1).

Atrasos no diagnóstico ou início do tratamento por conta de fatores comportamentais, principalmente associados a dificuldade de acesso ao sistema de saúde e dos indivíduos em procurar cuidados básicos, podem contribuir com a prevalência da TB e a probabilidade de transmissão da doença (10). Além disso, a identificação do Complexo *M. tuberculosis* é essencial para o diagnóstico, diferenciação das espécie, seleção da terapêutica adequada e fins epidemiológicos (8).

A intensidade da transmissão do *M. tuberculosis* depende da prevalência e infecciosidade de indivíduos com a forma ativa da doença, da frequência/proximidade das interações do contato com o caso índice, da duração/proximidade do contato, da quantidade/virulência do patógeno expelido para o ambiente e da suscetibilidade da pessoa exposta, bem como as características biológicas do *M. tuberculosis* (9,13,14).

A infecciosidade gerada nos indivíduos pode ser afetada ainda por características individuais (por exemplo, coinfeção com o HIV) ou compartilhados em nível comunitário (acessibilidade ao diagnóstico e qualidade do atendimento). Além disso, os padrões de duração e proximidade dos contatos são

influenciados pela idade, estrutura demográfica, comportamentos culturais, densidade populacional e padrões de migração (12). Os espaços com déficit na circulação de ar, luz ultravioleta e umidade podem favorecer um ambiente ideal para fazer com o *M. tuberculosis* permaneça viável e as partículas transportadas pelo ar fiquem mais tempo suspensas, impactando diretamente na troca de ar de pessoa para pessoa, necessária para a transmissão (15).

A infecciosidade dos casos índices de TB podem ser definida clinicamente, incluindo a presença de tosse e/ou teste bacteriológico positivo para o *M. tuberculosis* (Exemplo: Xpert® MTB/RIF) no escarro. No entanto, a infecciosidade pode estar presente antes mesmo do início dos sintomas, com a TB subclínica, que é caracterizada por resultados negativos na triagem de sintomas de tuberculose, mas resultados positivos de cultura, com tuberculose presumivelmente infecciosa. Assim, é difícil mensurar a transmissão da TB, principalmente, em ambientes de alta endemicidade, dado que existem vários problemas no rastreamento desses casos (12).

1.3 Tratamento da tuberculose

A tuberculose é curável em praticamente todos os casos, desde que obedecidos os princípios básicos da terapia medicamentosa e adequada operacionalização do tratamento. O tratamento é longo (no mínimo 6 meses), compreendendo duas fases: Intensiva e manutenção (16).

A fase intensiva tem por objetivo reduzir rapidamente o quantitativo de bacilos, impactando diretamente na redução da transmissibilidade. A melhora clínica e a conversão da cultura de positiva (ao diagnóstico) para negativa no final do segundo mês de tratamento é esperada. Para isso, são associados medicamentos com alta atividade bactericida, dentre eles a isoniazida e rifampicina (17). Enquanto na fase de manutenção tem como objetivo eliminar os bacilos latentes ou persistentes, reduzindo a possibilidade de recidiva da doença. Esse processo é associado ao uso

de medicamentos com alto poder bactericida e esterilizante, para atuar em todas as populações bacilares (16).

No Brasil, o esquema básico para adolescentes e adultos é composto por 4 fármacos na fase intensiva e 2 na fase de manutenção. A apresentação farmacológica é de comprimidos em doses fixas combinadas com a apresentação tipo 4 em 1 (RHZE) ou 2 em 1 (RH) (16). O esquema básico em crianças (< de 10 anos de idade) é composto por três fármacos na fase intensiva (RHZ), e dois na fase de manutenção (RH) e as apresentações farmacológicas são individualizadas (comprimidos e/ou suspensão) (16). Além disso, esquemas especiais, incluindo outros fármacos, são preconizados para diferentes populações. Os esquemas especiais preconizados possuem complexidade clínica e operacional recomendado a utilização em unidades com perfis assistenciais especializados (Quadro 1) (16).

Quadro 1 – Esquemas de tratamento da tuberculose e local de manejo clínico preferencial.

Situação do caso	Orientação terapêutica	Local de manejo
Caso novo e Retratamento (Recidiva após cura e reingresso após abandono)	Esquema Básico para adultos e crianças	Atenção Primária
Tuberculose meningoencefálica e osteoarticular	Esquema Básico para TB meningoencefálica e osteoarticular	Hospital e, posteriormente, Atenção Secundária
Toxicidade, intolerância ou impedimentos ao uso do Esquema Básico e avaliação de falência terapêutica	Esquemas Especiais	Referência Secundária
Falência terapêutica por resistência e Resistência comprovada	Esquemas Especiais para resistências	Referência Terciária

1.4 Diagnóstico da tuberculose ativa

A busca ativa de sintomático respiratório (SR) é uma estratégia para o controle da TB, uma vez que permite a detecção precoce das formas pulmonares e o diagnóstico pode ser clínico, radiológico ou laboratorial (8).

O diagnóstico clínico-radiológico (quando não há nenhum exame laboratorial confirmatório de TB) ainda corresponde a uma parcela importante dos casos notificados (18). A radiografia de tórax é o método padrão utilizado para o diagnóstico e monitoramento do tratamento. Enquanto que a tomografia computadorizada (TC) alcança bons resultados, sendo superior à radiografia de tórax na avaliação da doença ativa (19).

Entretanto, os métodos laboratoriais devem ser utilizados, visto que implica no tratamento correto ao paciente infectado com o *M. tuberculosis*. Atualmente no Brasil, a baciloscopia, a cultura e o teste rápido molecular são utilizados para diagnóstico laboratorial da TB ativa (20).

A baciloscopia do escarro, desde que executada corretamente em todas as suas fases, permite detectar de 60% a 80% dos casos de TB pulmonar em adultos, importante do ponto de vista epidemiológico, os casos com baciloscopia positiva são responsáveis pela manutenção da cadeia de transmissão. Em crianças e pessoas vivendo com HIV, a sensibilidade é reduzida, pois nessas populações a tuberculose é tipicamente paucibacilar (doença tuberculosa causada por número menor de bactérias) e há dificuldade de obtenção de uma amostra com boa qualidade (21,22).

A baciloscopia é indicada para casos de tuberculose presumida (independentemente do tempo de tosse), acompanhamento de tratamento. Deve ser realizada em duas amostras, uma no primeiro contato com a pessoa com tuberculose presumida e outra, independentemente do resultado da primeira, no dia seguinte, com a coleta do material sendo feita preferencialmente ao despertar. Nos casos em que houver indícios clínicos e radiológicos de tuberculose presumível e as duas amostras de diagnóstico apresentarem resultado negativo, podem ser solicitadas amostras adicionais. A Baciloscopia positiva e quadro clínico compatível com TB fecham o diagnóstico e autorizam o início de tratamento da TB. Contudo, outros microrganismos podem ser evidenciados na baciloscopia direta, logo o diagnóstico de certeza bacteriológica só é obtido com a cultura (que é o padrão de referência) e/ou testes moleculares (8).

A cultura é um método de elevada especificidade e sensibilidade no diagnóstico da TB, sendo considerada padrão de referência em pessoas com TB pulmonar presumida e baciloscopia negativa. Pode aumentar em até 30% o diagnóstico da TB e podem ser realizadas com a semeadura da amostra em meios de cultura sólidos e líquidos (8).

Os meios de cultura sólidos Löwenstein-Jensen e Ogawa-Kudoh apresentam vantagem de serem de menor custo e apresentam baixo índice de contaminação. A desvantagem é o tempo de detecção do crescimento bacteriano que varia de 14 a 30 dias, podendo estender por até oito semanas (23). O meio líquido é utilizado nos métodos automatizados disponíveis no Brasil, entre eles podemos citar o MGIT®, que tem um tempo para obtenção do resultado entre 5 a 12 dias, quando positivo, e 42 dias para resultados negativos (24). Entretanto, o resultado da cultura confirma o diagnóstico de Micobacterioses, sendo necessária a identificação da espécie para caracterizar se é um caso de TB ou outra Micobacteriose. Além disso, o custo elevado, as condições de biossegurança restritas a ambientes de laboratório são limitações importante, embora a identificação da espécie seja feita por métodos bioquímicos e fenotípicos ou por meio de técnicas moleculares (8).

Frente à urgência mundial de desenvolvimento de novas tecnologias para detecção precoce da tuberculose e aumento de formas resistentes da doença, foram desenvolvidos metodologias capazes de auxiliar no diagnóstico de pacientes com TB presumida, um exemplo de sucesso desses métodos é o Xpert® MTB/RIF (Xpert® MTB/RIF) (25).

O Xpert® MTB/RIF consiste em uma reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real com capacidade de detectar o ácido desoxirribonucleico (DNA) do complexo *M. tuberculosis* e as mutações do gene *rpoB*, associado à resistência à rifampicina. O teste produz um resultado em aproximadamente duas horas em ambiente laboratorial e é necessária somente uma amostra para o diagnóstico (26). Inicialmente foi recomendado amostras de escarro, líquido cefalorraquidiano e linfonodos. Atualmente é recomendado para amostras de escarro, escarro induzido,

lavado broncoalveolar, lavado gástrico, líquido cefalorraquidiano, além de material de gânglios linfáticos (27).

Resultados “*M. tuberculosis not detected*” (*M. tuberculosis não detectado*) no Xpert® MTB/RIF é altamente preditivo da ausência do *M. tuberculosis* em pacientes com TB presumida, enquanto resultado “*M. tuberculosis detected*” (*M. tuberculosis detectado*) é altamente preditivo da presença de bacilos do *M. tuberculosis*. Nos casos de amostras que contenham DNA do complexo *M. tuberculosis* e resistência a rifampicina detectadas pelo Xpert® MTB/RIF, os resultados deverão ser confirmados e testadas à presença de mutações genéticas associadas à resistência a outros fármacos (27).

Em uma meta-análise, quando o Xpert® MTB/RIF foi utilizado como teste de rastreio para o diagnóstico da TB, a sensibilidade e a especificidade foram de 89% e 99%, respectivamente. Entre os casos confirmados por cultura, o teste aumentou a detecção de TB em 23% quando comparado com a baciloscopia. Na mesma meta-análise, a detecção de resistência à RIF apresentou uma sensibilidade de 95% e uma especificidade de 98% (26). De modo geral, houve um aumento de 60% na confirmação diagnóstica em condições de rotina em estudo realizado nas cidades do Rio de Janeiro e Manaus (28).

Em 2017, foi disponibilizada uma nova geração, o Xpert® MTB/RIF Ultra (Xpert® MTB/RIF Ultra), com benefícios em relação à geração anterior relacionadas ao tempo de processamento de 120 minutos para menos de 80 minutos. A capacidade de detectar baixos números de bacilos (16 bacilos por ml de expectoração em comparação com 131 por ml para o Xpert® MTB/RIF) e maior sensibilidade para as amostras paucibacilares são exemplos dos ganhos do novo teste. Amostras respiratórias de crianças e pessoas vivendo com HIV, além de amostras de sítios anatômicos extrapulmonares, são exemplos de amostras paucibacilares que podem ser avaliadas com esse método (29).

Para a melhoria do diagnóstico, o Ministério da Saúde (MS) promoveu a expansão da Rede de Teste Rápido da Tuberculose (RTR-TB), com a distribuição de

70 novos equipamentos em 2017 e 2018. A seleção dos municípios se deu com a participação das UFs, a partir de critérios epidemiológicos e operacionais. Essa expansão abre novas frentes de atendimento à população, permitindo o diagnóstico mais rápido, bem como a identificação precoce dos casos de resistência à rifampicina, principal medicamento utilizado para o tratamento da tuberculose (30).

Dada a recomendação atual de substituir a baciloscopia pelo Xpert® MTB/RIF como teste diagnóstico inicial para TB e a falta de acesso (e atraso na obtenção) dos resultados da cultura, o Xpert® MTB/RIF pode fornecer o único meio para avaliar a carga bacilar, o valor de limiar de ciclo (Ct) (18). Os valores de Ct's são inversamente relacionados com a carga bacteriana, ou seja, quanto menor for o número de ciclos necessários para identificar o DNA do *M. tuberculosis* maior é a carga bacteriana presente na amostra avaliada. Os valores de Ct's são categorizados como muito baixos (>28 ciclos), baixos (23-28 ciclos), médios (16-22 ciclos) e altos (<16 ciclos) (31).

Os valores de CTs tem potencial de estimar o risco de transmissão de *M. tuberculosis* e ser usada como uma medida pontual para controle de infecção e rastreamento de contatos (31,32). Além disso, foi demonstrado que os valores de Ct são influenciados por fatores relacionados ao caso do índice, como status de HIV, sexo (33). Em um estudo realizado na África Subsaariana com o objetivo de determinar a correlação dos valores de Xpert® MTB/RIF Ct com o grau de baciloscopia e cultura e, também, avaliar a relação entre os valores Ct e o tempo de positividade da cultura, foi identificado que quanto mais alto era os valores de Ct's, em menos dias a cultura positiva era disponibilizada. Enquanto pacientes com valores de Ct's muito baixos (>28), a mediana de dias para positividade da cultura foi de 15, aqueles com valores de Ct's altos (<16) a mediana de dias foi de 7 (31).

1.5 Custo efetividade

Um único exame de baciloscopia custa entre US\$ 1,13 e US\$ 1,63, mas devido à baixa sensibilidade e especificidade os gastos elevam-se ao sistema de saúde. O custo do teste Xpert® MTB/RIF (Cartucho, equipamento, recurso humanos) varia de US\$ 22,63 a US\$ 27,55, visto que o preço somente do cartucho Xpert® MTB/RIF é de US\$ 19,40. Os custos unitários para cultura (Löwenstein–Jensen [LJ]) ou tubo indicador de crescimento de Micobactérias [MGIT]) variam de US\$ 13,56 a US\$ 18,95, entretanto a cultura apresenta limitações importantes como o tempo de liberação do resultado (34).

O Xpert® MTB/RIF mostrou potencial de reduzir os custos aos sistemas de saúde, inclusive em ambiente de baixa prevalência de TB e em clínicas periféricas. Foi possível observar em um estudo realizado numa região de baixa incidência de TB que os custos por paciente que realizou o teste Xpert® MTB/RIF aumentou em até 62%, cerca de US\$ 162 a US\$ 256 quando realizado em pelo menos uma amostra de escarro vs US\$ 158 por paciente que não foi realizado o teste Xpert® MTB/RIF. Contudo, quando todos os custos do sistema de saúde foram considerados, não realizar Xpert® MTB/RIF na investigação de TB tornou-se uma abordagem mais cara quando comparado com os pacientes que realizaram o teste Xpert® MTB/RIF (Não realizou Xpert® MTB/RIF US\$ 2.673 Vs Realizou Xpert® MTB/RIF US\$ 2.728), explicado pela redução no tempo para iniciar o tratamento (16,3 dias sem teste molecular para 2,7 dias com teste Xpert® MTB/RIF) e hospitalizações mais curtas (35).

1.6 Infecção latente por *Mycobacterium tuberculosis*

A Infecção latente pelo *Mycobacterium tuberculosis* (ILTB) ocorre quando uma pessoa infectada não manifesta a doença ativa. Os bacilos podem permanecer por anos, como reservatórios, sem que haja a progressão da doença. O diagnóstico e tratamento da ILTB é uma das principais estratégias para a redução da taxa de

incidência da doença, sendo uma das metas do programa de estratégia pelo fim da TB e prevenção do adoecimento, principalmente, em populações com risco de desenvolver a doença (36).

A probabilidade de um indivíduo infectado evoluir para doença ativa depende de fatores ligados a carga bacteriana, contatos de casos de TB pulmonar bacilífera, fatores de risco como comorbidades tais como Diabetes, comprometimento imune, infecção pelo vírus da Imunodeficiência adquirida (HIV), teste tuberculínico (TST) ou teste IGRA positivo para ILTB. Estima-se que 10% dos indivíduos infectados adoecerão durante a vida, o risco é maior nos 2 primeiros anos, declinando a cada ano após a infecção, sendo substancialmente maior em indivíduos imunossuprimidos (36).

Acredita-se que este estado latente seja mantido por uma resposta imune ativa no hospedeiro iniciada pelo bacilo. Evidências epidemiológicas e moleculares sugerem que a cepa infectante original pode levar à reativação da tuberculose até 30 anos após a infecção inicial(36). A identificação destes pacientes por meios de testes de diagnóstico como o teste tuberculínico (TST) ou o ensaio de liberação de Interferon-gama (IGRA) é um indicador importante para o acompanhamento e tratamento adequado (37).

1.7 Diagnóstico da ILTB

1.7.1 Teste Tuberculínico

O TST é um teste diagnóstico para ILTB *in vivo*. Consiste na inoculação intradérmica do derivado proteico purificado (PPD – Purified Protein Derivative), dose de 0,1ml (5 unidades do PPD), no terço médio da face anterior do antebraço. A avaliação e leitura é realizada após 48 a 72 horas, podendo ser estendido por no máximo 96 horas (8,36).

A reação desencadeada após a inoculação do PPD é do tipo antígeno-anticorpo, seguida por resposta dependente da reatividade celular de linfócitos T sensibilizados. Acredita-se que ocorra uma reexposição ao bacilo de indivíduos que foram infectados pelo *M. tuberculosis*, produzindo resposta às estruturas antigênicas, conseqüentemente, esse processo é observado no local da aplicação do PPD (37). Entretanto, o teste pode sofrer interferências, com micobactérias não causadoras de tuberculose e imunização previa com a vacina BCG (Bacilo de Calmette-Guerin) (38).

Reações falso-negativas podem ocorrer por conta de alguns fatores, tais como PPD malconservado, exposto diretamente à luz, congelado, desnaturado, contaminado com fungos ou manutenção em frascos inadequados, leitor inexperiente/vício de leitura, imunossupressão avançada, gravidez e idade avançada. Outras limitações incluem a necessidade da presença do paciente para a leitura. (24, 39, 40).

De modo geral, a sensibilidade do TST é em torno de 77% e a medida é feita avaliando o diâmetro transversal da área endurecida palpável com uma régua milimetrada. Valores iguais ou maiores que 5 mm indicam uma possível infecção pelo *M. tuberculosis* e indicador de realização da terapia preventiva para TB (24, 36).

1.7.2 Ensaio imunoenzimático QuantiFERON®-TB GOLD PLUS

O ensaio imunoenzimático QuantiFERON®-TB GOLD PLUS (QFT-Plus) aprovado pela agência reguladora (FDA - Food and Drug Administration) e pelo Centro de Controle de Doenças (CDC - Centers for Disease Control) dos Estados Unidos da América (EUA) tem como base tecnológica a estimulação *in vitro* de células T efectoras, com posterior quantificação da citocina IFN- γ , oriundas do sangue total, associadas a infecção por *M. tuberculosis* (39).

O teste QFT-Plus é realizado em duas etapas. Primeiro, o sangue total é coletado para cada um dos tubos, um tubo de Nil, um tubo TB1, um tubo TB2 e um tubo de mitógeno. Em alternativa, o sangue pode ser colhido num único tubo genérico

contendo heparina de lítio como anticoagulante e, em seguida, transferido para os tubos QFT-Plus. Os tubos devem, logo que possível ou em até 16 horas após coleta, serem incubados a 37 °C. Após um período de incubação de 16 a 24 horas, os tubos são centrifugados, o plasma é removido e a quantidade de INF- γ (UI/ml) em resposta aos antígenos peptídeos é medida pelo ELISA (40).

O QFT-Plus é um teste de respostas imunitárias mediadas por células a antígenos peptídeos que simulam proteínas micobacterianas Early Secretory Target 6 (ESAT-6) e o Culture Filtrate Protein 10 (CFP-10) distribuídos em dois tubos de antígeno (TB1 e TB2). Normalmente, os indivíduos infectados com o Complexo *M. tuberculosis* possuem linfócitos no sangue que reconhecem estes e outros antígenos micobacterianos. Este processo de reconhecimento envolve a produção e secreção da citocina INF- γ , a detecção e subsequente quantificação de INF- γ forma a base deste teste (41). As proteínas ESAT-6 e CFP-10 estão ausentes em todas as estirpes da vacina BCG e da maioria das micobactérias não tuberculosas, com à exceção das *M. kansasii*, *M. szulgai* e *M. Marinum* (42).

O tubo TB1 contém peptídeos ESAT-6 e CFP-10 responsáveis em induzir respostas imune celular a partir dos linfócitos T CD4+ (43). Enquanto que o tubo TB2 possui adicionalmente peptídeos para estimular a liberação de IFN- γ das células T CD4 (estimuladas no tubo TB1) e T CD8+ (41,44).

As células T CD4+ desempenham um papel fundamental no controle imunológico da infecção por *M. tuberculosis* secretando citocina IFN- γ , enquanto as células T CD8+, na defesa do hospedeiro contra a *M. tuberculosis*, produzem produzindo IFN- γ e outros fatores solúveis, para ativar macrófagos e assim suprimir o crescimento da *M. tuberculosis*, destruir células infectadas ou lisar o *M. tuberculosis* intracelular diretamente (45). As células T CD8+ foram detectadas tanto em indivíduos com ILTB, quanto com TB ativa, porém, mais frequentemente em indivíduos com TB ativa. Assim como, podem estarem associados a exposição recente a *M. tuberculosis*, presentes e criem crianças com TB e pessoas coinfectado com TB/HIV (40).

Conforme demonstrado no quadro 2, um ensaio QFT-Plus é considerado positivo quando a resposta de INF- γ for significativamente acima do valor de Nil INF- γ UI/ml em qualquer dos tubos de antígeno de TB. Uma resposta baixa ao mitógeno (<0,5 UI/ml) indica um resultado indeterminado quando uma amostra sanguínea, também, apresentar uma resposta negativa aos antígenos de TB. Este padrão pode ocorrer na presença de linfócitos insuficientes, atividade reduzida dos linfócitos devido a manuseamento inadequado da amostra, enchimento/mistura incorreta do tubo de mitógeno ou incapacidade de os linfócitos do paciente de gerarem INF- γ (40).

Quadro 2. Interpretação dos resultados do QuantiFERON®-TB Gold Plus.

Nil* (IU/mL)	Antígeno TB1 menos Nil (IU/mL)	Antígeno TB2 menos Nil (IU/mL)	Mitógeno menos Nil (IU/mL)	Resultado	Interpretação
<= 8,0	> = 0,35 e > = 25% do valor de Nil	> = 0,35 e > = 25% do valor de Nil	Qualquer um	Positivo	Infecção por <i>M. tuberculosis</i> Provável
<= 8,0	< 0,35	< 0,35	> = 0,5	Negativo	Infecção por <i>M. tuberculosis</i> NÃO provável
	> = 0,35 e < 25% do valor de Nil	> = 0,35 e < 25% do valor de Nil	> = 0,5		
<= 8,0	< 0,35	< 0,35	< 0,5	Indeterminado	Os resultados da reação ao Antígeno TB são indeterminados
	> = 0,35 e < 25% do valor de Nil	> = 0,35 e < 25% do valor de Nil	< 0,5		
> 8,0	Qualquer um	Qualquer um	Qualquer um		

O QFT-Plus possuem vantagens operacionais ao requerer apenas uma visita do indivíduo a unidade de saúde, não apresentar viés do leitor e no fato de o teste ser realizado em amostra biológica, o que reduz o risco de efeitos adversos (46). Entretanto, os IGRAs comercialmente disponíveis não têm precisão suficiente para a avaliação diagnóstica de tuberculose presumida.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- Investigar a associação dos valores de delta Ct e a transmissão de *Mycobacterium tuberculosis* em contatos de indivíduos com tuberculose pulmonar ativa.

2.2 Específicos

- Avaliar a correlação dos valores delta Ct do teste Xpert® MTB/RIF e os resultados positivos de QFT-Plus dos contatos na visita inicial.
- Analisar a associação entre os valores delta Ct do teste Xpert® MTB/RIF e a conversão do teste negativo em positivo do QFT-Plus após seguimento de 6 meses.

3 PRODUTO DA DISSERTAÇÃO

Artigo a ser submetido a revista: *Clinical Infectious Diseases* (IF: 9.07)

**Xpert MTB/RIF cycle threshold values associated with QFT-Plus conversion
in close contacts of Tuberculosis index cases**

Leandro S. Garcia^{1,2}

1. Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil; 2. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brazil.

Allyson G. Costa^{1,2,3,4}

1. Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil; 2. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brazil; 3. Escola de Enfermagem de Manaus, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brazil; 4. Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas, Manaus, Brazil.

Mariana Araújo-Pereira^{5,6,7}

5. Laboratório de Inflamação e Biomarcadores, Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Brazil; 6. Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brazil; 7. Multinational Organization Network Sponsoring Translational and Epidemiological Research (MONSTER) Initiative, Salvador, Brazil.

Jaqueline S. Jesus¹

1. Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil.

Alexandra B. Souza^{1,2}

1. Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil; 2. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brazil.

Renata Spener-Gomes^{1,2}

1. Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil; 2. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brazil.

María B. Arriaga^{5,6,7}

5. Laboratório de Inflamação e Biomarcadores, Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Brazil; 6. Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brazil; 7. Multinational Organization Network Sponsoring Translational and Epidemiological Research (MONSTER) Initiative, Salvador, Brazil.

Adriano Gomes-Silva⁸

8. Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil.

Alice M.S. Andrade^{5,7}

5. Laboratório de Inflamação e Biomarcadores, Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Brazil; 7. Multinational Organization Network Sponsoring Translational and Epidemiological Research (MONSTER) Initiative, Salvador, Brazil.

Elisangela C. Silva^{9,10,11}

9. Programa Acadêmico de Tuberculose, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; 10. Centro de Bociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, Brazil; 11. Fundação Saúde do Estado do Rio de Janeiro, Secretaria Estadual de Saúde do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

Aline Benjamin⁸

8. Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil.

Michael S. Rocha^{7,12}

7. Multinational Organization Network Sponsoring Translational and Epidemiological Research (MONSTER) Initiative, Salvador, Brazil; 12. Instituto Brasileiro para Investigação da Tuberculose, Fundação José Silveira, Salvador, Brazil.

Adriana S.R. Moreira⁹

9. Programa Acadêmico de Tuberculose, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

Jamile G. Oliveira¹³

13. Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

Marina C. Figueiredo¹⁴

14. Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, Tennessee, USA.

Megan M. Turner¹⁴

14. Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, Tennessee, USA.

José R. Lapa-e-Silva⁹

9. Programa Acadêmico de Tuberculose, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

Betina Durovni^{8,13}

8. Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil; 13. Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

Solange Cavalcante^{8,13}

8. Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil; 13. Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

Afranio L. Kritski⁹

9. Programa Acadêmico de Tuberculose, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

Valeria C. Rolla⁸

8. Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil.

Timothy R. Sterling¹⁴,

14. Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, Tennessee, USA.

Bruno B. Andrade^{5,6,7}

5. Laboratório de Inflamação e Biomarcadores, Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Brazil; 6. Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brazil; 7. Multinational Organization Network Sponsoring Translational and Epidemiological Research (MONSTER) Initiative, Salvador, Brazil.

Marcelo Cordeiro-Santos^{1,2,15*}

1. Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil; 2. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brazil.

RePORT Brazil Consortium

***Correspondente:** Marcelo Cordeiro-Santos, Av. Pedro Teixeira, 25, Dom Pedro, Manaus, Brazil, Zip Code: 69.040-000. E_mail: marcelocordeiro@uea.edu.br / marcelocordeiro.br@gmail.com

Running Title: Xpert Ct values associated QFT-Plus conversion

ABSTRACT

The Xpert MTB/RIF rapid molecular test, recommended by the World Health Organization since 2010 as an initial test for the diagnosis of pulmonary tuberculosis (TB), provides quantitative results of *Mycobacterium tuberculosis* DNA in the form of cycle threshold (Ct) values. This information can be translated into mycobacterial load and used as a point measure for active tuberculosis cases, infection control and contact tracing. Unlike sputum microscopy, the role of Ct values in assessing *Mycobacterium tuberculosis* transmission has not yet been demonstrated. Thus, a prospective study was carried out to evaluate the association between Xpert MTB/RIF Ct values with QFT-Plus conversion in close contacts of pulmonary tuberculosis patients (TB index cases) in a multicentric cohort in Brazil. We evaluated clinical and laboratorial data, such as age, sex, race, smoking habits, illicit drug use, alcohol use, chest radiograph, Xpert MTB/RIF results, and QFT-Plus results at baseline (M0) and after month 6 (M6) for those who were negative results at baseline. A total of 1,055 close contacts of 391 TB index cases were included in the study. In M0, 333/1055 (31.6%) contacts were QFT-Plus positive and 91/717 (12.6%) QFT-Plus conversion to M6. The median Ct values of TB cases with QFT-Plus conversion contacts were significantly lower when compared with those who were QFT-Plus negative. In addition, a negative correlation between the Ct values of the TB cases and the QFT-Plus result of the contacts at M6 was observed. Furthermore, ROC curve analysis demonstrated that the area under the curve (AUC) of 0.999 (CI 95%: 0.997-1.000) of the Xpert MTB/RIF Ct values of TB cases have better power to discriminate QFT-Plus conversion close contacts in relation to the QFT-Plus negative contacts, with 47% specificity and 78% sensitivity. Finally, adjusted logistic regression showed that reduced Ct values were found to be associated with QFT-Plus conversion in close contacts (OR: 1.61, 95% CI: 1.12-2.32). Together, these results demonstrate that patients with pulmonary tuberculosis with low Xpert MTB/RIF Ct values may have a greater capacity for *Mycobacterium tuberculosis* transmission to their close contacts.

Key words: *M. tuberculosis*, TB Cases, Transmission, Close contacts.

INTRODUCTION

Estimates that one-third of the global population is infected with *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) [1]. Between 5% and 10% of individuals with Latent TB Infection (LTBI), if not treated with tuberculosis preventive therapy (TPT), can progress to active tuberculosis (TB) during their lifetime, usually within the first 5 years after infection (2). The risk of conversion depends on several factors, the most important being the immune status [3]. The diagnosis precocious of index cases of tuberculosis and close contact tracing and treatment are critical to reduce the incidence of active TB and to control *M. tuberculosis* transmission [4–6].

Diagnosis and treatment of LTBI are critical to reduce the of active TB and to control *M. tuberculosis* transmission. In several countries in which TB is endemic, such as Brazil, screening for LTBI has traditionally utilized the tuberculin skin test (TST) and recently the QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) test, an IFN-gamma release assay (IGRA) [7,8]. Furthermore, investigation of contacts is of fundamental importance for TB control, since, through this investigation, it is possible to identify cases of active tuberculosis, start treatment early and interrupt the chain of transmission of the disease [9].

The relationship between smear status and bacillary load as a marker of infectivity is used to guide public health and treatment decisions, however smear status provides an inaccurate estimate of bacillary load [10]. The cycle threshold (Ct) values of the Xpert[®]MTB/RIF proved capable of estimating the risk of transmission and being used as a point measure for infection control and contact tracing (8).

It has been reported that the high degrees of smear sputum microscopy increase the risk of *M. tuberculosis* transmission between contacts at the time of screening, but the evaluation of contact follow-up can help to stratify and quantify more precisely the risk of transmission and thus organize and prioritize investigations (8).

Xpert[®]MTB/RIF Ct is a significant method of estimating the risk of MTB transmission, this information can be used as a point measure for infection control and contact tracking (9-11). It has been demonstrated that the Xpert[®]MTB/RIF Ct values are

influenced by factors related to the case of the index, such as HIV status, gender (12). As well as there is a correlation between Ct values and bacillary load, culture positivity time and semiquantitative salivary microscopy result (13). However, the correlation between ct values and infectivity of people with active pulmonary TB has not yet been demonstrated.

The present study aims to investigate the association of Ct values and transmission of MTB in contacts with active pulmonary tuberculosis. We hypothesize that close contacts exposed to cases of lower delta ct index have a higher risk of being infected with *M. tuberculosis*.

METHODS

Study and locations

Prospective study evaluated the association out between cycle threshold (Ct) values of the Xpert® MTB/RIF with QFT-Plus conversion in close contacts of pulmonary tuberculosis patients (TB index cases) in a multicentric cohort in Brazil (RePORT-Brasil) from 2016 to 2019. The RePORT-Brazil consortium is an ongoing, multicentre, cohort study, which follows confirmed tuberculosis cases and their close contacts. Enrollment sites are in three Brazilian states (Amazonas [AM], Rio de Janeiro [RJ] and Salvador [SA]).

Study population

Seven hundred and seventy-nine TB index cases were recruited in multicentric cohort. Of these, 388 cases excluded for not having close contacts. Thus, a total of 1,055 contacts from 391 TB index cases were evaluated, being that 39 individuals were excluded for previous history of TB (Figure 1). The participants were recruited in five health units: Fundação Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (AM), Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (RJ), Clínica da Família Rinaldo Delamare (RJ), Secretaria de Saúde de Duque de Caxias (RJ) and Instituto Brasileiro para Investigação da Tuberculose (SA).

TB index case definition

Pulmonary tuberculosis patients was diagnostic with Xpert[®]MTB/RIF and culture positive tests. The laboratory tests (Xpert[®]MTB/RIF and culture) were performed with specimens digested and decontaminated using the N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide (NALC NaOH) method [17,18]. The specimens were processed on the day of collection. Molecular Xpert[®]MTB/RIF test was performed with 1 mL specimens incubated for 15 minutes, transferred to the Xpert[®]MTB/RIF cartridge and run on the GeneXpert[™] System (Cepheid, Dx System, v.4.0c) as per the manufacturer's instructions. In addition, Ct values probe (A, B, C, D and E) of Xpert[®]MTB/RIF was used to quantify the mycobacterial load and the maximum valid Ct was 34 for all probes result (13). Furthermore, specimens were incubated in culture with Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) at 37°C. The BD BACTEC[™] MGIT[™] System instrument was used for monitored automatically of the MGIT.

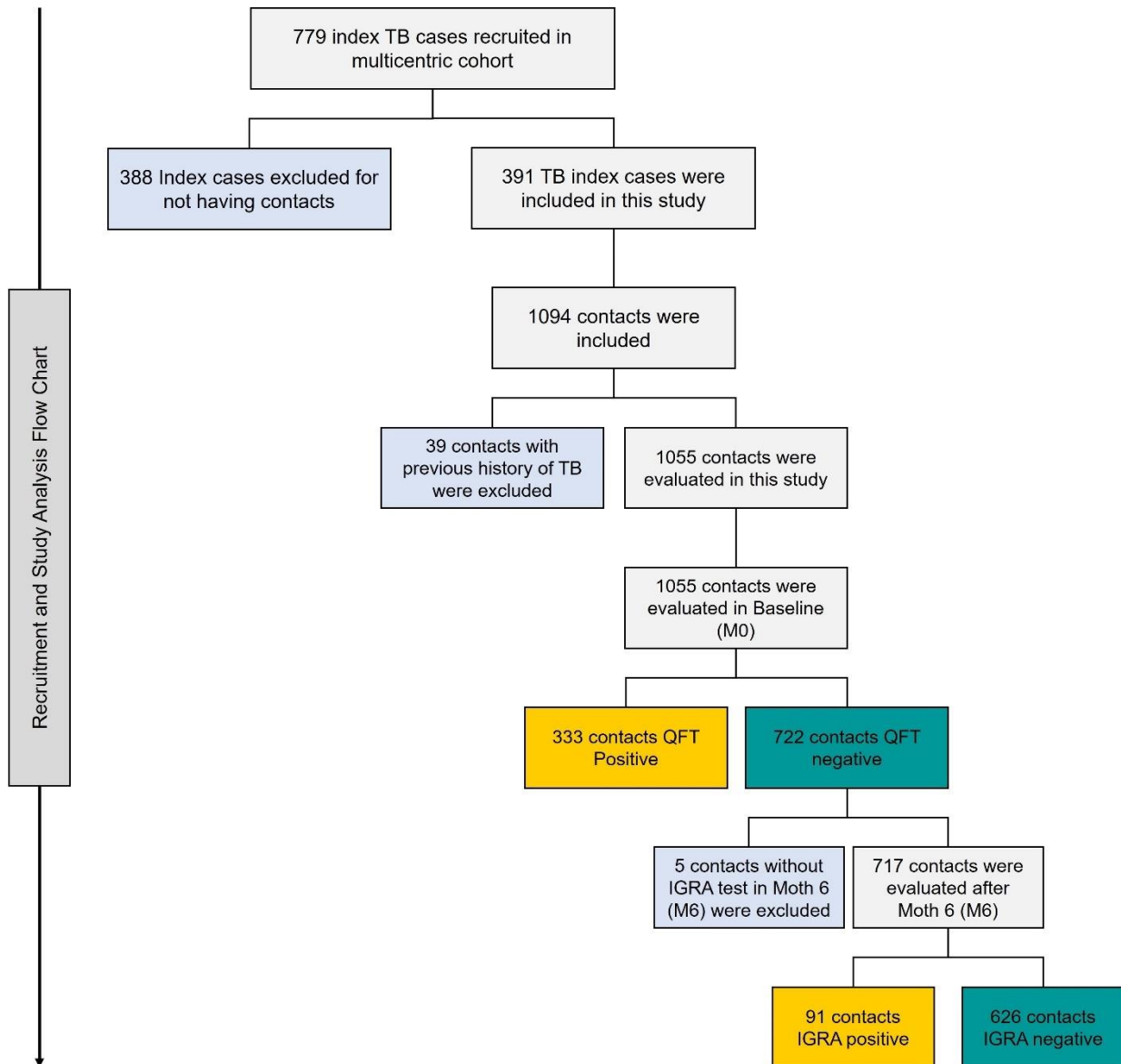


Figure 1. Flow chat described recruitment and population study evaluated. A total of 1,055 close contacts from 391 TB index cases were included in study. TB index cases were divided into 3 groups: QFT-Plus negative (QFT-), QFT-Plus positive (QFT+) and QFT-Plus conversion (QFT conversion), according to their QFT-Plus results of close contacts.

Close contacts definition and laboratorial evaluated

For this study, close contacts were defined as according to exposure ≥ 4 hours of contact/week with the TB index case at any time in the previous 6 months. In additional, contacts were evaluated for TB transmission with QFT-Plus test at

baseline (M0) and after month 6 (M6) for those who were negative results at baseline. Collection, processing, and interpretation of the QFT-Plus were performed according to the manufacturer's recommendations (QIAGEN). Briefly, venous blood was collected in four tubes (NIL, TB1, TB2 and Mitogen) and incubated at 37°C for 20h. After incubation, samples were stored at -20°C until the ELISA was performed within 2 weeks. IFN- γ levels (international units [IU] per milliliter) were quantified with a 4-point standard curve. QFT-Plus analysis software was used to generate the results. The software performed a quality control assessment of the assay, generated a standard curve, and provided both quantitative (IU per milliliter) and qualitative (positive, negative, or indeterminate) results [19].

Variables analyzed in the study

Demographic (age, sex, ethnicity, body mass index (performed with: height x weight), smoking habits, secondary smoking, alcohol use, illicit drug use) clinical (symptoms (cough, fever, night sweats, weight loss, chest radiograph) and laboratory (HIV status, CD4 count, sputum smear microscopy, MGIT culture and Xpert[®]MTB/RIF Ct value results) variables have been analyzed in TB index case at diagnosis. Whereas close contacts variables included age, sex, ethnicity, body mass index (performed with height x weight), smoking habits, alcohol use, illicit drug use, chest radiograph, HIV Status, HIV-1 RNA Viral load, CD4 count and QFT-Plus results. Moreover, QFT-Plus conversion was considered participants with a negative result at M0 and positive at M6.

Statistical analysis

Statistical analyzes were performed using the CompareGroups (version 4.5.1), rstatix (version 0.4.0), stats (version 3.6.2) and caret (version 6.0.86) R packages. Descriptive analyses were performed to characterize the study population. Categorical variables were compared using Pearson's chi-square test (Yate's correction) or the Fisher's two-tailed test and presented as number and frequency (%) in the tables. Continuous variables were displayed as median and interquartile range (IQR) and tested for Gaussian distribution using the D'Agostino-Pearson test.

Comparisons of Xpert[®]MTB/RIF Ct values TB index cases between contacts with QFT-Plus negative and positive at M0 and contacts with QFT-Plus negative and conversion at M6 were performed using the Mann-Whitney U test. The Spearman rank correlation test was carried out to assess relationships between Xpert[®]MTB/RIF Ct values TB index cases with QFT-Plus results at M6. ROC curve was performed to area under curve (AUC) determined and power of Xpert[®]MTB/RIF Ct values to discriminated QFT-Plus positive or conversion. Furthermore, binomial logistic regression model was used to show the independent associations between Xpert[®]MTB/RIF Ct values and QFT-Plus conversion. The variables age (TB index), sex (TB index), race (TB index), illicit drug use (TB index), alcohol use (TB index), cavitations (TB index), age (contact), sex (contact) and smoking habits (contact) were included in multivariable-adjusted model.

RESULTS

Baseline (M0) characteristics of the TB index cases and close contacts

The characteristics of TB index case and close contacts in M0 are showed in table 1. Median age was 34 years (IQR 25.0-45.0), with sex male and ethnicity admixed was prevalent in both groups (QFT- and QFT+). In additional, smoking habits, alcohol consumption, night sweats and cavitations had a significantly higher percentage in the TB index cases of QTF-Plus positive contacts group. Regarding the characteristics of close contacts in M0, the variables median of age, sex female, ethnicity admixed, and body mass index (BMI) showed a significantly higher percentage in the QTF-Plus+ group (Table 1).

Table 1: Characteristics of TB index case and close contacts according to the Baseline (M0) QFT-Plus results.

TB index case Characteristics	QTF negative (n=722)	QTF positive (n=333)	P value
Age (years), median (IQR)	34.0 (25.0-45.0)	34.0 (25.0-45.0)	0.827
Sex (male), n (%)	457 (63.3)	210 (63.1)	0.997

Ethnicity (admixed), n (%)	444 (61.5)	167 (50.2)	0.007
BMI, median (IQR)	20.4 (18.3-22.4)	20.3 (18.0-22.9)	0.607
Smoking habits, n (%)	95 (13.2)	78 (23.4)	<0.001
Secondary smoking, n (%)	221 (30.6)	109 (32.7)	0.535
Alcohol use, n (%)	256 (35.5)	144 (43.2)	0.039
Illicit drug use, n (%)	72 (9.97)	46 (13.8)	0.183
Cough, n (%)	673 (93.2)	314 (94.3)	0.596
Fever, n (%)	566 (78.4)	278 (83.5)	0.066
Night sweats, n (%)	446 (61.8)	227 (68.4)	0.045
Weight loss, n (%)	659 (91.5)	307 (93.6)	0.302
Cavitations, n (%)	282 (39.1)	176 (52.9)	<0.001
HIV status, n (%)	21 (4.09)	13 (4.58)	0.888
CD4 count, median (IQR)	111 (58.0-212)	174 (37.0-280)	0.691
Sputum smear microscopy positive, n (%)	542 (75.1)	268 (80.5)	0.063

Close contact Characteristics	QTF negative (n=722)	QTF positive (n=333)	P value
Age (years), median (IQR)	29.4 (13.9-43.7)	35.4 (16.9-50.1)	<0.001
Sex (Female), n (%)	401 (55.5)	221 (66.4)	0.001
Ethnicity (admixed), n (%)	466 (64.5)	189 (56.8)	0.002
BMI, median (IQR)	23.7 (19.3-28.0)	24.9 (20.6-29.7)	0.001
Smoking habits, n (%)	52 (7.20)	38 (11.4)	0.071
Alcohol use, n (%)	233 (32.3)	118 (35.4)	0.587
Illicit drug use, n (%)	16 (2.22)	9 (2.70)	0.884
HIV status, n (%)	7 (1.00)	2 (0.61)	0.336
CD4 count, median (IQR)	400 (218-596)	362 (259-708)	0.896

Table note: The results are presented as median and interquartile range (IQR) or frequency absolute and percentage. Statistical analysis was performed using the Mann-Whitney U test or (continuous variables, two by two) or the Pearson's Chi-Square (χ^2) test (for data on frequency). For both analyses, p was considered significant when <0.05. Bold-type font indicates statistical significance. Abbreviations: BMI: Body Mass Index; HIV: Human Immunodeficiency Virus; IQR: Interquartile Range; QTF: QuantiFERON-TB Gold Plus.

Comparison Xpert®MTB/RIF Ct values of the TB index case to according with QFT-Plus results of close contacts in M0:

Xpert®MTB/RIF Ct values of the TB index cases in M0 were segregated according to the QFT-Plus result (negative or positive group) of close contacts in

M0. Figure 2 showed the comparison Xpert[®]MTB/RIF Ct values in the groups. Note that there is no significant difference in these values, with the exception of probe B (QFT-Plus-: 20.2 [17.6-24.5] x QFT-Plus+: 17.9 [15.8-22.1] p=0.036) and probe D (QFT-Plus-: 20.2 [17.3-24.9] x QFT-Plus+: 19.2 [17.2-23.8] p=0.041), which showed lower Ct values in the QFT-Plus+ group (Figure 2C and 2E).

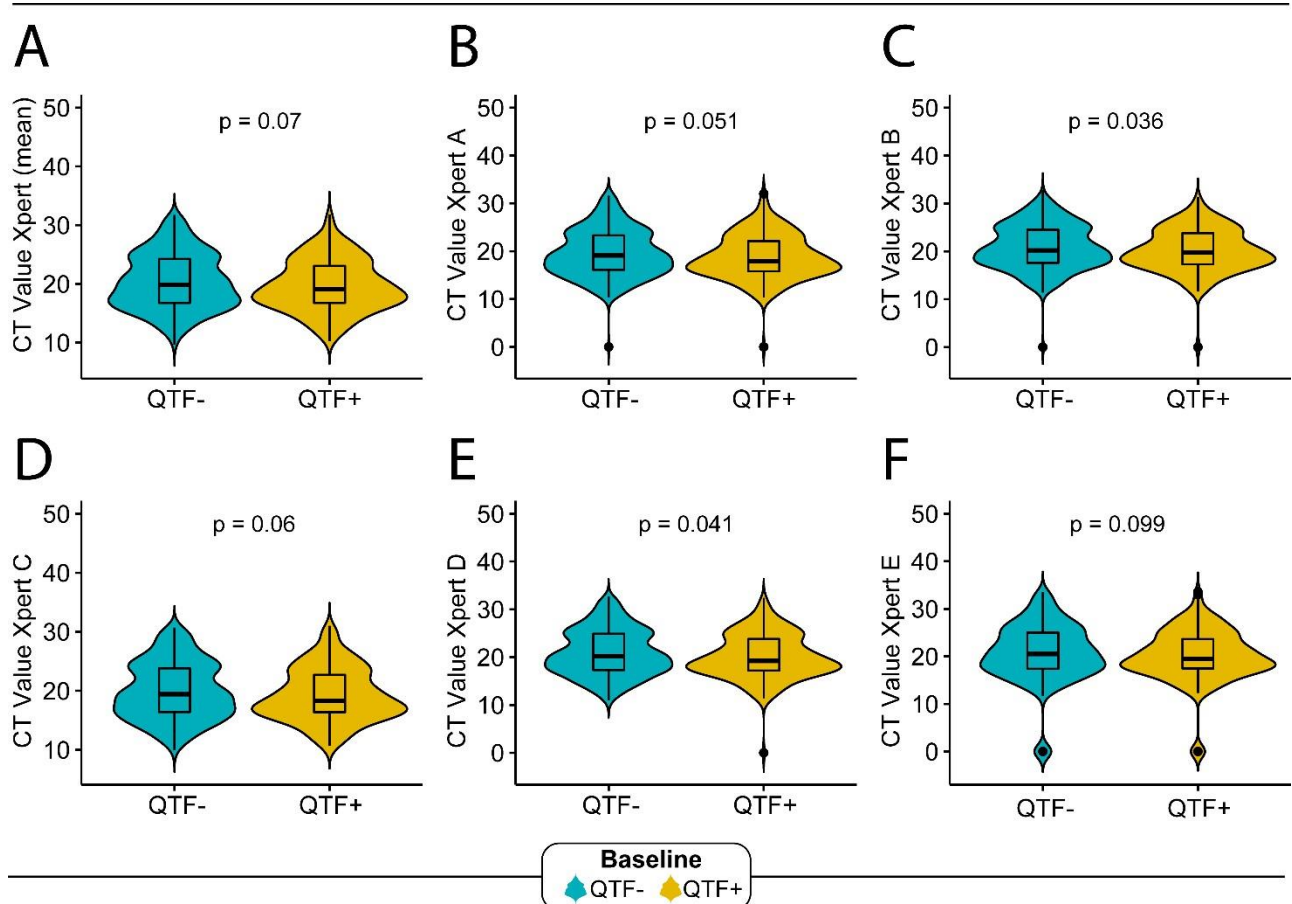


Figure 2. Comparison Xpert[®]MTB/RIF Ct values of the TB index case to according with QFT-Plus result (negative or positive group) of close contacts. **A)** Comparison of mean probes (A, B, C, D and E) of Xpert[®]MTB/RIF Ct values in groups; **B)** Comparison with Probe A of Xpert[®]MTB/RIF Ct values in groups; **C)** Comparison with Probe B of Xpert[®]MTB/RIF Ct values in groups; **D)** Comparison with Probe C of Xpert[®]MTB/RIF Ct values in groups; **E)** Comparison with Probe D of Xpert[®]MTB/RIF Ct values in groups; **F)** Comparison with Probe E of Xpert[®]MTB/RIF Ct values in groups. Statistical analyses were performed using Mann-Whitney U test.

Moth 6 (M6) characteristics of the TB index cases and close contacts

Ethnicity admixed and illicit drugs use were significantly more present in TB index cases of close contacts with QFT-Plus negative (QFT-). However, presence of cavitations was had a significantly higher percentage in the TB index cases of QTF-Plus conversion (Table 2). As for the characteristics of close contacts, only QFT-Plus quantitative values were significantly higher in participants with a QFT-Plus conversion result. Furthermore, the characteristics of TB index cases in M6 are showed in table 2.

Table 2: Characteristics of TB index case and close contacts according to the Moth 6 (M6) QFT-Plus results.

TB index case Characteristics	QTF negative (n=722)	QTF positive (n=333)	P value
Age (years), median (IQR)	34 (25.0-45.0)	34.0 (25.0-45.0)	0.827
Sex (male), n (%)	396 (63.3)	56 (61.5)	0.84
Ethnicity (admixed), n (%)	391 (62.5)	51 (56.0)	0.026
BMI, median (IQR)	20.5 (18.4-22.4)	19.9 (18.0-22.5)	0.528
Smoking habits, n (%)	77 (12.3)	15 (16.5)	0.479
Secondary smoking, n (%)	188 (30.0)	29 (31.9)	0.815
Alcohol use, n (%)	213 (34.0)	41 (45.1)	0.07
Illicit drug use, n (%)	56 (8.95)	15 (16.5)	0.046
Cough, n (%)	580 (92.7)	88 (96.7)	0.227
Fever, n (%)	491 (78.4)	69 (75.8)	0.669
Night sweats, n (%)	385 (61.5)	56 (61.5)	1
Weight loss, n (%)	571 (91.5)	84 (92.3)	0.956
Cavitations, n (%)	227 (36.3)	55 (60.4)	<0.001
CD4 count, median (IQR)	111 (58.0-212)	136 (31.0-162)	0.615
Log10 HIV VL, median (IQR)	5.07 (4.12-5.51)	5.09 (3.94-5.40)	0.904
Sputum smear microscopy positive, n (%)	542 (75.1)	268 (80.5)	0.063
Positive AFB, n (%):	463 (74.0)	76 (83.5)	0.066
Previous AFB positive, n (%):	385 (61.5)	70 (76.9)	0.017
Positive AFB level, n (%): <u>Scanty</u>	95 (20.5)	4 (5.26)	0.001

	1+	161 (34.8)	21 (27.6)	
	2+	89 (19.2)	23 (30.3)	
	3+	118 (25.5)	28 (36.8)	
Close contact Characteristics	QTF negative (n=722)	QTF positive (n=333)	P value	
Age (years), median (IQR):	29.4 (13.5-43.7)	31.6 (17.3-46.0)	0.231	
Sex (Female), n (%):	348 (55.6)	47 (51.6)	0.553	
Ethnicity (admixed), n (%):	399 (63.7)	61 (67.0)	0.554	
BMI, median (IQR):	23.7 (18.9-28.0)	23.7 (20.2-28.3)	0.343	
Smoking habits, n (%):	44 (7.03)	8 (8.79)	0.17	
Alcohol use, n (%):	199 (31.8)	32 (35.2)	0.294	
Illicit drug use, n (%):	13 (2.08)	3 (3.30)	0.604	
HIV status, n (%):	7 (1.15)	0 (0.00)	0.605	
CD4 count, median (IQR):	400 (218-596)	-	-	
Log10 HIV VL, median (IQR):	3.22 (3.22-4.67)	-	-	
Quantitative QFT-Plus*, median (IQR):	0.06 (0.02-0.14)	0.24 (0.04-0.47)	<0.001	

Table note: The results are presented as median and interquartile range (IQR) or frequency absolute and percentage. *Quantitative QFT-Plus was obtained as following, using data from month 6: AgTB1+AgTB2- Nil. Statistical analysis was performed using the Mann-Whitney U test or (continuous variables, two by two) or the Pearson's Chi-Square (χ^2) test (for data on frequency). For both analyses, p was considered significant when <0.05. Bold-type font indicates statistical significance. Abbreviations: AFB: Acid-Fast Bacilli; BMI: Body Mass Index; HIV: Human Immunodeficiency Virus; IQR: Interquartile Range; QTF: QuantiFERON-TB Gold Plus; VL: Viral Load.

Comparison Xpert[®]MTB/RIF Ct values of the TB index case to according with QFT-Plus results of close contacts in M6

Figure 3 presented Xpert[®]MTB/RIF Ct values of the TB index cases in M6 were segregated according to the QFT-Plus result (negative or conversion group) of close contacts in M6. Xpert[®]MTB/RIF Ct values significantly lower are observed in the TB index cases of QTF-Plus conversion close contacts, regardless of whether we use the mean of the probes Xpert[®]MTB/RIF or their isolated values (Figure 3A-F).

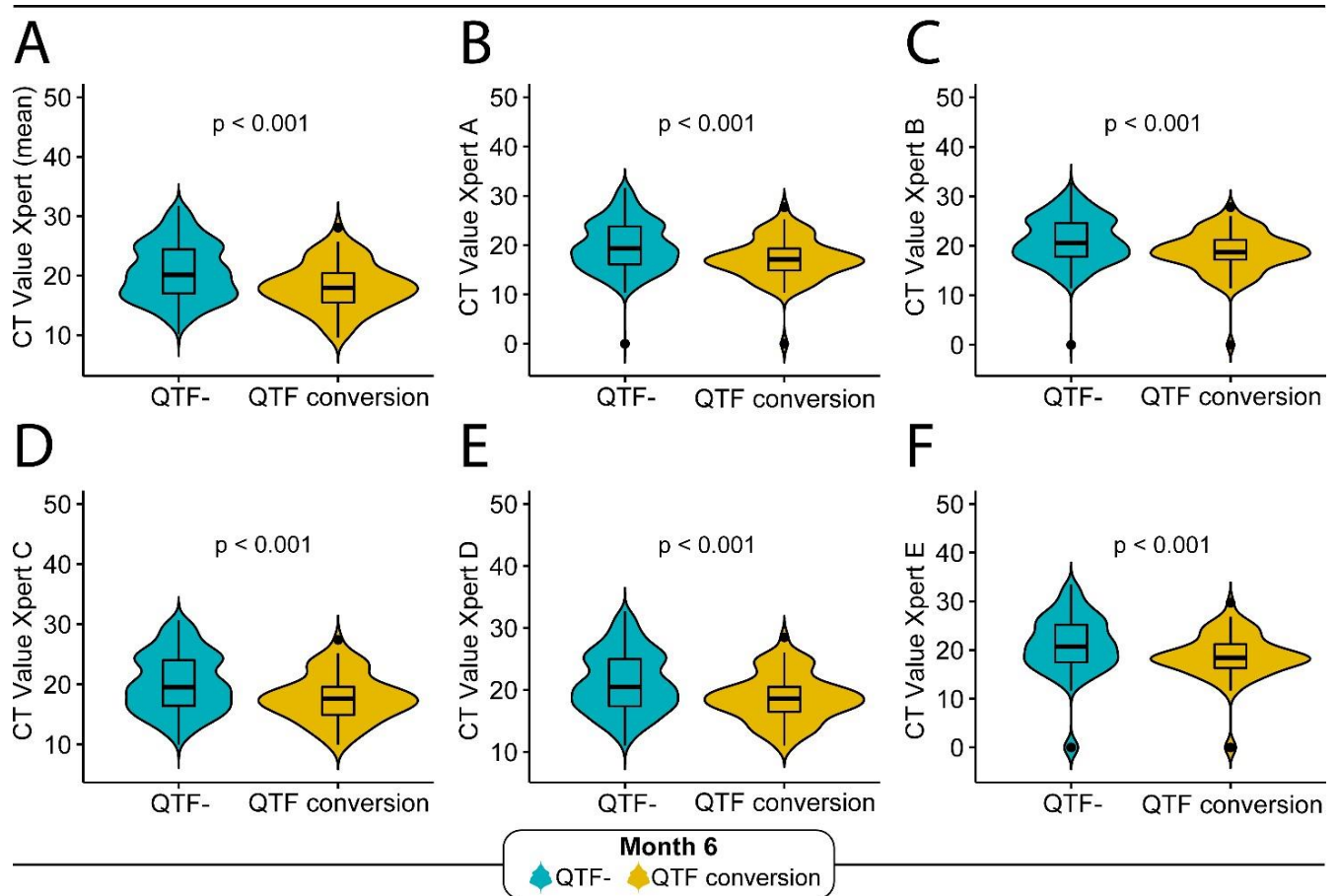


Figure 3. Comparison Xpert®MTB/RIF Ct values of the TB index case to according with QFT-Plus result (negative or positive group) of close contacts at M6. A) Comparison of mean probes (A, B, C, D and E) of Xpert®MTB/RIF Ct values in groups; **B)** Comparison with Probe A of Xpert®MTB/RIF Ct values in groups; **C)** Comparison with Probe B of Xpert®MTB/RIF Ct values in groups; **D)** Comparison with Probe C of Xpert®MTB/RIF Ct values in groups; **E)** Comparison with Probe D of Xpert®MTB/RIF Ct values in groups; **F)** Comparison with Probe E of Xpert®MTB/RIF Ct values in groups. Statistical analyses were performed using Mann-Whitney U test.

Negative correlation between Xpert®MTB/RIF Ct values and quantitative QFT-Plus results

The Spearman correlation analysis was carried out with the aim of knowing the relationship between the Xpert®MTB/RIF Ct values with the Quantitative QFT-Plus values at M6 data. Noteworthy, the determination of the quantitative value of the

QFT-Plus test, the sum of the IFN- γ concentrations of the TB1 and TB2 tubes was performed and later the subtraction of this value by the concentration of the Nil tube (formula: $A_{\text{gTB1}}+A_{\text{gTB2}}-\text{Nil}$). Furthermore, figure 4 summarizes the significantly negative correlation between the Xpert[®]MTB/RIF Ct values of the index cases with Quantitative QFT-Plus values, regardless of whether isolated values from the Xpert[®]MTB/RIF probes (A-E) or their mean were used (Fig4. 4A-4F).

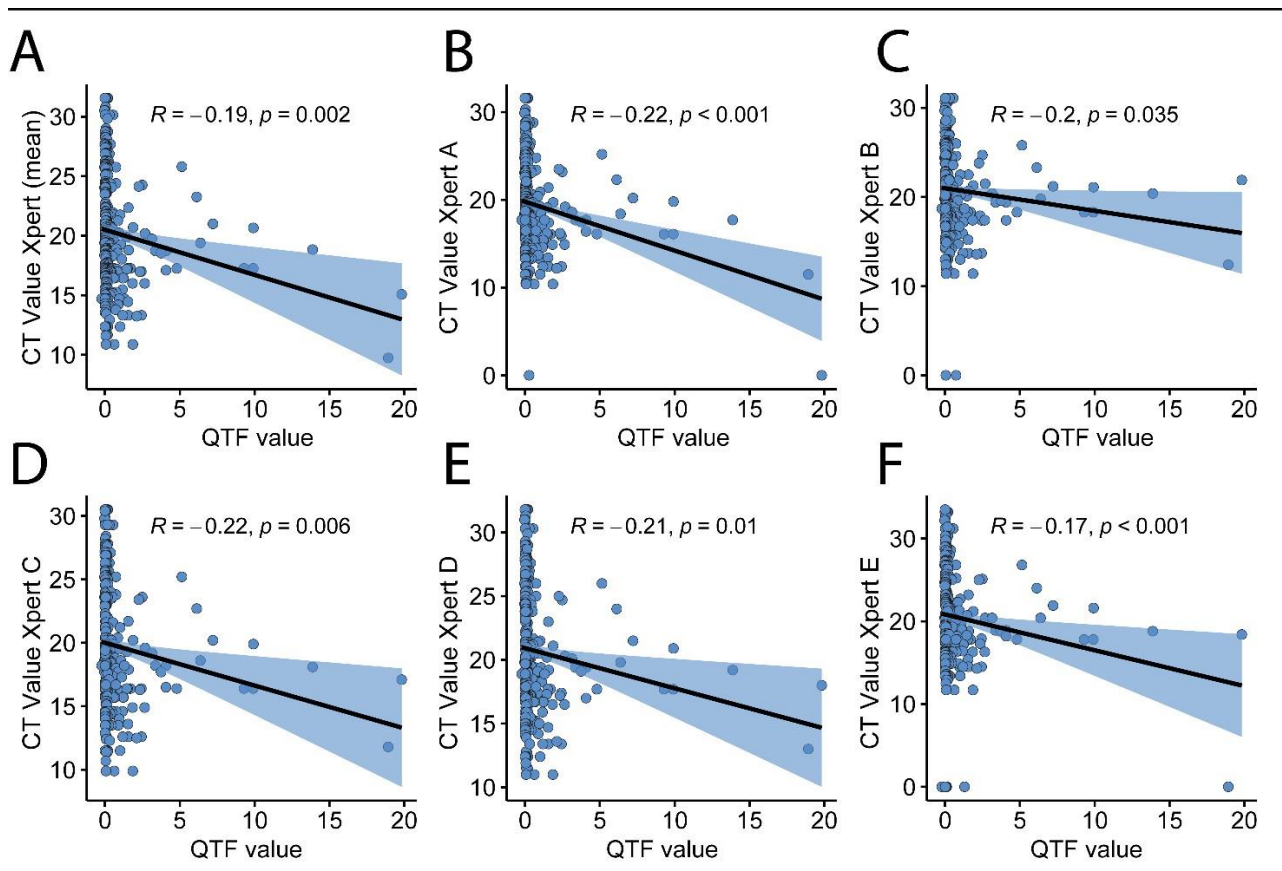


Figure 3. Spearman correlation between Xpert[®]MTB/RIF Ct values of the TB index case with Quantitative QFT-Plus values of close contacts at M6. A) Correlation of Mean probes (A, B, C, D and E) of Xpert[®]MTB/RIF Ct values versus Quantitative QFT-Plus values; **B)** Correlation with probe A of Xpert[®]MTB/RIF Ct values versus Quantitative QFT-Plus values; **C)** Correlation with probe B of Xpert[®]MTB/RIF Ct values versus Quantitative QFT-Plus values; **D)** Correlation with probe C of Xpert[®]MTB/RIF Ct values versus Quantitative QFT-Plus values; **E)** Correlation with probe D of Xpert[®]MTB/RIF Ct values versus Quantitative QFT-Plus values; **F)** Correlation with probe E of Xpert[®]MTB/RIF Ct values

versus Quantitative QFT-Plus values. Statistical analyses were performed using Spearman correlation test.

Xpert MTB/RIF Ct values TB cases have better power to discriminate QFT-Plus conversion close contacts in relation to the QFT-Plus negative results

In order to test the performance of Xpert[®]MTB/RIF Ct values in classifying close contacts to according QFT-Plus results (negative or positive) at M0 and QFT-Plus results (negative and conversion) at M6, we used ROC curve analysis (Figure 5). Using this approach, was identified that the mean probes Xpert[®]MTB/RIF Ct values have better power to discriminate close contacts with QFT-Plus conversion in relation to the QFT-Plus negative (area under the curve [AUC] of 0.999 (CI 95%: 0.997-1,000), presented 47% specificity and 78% sensitivity (Fig. 5B). In addition, similar data, although with a lower power of discrimination, were observed in mean probes Xpert[®]MTB/RIF Ct values at M0 or any timepoint of study (M0+M6 data) Fig. 5A and 5C).

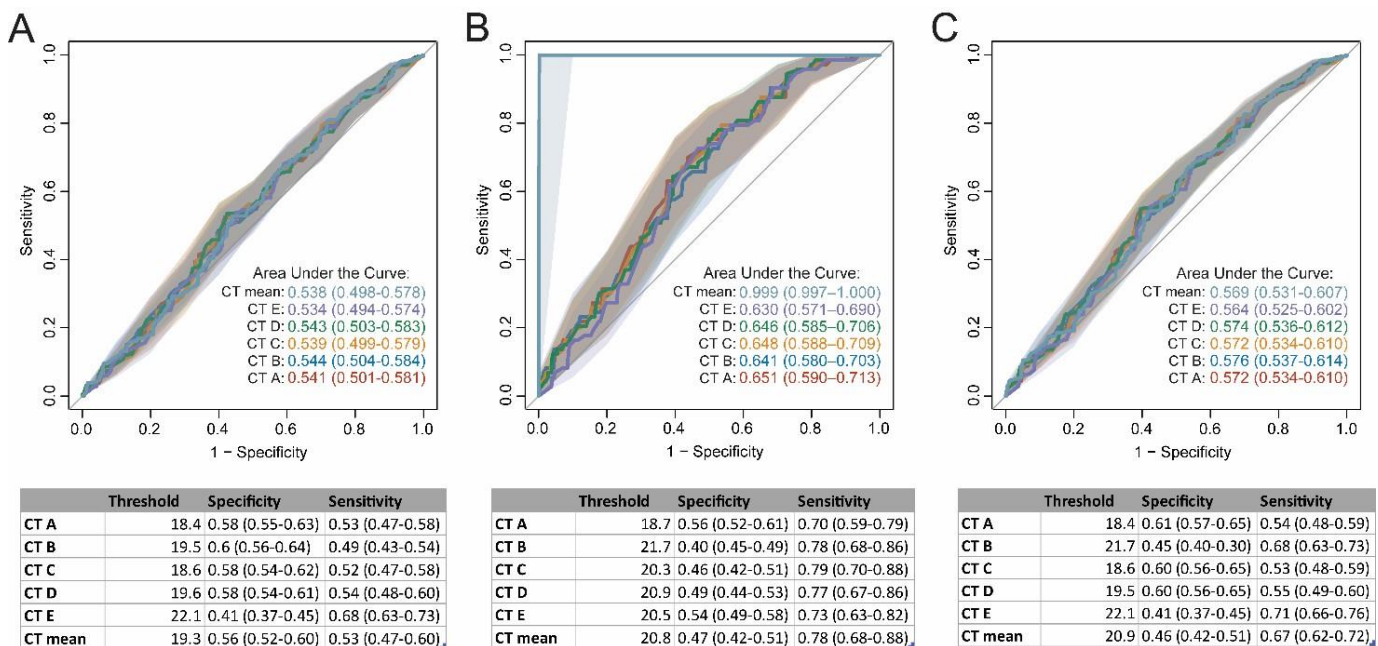


Figure 3. Receiver Operator Characteristics (ROC) curve analysis to evaluate the power of Xpert[®]MTB/RIF Ct values of the TB index case to discriminate QFT-Plus results of close contacts. A) ROC curve analysis to evaluate the power of Xpert[®]MTB/RIF Ct values to discriminate QFT-Plus results at M0; B) ROC curve analysis to evaluate the

power of Xpert[®]MTB/RIF Ct values to discriminate QFT-Plus results at M6; **A)** ROC curve analysis to evaluate the power of Xpert[®]MTB/RIF Ct values to discriminate QFT-Plus results in any timepoint (M0+M6). Statistical analyses were performed using ROC curve test.

Independent association of decreased Xpert MTB/RIF Ct values TB with QFT-Plus conversion in M6

Binomial logistic regression analyses were performed to test independent associations between the Xpert[®]MTB/RIF Ct values of the TB index cases and the QFT-Plus conversion results in close contacts (Figure 6). The results demonstrated that the decrease in Xpert[®]MTB/RIF Ct values was independent associated with the conversion in QFT-Plus results of close contacts at M6 (aOR: 1.61, IQR: 1.12-2.32), regardless of whether mean values from the Xpert[®]MTB/RIF probes or their isolated (A-E) used. In addition, each model was adjusted by the following parameters: age (TB index), sex (TB index), Ethnicity (TB index), illicit drug use (TB index), alcohol use (TB index) and cavitations (TB index), age (contact), sex (contact) and smoking habits (contact),

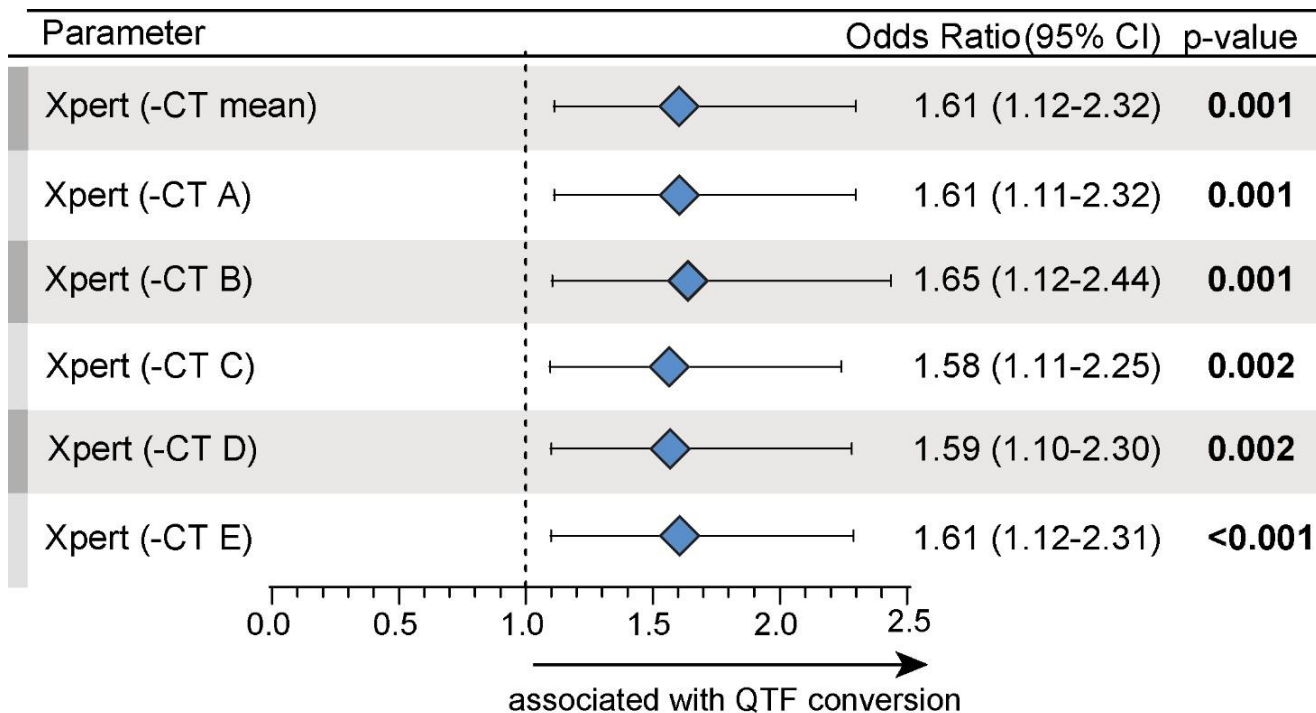


Figure 3. Binomial logistic regression model to evaluated independent associations between Xpert[®]MTB/RIF Ct values of the TB index cases and the QFT-Plus conversion results in close contacts. We performed one logistic model (method “insert”) per Xpert[®]MTB/RIF Ct, using the inverse values to identify if decreased Ct values are associated with QFT-Plus results conversion. Statistical analyses were performed using Binomial logistic regression test.

DISCUSSION

The Xpert CT values have the potential to be used as a point measure in identifying index cases at higher risk of MTB transmission. In this study, patients with active pulmonary tuberculosis who had low CT values transmitted more MTB to their contacts. A decrease of 1 unit in each of the CT's was associated with a higher risk of QTF conversion at month 6. In addition, the 18.7 CT A cutoff of index cases had a higher risk of transmitting TB to their contacts at both M0 and M6 visits.

CT values correlate well with smear grade and moderately with time to positivity in liquid culture. Given the current recommendation to replace the smear with Xpert as the initial diagnostic test for TB and the lack of access to (and delay in obtaining) culture results, Xpert may provide the only means to assess bacillary load [20].

Factors contributing to MTB transmission include intensity and duration of exposure, host susceptibility, discordance between sputum bacillary load, and release of aerosol particles during coughing [21]. Smear microscopy was an important tool used for contact tracing. It was observed that transmission occurred from individuals with higher degrees of sputum smear, on which isolation and contact tracing for positive bacillary cases was based, however, transmission can occur from bacillary negative individuals [22]. Xpert as a more accurate tool in the diagnosis of TB, has the potential to more accurately identify index cases with the highest risk of transmission at the time of diagnosis and to be used as infection control measures.

The time of culture positivity is an important determinant in identifying the risk of transmission and the response to treatment. But the cost is high, there are specialized laboratories, and the result release time can take up to 6 weeks and is used for diagnostic confirmation and not for decision making to start treatment and investigation of contacts [20].

The variables of female sex index, mixed race, body mass index, smoking habit, alcohol consumption, night sweats, in the index case, with illicit drug use, HIV positive status, positive smear and presence of cavitation were significantly associated the transmission of the Mtb to the contacts. Other studies have shown the sensitivity of any specific cut-off value of mean CT varied by HIV status, with less sensitivity for HIV-positive individuals. This may be due to the lower bacillary load in HIV-positive individuals, reflected by higher smear negativity rates and higher mean CT values and culture positivity time [23].

In conclusion, our results demonstrate that lower Xpert Ct values of index cases are associated with IGRA conversion in close contacts at month 6. This study raises the

possibility that Xpert Ct values could be used to identify patients at higher risk of transmission and can be useful in organizing and prioritizing contact investigation.

Acknowledgments

The authors thank the study participants. We also thank the teams of clinical and laboratory platforms of RePORT-Brazil. A special thanks to Elze Leite (FIOCRUZ, Salvador, Brazil), Eduardo Gama (FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil), Elcimar Junior (FMT-HVD, Manaus, Brazil), and Hilary Vansell (VUMC, Nashville, USA) for administrative and logistical support.

Contributors:

@@@, @@@ and @@@ established the initial conception and wrote this manuscript. @@@, @@@, @@@@ and @@@ collected, analyzed and reviewed the data. @@@, @@@ and @@@ analyzed data and designed the illustrations and tables. @@@, @@@ and @@@@ supervised the project development, interpreted the data, and reviewed this manuscript. All authors read, discussed the general outline of the article together and approved the final manuscript.

Funding

The study was supported by the Intramural Research Program of the Fundação Oswaldo Cruz (BBA), Intramural Research Program of the Fundação José Silveira (BBA and MSR), Departamento de Ciência e Tecnologia (DECIT) - Secretaria de Ciência e Tecnologia (SCTIE) – Ministério da Saúde (MS), Brazil [25029.000507/2013-07 to VCR] and the National Institutes of Allergy and Infectious Diseases [U01-AI069923 to TRS, ABS, GA, BMFN, ATLQ, MCF, MSR, AB, ASRM, JGO, VCR, BD, JRLS, ALK, SC, TRS, BBA, and MCS]. LGS and MAP received a fellowship from Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Finance code: 001). AGC is research fellow from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) (PRODOC Program #003/2022). VCR AK and

BBA are senior investigators and fellow from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brazil.

Competing interests

The funders of the study had no role in study design, data analysis, data interpretation, or writing of the report. All authors had access to all the data in the study and had final responsibility for the decision to submit for publication.

Ethics approval

The protocol, informed consent, and study documents were approved by the institutional review boards at all study sites. Participation was voluntary and written informed consent was obtained from all participants or their legally responsible guardians, and all clinical investigations were conducted according to the principles expressed in the Declaration of Helsinki.

Contributors: Participating Investigators in RePORT Brazil Consortium

The RePORT Brazil Consortium consists of 12 partner institutions from Brazil represented by the following members: Amanda Araújo da Costa (A.A. Costa), Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil; André Luiz Bezerra (A.L. Bezerra), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; Anna Cristina Calçada Carvalho (A.C.C Carvalho), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioprodutos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil; Anna Karla Silveira (A.K. Silveira), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; Betânia M. F. Nogueira (B.M.F. Nogueira), Instituto Brasileiro para Investigação da Tuberculose, Fundação José Silveira, Salvador, Brazil, Multinational Organization Network Sponsoring Translational and Epidemiological Research (MONSTER) Initiative, Salvador, Brazil, Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brazil; Bruna da Costa Oliveira Lima (B.C.O. Lima), Instituto de Pesquisa Clínica

Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil; Bruna Pires de Loiola (B.P. Loiola), Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil; Carolina Arana Schmaltz Stanis (C.A. Schmaltz), Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil; Eline Naiane de Freitas Medeiros (E.N.F. Medeiros), Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil; Francine Peixoto Ignácio (F.P. Ignácio), Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil; Hayna Malta Santos (H.M. Santos), Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brazil, Laboratório de Inflamação e Biomarcadores, Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Brazil; Jéssica Rebouças Silva (J.R. Silva), Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brazil, Laboratório de Inflamação e Biomarcadores, Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Brazil; João Marine Neto (J.M. Neto), Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro - SMS-RJ - Rio de Janeiro, Brazil, Hospital Federal do Andaraí - Ministério da Saúde, Brazil; Leandro Sousa Garcia (L.S. Garcia), Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil; Maria Luciana Silva-Freitas (M.L. Silva-Freitas), Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ; Mayla Gabriele Miranda de Melo (M.G.M. Melo), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; Rosa Maria Placido-Pereira (R.S. Placido-Pereira), Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ; Samyra Almeida-Da-Silveira (S. Almeida-Da-Silveira), Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ; Vanessa de Souza Nascimento (V.S. Nascimento), Instituto Brasileiro para Investigação da Tuberculose, Fundação José Silveira, Salvador, Brazil; 5. Multinational Organization Network Sponsoring Translational and Epidemiological Research (MONSTER) Initiative, Salvador, Brazil, Bahiana School of Medicine and Public Health, Bahia Foundation for the Development of

Sciences, Salvador, Brazil.

Referências

1. Houben RMGJ, Dodd PJ. The Global Burden of Latent Tuberculosis Infection: A Re-estimation Using Mathematical Modelling. *PLoS Med* **2016**; 13:1–13.
2. Vynnycky E, Fine PEM. Lifetime risks, incubation period, and serial interval of tuberculosis. *Am J Epidemiol* **2000**; 152:247–263.
3. Getahun H, Matteelli A, Chaisson RE, Raviglione M. Latent Mycobacterium tuberculosis Infection . *New England Journal of Medicine* **2015**; 372:2127–2135.
4. Organization WH. Global tuberculosis report 2021. Geneva: World Health Organization. 2021.
5. Souza AB, Arriaga MB, Amorim G, et al. Determinants of losses in the latent tuberculosis infection cascade of care in Brazil. *BMJ Glob Health* **2021**; 6.
6. World Health Organization (WHO). Latent tuberculosis infection. Geneva: 2018.
7. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico de Tuberculose. Brasília: ISSN: 9352-78642, 2022.
8. Costa AG, S Carvalho BK, Araújo-Pereira M, et al. Lessons Learned from Implementation of an Interferon Gamma Release Assay to Screen for Latent Tuberculosis Infection in a Large Multicenter Observational Cohort Study in Brazil RePORT-Brazil Consortium. 2021. Available at: <https://journals.asm.org/journal/spectrum>.
9. Brasil. Manual de recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil. 2019.
10. Lange B, Khan P, Kalmambetova G, et al. Diagnostic accuracy of the Xpert® MTB/RIF cycle threshold level to predict smear positivity: A meta-analysis. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* **2017**; 21:493–502.
11. Lohmann EM, Koster BFPJ, Le Cessie S, Kamst-van Agterveld MP, Van Soolingen D, Arend SM. Grading of a positive sputum smear and the risk of Mycobacterium tuberculosis transmission. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* **2012**; 16:1477–1484.
12. World Health Organization (WHO). Policy Statement: Automated real-time Nucleic Acid Amplification Technology for Rapid and Simultaneous Detection of Tuberculosis and Rifampicin Resistance: Xpert MTB/RIF System. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2011. [accessed 28 Nov 2020]. *World Health* **2011**; :1–35.
13. Najjingo I, Muttamba W, Kirenga BJ, et al. Comparison of GeneXpert cycle threshold values with smear microscopy and culture as a measure of mycobacterial burden in five regional referral hospitals of Uganda- A cross-sectional study. *PLoS One* **2019**; 14:1–11.
14. Melsew YA, Doan TN, Gambhir M, Cheng AC, McBryde E, Trauer JM. Risk factors for infectiousness of patients with tuberculosis: A systematic review and meta-analysis. *Epidemiol Infect* **2018**; 146:345–353.

15. Hanrahan CF, Theron G, Bassett J, et al. Xpert MTB/RIF as a measure of sputum bacillary burden: Variation by HIV status and immunosuppression. *Am J Respir Crit Care Med* **2014**; 189:1426–1434.
16. Blakemore R, Nabeta P, Davidow AL, et al. A multisite assessment of the quantitative capabilities of the Xpert MTB/RIF assay. *Am J Respir Crit Care Med* **2011**; 184:1076–1084.
17. Mycobacteriology Laboratory Manual. First edit. Stop TB Partnership, 2014.
18. World Health Organization. Manual de Biossegurança para Laboratórios da Tuberculose. **2014**; :1–56.
19. QIAGEN. QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-plus) ELISA package insert. Germantown, USA. 2017. Available at: <https://www.quantiferon.com/wp-content/uploads/2017/10/QFT-plus-ELISA-IFU-L1095849-R02.pdf> Accessed on 08/03/2019
20. Heifets L. Mycobacteriology laboratory manual. *Clin Chest Med* **1997**; 18:35–53.
21. Jones-López EC, Namugga O, Mumbowa F, et al. Cough aerosols of *Mycobacterium tuberculosis* predict new infection: A household contact study. *Am J Respir Crit Care Med* **2013**; 187:1007–1015.
22. Hernández-Garduño E, Cook V, Kunitomo D, Elwood RK, Black WA, FitzGerald JM. Transmission of tuberculosis from smear negative patients: A molecular epidemiology study. *Thorax* **2004**; 59:286–290.
23. Beynon F, Theron G, Respeito D, et al. Correlation of Xpert MTB/RIF with measures to assess *Mycobacterium tuberculosis* bacillary burden in high HIV burden areas of Southern Africa. *Sci Rep* **2018**; 8:1–10.

4 LIMITAÇÕES DA PESQUISA E PERSPECTIVAS

Este estudo teve algumas limitações. Os casos índices de TB foram inscritos em um estudo realizado em centros de referência, sob condições de pesquisa e os resultados do Xpert® MTB/RIF foram provenientes de amostra de escarro provenientes da rotina. Os contatos eram de casos de TB confirmados por cultura que, também, se inscreveram no estudo de coorte RePORT-Brasil. Embora a coorte de casos de TB do RePORT-Brasil seja representativa de todos os pacientes com TB no Brasil, não está claro se os contatos próximos são representativos de todos os contatos próximos no Brasil (47).

Entretanto, apesar das limitações, apontamos que este estudo é pioneiro e realizado em regiões de alta incidência e prevalência de TB, o que poderiam contar com essa metodologia para organizar o rastreamento de contatos com alto risco de apresentarem ILTB. Outros estudos para avaliar o desempenho e comportamento poderia fortalecer os resultados. Assim como, estudos avaliando a correlação dos valores de CT com a conversão de ILTB para TB ativa.

5 CONCLUSÃO

Em conclusão, nossos resultados demonstram que valores mais baixos de Xpert® MTB/RIF Ct de casos-índice estão associados à conversão de IGRA em contatos próximos no mês 6. Este estudo levanta a possibilidade de que os valores de Xpert® MTB/RIF Ct possam ser usados para identificar pacientes com maior risco de transmissão e podem ser úteis na organização e priorização da investigação de contatos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Geneva: World Health Organization. Global tuberculosis report 2022. Geneva; 2022.
2. Larson BN. The World ' s Biggest Infectious Killer Regains Its Deadly Lead ' Major setback ' ' Game-changer ' . 2022;(October):9–11.
3. WHO. The End TB Strategy. J Chem Inf Model. 2013;53(9):1689–99.
4. Epidemiológica BM da SS de V em SD de V. Boletim Epidemiológico [Internet]. 2022. Available at: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2022/boletim-epidemiologico-de-tuberculose-2022>
5. Christof C, Nußbaumer-Streit B, Gartlehner G. WHO Guidelines on Tuberculosis Infection Prevention and Control. Vol. 82, Gesundheitswesen. 2019. 885–889 p.
6. Geneva: World Health Organization. WHO Global tuberculosis report. Geneva; 2021.
7. O'Garra A, Redford PS, McNab FW, Bloom CI, Wilkinson RJ, Berry MPR. The Immune Response in Tuberculosis. Vol. 31, Annual Review of Immunology. 2013. 475–527 p.
8. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil 2 ed [Internet]. 2019. Available at: www.saude.gov.br/
9. S. Campos H. Etiopatogenia da tuberculose e formas clínicas. Pulmão RJ [Internet]. 2006;15(1):29–35. Available at: <http://www.saudedireta.com.br/docsupload/13404591932.pdf>
10. Jones-López EC, Namugga O, Mumbowa F, Ssebidandi M, Mbabazi O, Moine S, et al. Cough aerosols of Mycobacterium tuberculosis predict new

- infection: A household contact study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;187(9):1007–15.
11. Organization WH. Global tuberculosis report 2021. Geneva: World Health Organization. 2021.
 12. Mathema B, Andrews JR, Cohen T, Borgdorff MW, Behr M, Glynn JR, et al. Drivers of Tuberculosis Transmission. *J Infect Dis*. 2017;216(Suppl 6):S644–53.
 13. Churchyard G, Kim P, Shah NS, Rustomjee R, Gandhi N, Mathema B, et al. What We Know About Tuberculosis Transmission : An Overview. 2017;216(Suppl 6):629–35.
 14. Kaplan G, Post FA, Moreira AL, Wainwright H, Kreiswirth BN, Tanverdi M, et al. Mycobacterium tuberculosis Growth at the Cavity Surface: *Infect Immun*. 2003;71(12):7099–108.
 15. Wood R, Morrow C, Barry CE, Bryden WA, Call CJ, Hickey AJ, et al. Real-time investigation of tuberculosis transmission: Developing the respiratory aerosol sampling chamber (RASC). *PLoS One*. 2016;11(1):1–16.
 16. Brasil. Ministério da Saúde. Manual de recomendação para o Controle da Tuberculose no Brasil. 2018. 25–363 p.
 17. Bansal R, Sharma D, Singh R. Tuberculosis and its Treatment: An Overview. *Mini-Reviews Med Chem*. 2016;18(1):58–71.
 18. Ministério da Saúde; Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de recomendação para o controle da tuberculose no Brasil. 2019;14(2):248–50.
 19. Yeh JJ, Chen SCC, Teng WB, Chou CH, Hsieh SP, Lee TL, et al. Identifying

- the most infectious lesions in pulmonary tuberculosis by high-resolution multi-detector computed tomography. *Eur Radiol.* 2010;20(9):2135–45.
20. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. Manual de Recomendações para o Diagnóstico Laboratorial de Tuberculose e Micobactérias não Tuberculosas de Interesse em Saúde Pública no Brasil. Brasília; 2022.
 21. Lawn SD, Kerkhoff AD, Vogt M, Ghebrekristos Y, Whitelaw A, Wood R. Characteristics and early outcomes of patients with xpert MTB/RIF-negative pulmonary tuberculosis diagnosed during screening before antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis.* 2012;54(8):1071–9.
 22. Carvalho ACC, Cardoso CAA, Martire TM, Migliori GB, Sant’Anna CC. Aspectos epidemiológicos, manifestações clínicas e prevenção da tuberculose pediátrica sob a perspectiva da Estratégia End TB. *J Bras Pneumol [Internet]*. 2018;44(2):134–44. Available at: <http://www.scielo.br/j/jbpneu/a/PCjrjFqDgXySNZC7CfJXWrz/abstract/?lang=pt>
 23. Kudoh-pnb-ml-frasco-cx O. Meio de ogawa-kudoh. 2019;1–4.
 24. BD. BD BACTEC MGIT 960 SIRE Kit: Para o Teste da Sensibilidade Anti-micobacteriana do *Mycobacterium tuberculosis*. 2019;(04):1–6. Available at: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=18306>
 25. World Health Organization. Roadmap for rolling out Xpert MTB/RIF for rapid diagnosis of TB and MDR-TB. World Heal Organ Geneva, Switzerland http://www.who.int/tb/laboratory/roadmap_xpert_mtb-rif.pdf. 2010;(December):1–12.
 26. Steingart KR, Schiller I, Horne DJ, Pai M, Boehme CC, Dendukuri N. Xpert® MTB / RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in

- adults (Review) Xpert ® MTB / RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Libr.* 2014;(1):1–3.
27. WHO. Automated Real-Time Nucleic Acid Amplification Technology for Rapid and Simultaneous Detection of Tuberculosis and Rifampicin Resistance: Xpert MTB/RIF Assay for the Diagnosis of Pulmonary and Extrapulmonary TB in Adults and Children: Policy update. *World Heal Organ [Internet]*. 2013;1–79. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25473701>
 28. Durovni B, Saraceni V, van den Hof S, Trajman A, Cordeiro-Santos M, Cavalcante S, et al. Impact of Replacing Smear Microscopy with Xpert MTB/RIF for Diagnosing Tuberculosis in Brazil: A Stepped-Wedge Cluster-Randomized Trial. *PLoS Med.* 2014;11(12).
 29. World Health Organization. Meeting Report of a Technical Expert Consultation : Non-inferiority analysis of Xpert MTB / RIF Ultra compared to Xpert MTB / RIF. 2017;1–11. Available at: <http://apps.who.int/bookorders>.
 30. Ministério da Saúde. Implantação do Plano Nacional pelo Fim da Tuberculose como Problema de Saúde Pública no Brasil: primeiros passos rumo ao alcance das metas. *Bol Epidemiológico* 11. 2018;49(11):18.
 31. Najjingo I, Muttamba W, Kirenga BJ, Nalunjogi J, Bakesiima R, Olweny F, et al. Comparison of GeneXpert cycle threshold values with smear microscopy and culture as a measure of mycobacterial burden in five regional referral hospitals of Uganda- A cross-sectional study. *PLoS One.* 2019;14(5):1–11.
 32. Melsew YA, Doan TN, Gambhir M, Cheng AC, McBryde E, Trauer JM. Risk factors for infectiousness of patients with tuberculosis: A systematic review and meta-analysis. *Epidemiol Infect.* 2018;146(3):345–53.
 33. Hanrahan CF, Theron G, Bassett J, Dheda K, Scott L, Stevens W, et al. Xpert MTB/RIF as a measure of sputum bacillary burden: Variation by HIV

- status and immunosuppression. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;189(11):1426–34.
34. Vassall A, van Kampen S, Sohn H, Michael JS, John KR, den Boon S, et al. Rapid diagnosis of tuberculosis with the Xpert MTB/RIF assay in high burden countries: A cost-effectiveness analysis. *PLoS Med*. 2011;8(11).
 35. Choi HW, Miele K, Dowdy D SM. Cost-effectiveness of Xpert® MTB/RIF for diagnosing pulmonary tuberculosis in the United States. *Am J Nurs*. 2013;105(7):85–6.
 36. O'Garra A, Redford PS, McNab FW, Bloom CI, Wilkinson RJ, Berry MPR. The immune response in tuberculosis. Vol. 31, *Annual Review of Immunology*. 2013. 475–527 p.
 37. Lighter J, Rigaud M, Eduardo R, Peng CH PH. Latent tuberculosis diagnosis in children by using the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test. *Pediatrics*. 2009;123:30–7.
 38. Teixeira HC, Abramo C, Munk ME. Diagnóstico imunológico da tuberculose: Problemas e estratégias para o sucesso. *J Bras Pneumol*. 2007;33(3):323–34.
 39. Theel ES, Hilgart H, Breen-Lyles M, McCoy K, Flury R, Breeher LE, et al. Comparison of the QuantiFERON-TB gold plus and QuantiFERON-TB gold in-tube interferon gamma release assays in patients at risk for tuberculosis and in health care workers. *J Clin Microbiol*. 2018;
 40. Gmbh Q. QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Package Insert Rev. 04. Qiagen [Internet]. 2016;96(622120):1–48. Available at: <https://www.quantiferon.com/wp-content/uploads/2020/01/L1083163-R06-QF-TB-Gold-Plus-ELISA-IFU-CE.pdf>
 41. Adekambi T, Ibegbu CC, Kalokhe AS, Yu T, Ray SM, Rengarajan J. Distinct effector memory CD4 + T cell signatures in latent Mycobacterium

tuberculosis infection, BCG vaccination and clinically resolved tuberculosis. *PLoS One*. 2012;7(4).

42. Inc C. Clinicians guide to QuantiFERON-TB. 2001.
43. Person AK, Pettit AC, Sterling TR. Diagnosis and treatment of latent tuberculosis infection: an update. *Curr Respir Care Rep*. 2013;2(4):199–207.
44. Chiacchio T, Petruccioli E, Vanini V, Cuzzi G, Pinnetti C, Sampaolesi A, et al. Polyfunctional T-cells and effector memory phenotype are associated with active TB in HIV-infected patients. *J Infect [Internet]*. 2014;69(6):533–45. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2014.06.009>
45. Brookes RH, Pathan AA, McShane H, Hensmann M, Price DA, Hill AVS. CD8+ T cell-mediated suppression of intracellular *Mycobacterium tuberculosis* growth in activated human macrophages. *Eur J Immunol*. 2003;33(12):3293–302.
46. Cailleaux-cezar M. Diagnóstico e Tratamento da Tuberculose Latente. 21(1):41–5.
47. Arriaga MB, Amorim G, Queiroz ATL, Rodrigues MMS, Araújo-Pereira M, Nogueira BMF, et al. Novel stepwise approach to assess representativeness of a large multicenter observational cohort of tuberculosis patients: The example of RePORT Brazil. *Int J Infect Dis*. 2021;103:110–8.

7 ANEXO

1. Parecer de aprovação

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Pesquisa Regional Prospectiva e Observacional em Tuberculose no Brasil (RePORT-Brasil)

Pesquisador: Marcelo Cordeiro dos Santos

Área Temática:

Versão: 14

CAAE: 25102414.3.2004.0005

Instituição Proponente: Fundação de Medicina Tropical do Amazonas - FMT/IMT/AM

Patrocinador Principal: Ministério da Saúde
National Institute of Allergy and Infectious Diseases

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.606.213

Apresentação do Projeto:

Trata-se da Emenda 13 de 11jul2022 e os termos de consentimento e assentimento da coorte A devidamente adequados, para permitir o o armazenamento de amostras biológicas extrapulmonares.

O protocolo ajustado e os respectivos TCLEs e TALE indicam que "se o participante tiver suspeita de TB extrapulmonar e algum procedimento para diagnóstico for realizado no local dessa TB (por exemplo: biópsia de gânglio, coleta de aspirado ganglionar, coleta de líquido por punção lombar), nós iremos tentar armazenar alguma sobra deste material após os procedimentos da rotina. Nenhuma coleta de material extrapulmonar será realizada exclusivamente para o estudo."

Portanto, nenhum procedimento adicional será realizado nos participantes da pesquisa. O armazenamento proposto se destina a compor um biorrepositório conforme descrito no protocolo original.

Objetivo da Pesquisa:

sem alterações.

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25
Bairro: D. Pedro I **CEP:** 69.040-000
UF: AM **Município:** MANAUS
Telefone: (92)2127-3572 **Fax:** (92)2127-3572 **E-mail:** cep@fmt.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 5.606.213

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

sem alterações.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Vide abaixo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Lista dos documentos enviados:

Report_Protocolo_Emenda13_11jul22_limpo

Report_Protocolo_Emenda13_11jul22_controlado

E os termos de consentimento/assentimento listados abaixo:

1. 1_Report_TCLE_CoorteA_V11_11jul22_limpo_FMT
2. 1_Report_TCLE_CoorteA_V11_11jul22_controlado_FMT
3. 2_Report_TCLE_CoorteA_V9_Responsaveis_11jul22_limpo_FMT
4. 2_Report_TCLE_CoorteA_V9_Responsaveis_11jul22_controlado_FMT
5. 3_Report_TALE_CoorteA_V8_Assentimento_6_17_anos_11jul22_limpo_FMT
6. 3_Report_TALE_CoorteA_V8_Assentimento_6_17_anos_11jul22_controlado_FMT

Os termos apresentados estão de acordo para as modificações propostas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto acima sou de parecer favorável à APROVAÇÃO da referida emenda, salvo melhor juízo.

Considerações Finais a critério do CEP:

A presente Notificação do Centro Participante – 11, Versão 14 está APROVADA e os interessados ficam informados de dar continuidade em apresentar a este CEP os relatórios parciais e final do estudo, conforme prevê a Resolução CNS nº 466/2012, utilizando o formulário de Roteiro para Relatório Parcial/Final de estudos clínicos Unicêntricos e Multicêntricos, proposto pela CONEP em nossa home page.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1995154_E12.pdf	22/08/2022 13:12:31		Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto_Report_fase_2_assinad	22/08/2022	Alexandra Brito de	Aceito

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fmt.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 5.606.213

Folha de Rosto	o.pdf	13:11:43	Souza	Aceito
Outros	Report_Carta_Encaminhamento_Emenda_13_11jul2022_FMT.pdf	22/08/2022 13:10:21	Alexandra Brito de Souza	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	3_Report_TALE_CoorteA_V8_Assentimento_6_17_anos_11jul2022_limpo_FMT.docx	22/08/2022 13:10:01	Alexandra Brito de Souza	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	3_Report_TALE_CoorteA_V8_Assentimento_6_17_anos_11jul2022_controlado_FMT.docx	22/08/2022 13:09:53	Alexandra Brito de Souza	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	2_Report_TCLE_CoorteA_V9_Resposaveis_11jul2022_limpo_FMT.docx	22/08/2022 13:09:43	Alexandra Brito de Souza	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	2_Report_TCLE_CoorteA_V9_Resposaveis_11jul2022_controlado_FMT.docx	22/08/2022 13:09:35	Alexandra Brito de Souza	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	1_Report_TCLE_CoorteA_V11_11jul2022_limpo_FMT.doc	22/08/2022 13:09:27	Alexandra Brito de Souza	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	1_Report_TCLE_CoorteA_V11_11jul2022_controlada_FMT.doc	22/08/2022 13:09:18	Alexandra Brito de Souza	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Report_Protocolo_Emenda13_11jul22_limpo.docx	22/08/2022 13:06:39	Alexandra Brito de Souza	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Report_Protocolo_Emenda13_11jul22_limpo.pdf	11/07/2022 13:06:08	Aline Benjamin	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Report_Protocolo_Emenda13_11jul22_controlado.docx	11/07/2022 13:04:27	Aline Benjamin	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fmt.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 5.606.213

MANAUS, 26 de Agosto de 2022

Assinado por:
Marilaine Martins
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fmt.am.gov.br

1. Concept Sheet para plataforma RePORT-Brazil



Concept Sheet to Perform a Study or Analysis in RePORT-Brazil

Title		Association of Xpert MTB/RIF Ct values and <i>Mycobacterium tuberculosis</i> transmission to close contacts of patients with pulmonary tuberculosis
Submission date		05 / 08 / 2021
Proposing investigators/affiliation	Leandro Sousa Garcia ^{1,3} Alexandra Brito de Souza ^{1,3} Renata Spener-Gomes ^{2,3} Allyson Guimarães Costa ^{2,3} Marcelo Cordeiro-Santos ^{1,3}	1. Universidade do Estado do Amazonas. 2. Universidade Federal do Amazonas. 3. Fundação de Medicina Tropical Heitor Vieira Dourado
Collaborating investigators/affiliation	Bruno Andrade ² Betina Durovni ³ Solange Calvacante ³ Timothy Sterling ⁴ Valeria Rolla ⁵	1. Universidade Federal do Rio de Janeiro 2. Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz 3. Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro 4. Vanderbilt University School of Medicine 5. Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz

Statistician(s)		Leandro Sousa Garcia, Allyson Guimarães and MONSTER team
Data manager		Marina Figueiredo and Megan Turner
Will specimens from the biorepository be needed? If so, which specimens?		No
Who will perform the statistical analysis?		Leandro Sousa Garcia, Allyson Guimarães and MONSTER team
Background/study rationale Please describe importance of study question as it relates to TB research and RePORT Brazil. Cite relevant literature. Include background information to support the proposed study and other studies conducted in the field that address the proposed hypothesis. Explain how this study will substantively contribute to, or differ from, the existing literature.		<p>The infectivity of a pulmonary TB patient is directly related to the number of droplet nuclei containing <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (Mtb) that are expelled into the air. The relation between smear status and bacillary load as a marker of infectiousness is used to guide public health and treatment decisions. However, smear status provides an inaccurate estimate of the bacillary charge. The Xpert[®]MTB/RIF rapid molecular test (Cepheid), recommended by the World Health Organization (WHO) since 2010 as an initial test for diagnosing TB, provides quantitative results of Mtb in the form of cycle threshold values (Ct). This information can be translated into mycobacterial load and can be used as a point measure for cases of active tuberculosis, infection control and contact tracking^{1,2}.</p> <p>From the result of Ct values, the Xpert machine categorized into: Very low (>28 cycles), Low (23-28 cycles), Medium (16-22 cycles) and high (<16 cycles) cycles^{1,3}.</p>

		<p>Although host-related factors such as HIV status and gender influence Ct values, recently, it has been described that there is a correlation between the Ct value of the Xpert® test and the time of culture positivity and semiquantitative result of sputum smear microscopy^{4,5}. However, the correlation between Ct values and infectivity of patients with active pulmonary TB has not yet been demonstrated.</p>			
<p>Objectives/hypotheses.</p> <p>Please be specific. Include primary and secondary objectives and endpoints/outcomes. Use the PICOT* framework to help define your research question/hypothesis. *see below for more details</p>	<p><u>Primary objective:</u></p> <p>- To investigate the association of Ct values and transmission of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> in contacts of active pulmonary TB</p>	<p><u>Secondary objective:</u></p> <p>- To evaluate the correlation of delta Ct values of the Xpert® test and QuantiFERON-Plus positivity of contacts at baseline.</p> <p>- To analyze the association between delta Ct values of the Xpert® test and QTF conversion in the sixth month of follow-up</p> <p><u>Hypotheses:</u></p> <p>- Close contacts exposed to index cases with lower delta Ct have a higher risk of becoming infected by <i>Mycobacterium tuberculosis</i>.</p>			
<p>Variables requested:</p> <p>Include which visits you want each variable to be collected (i.e. baseline, M1, M2, M6, etc)</p> <p>If you want the variable to be defined a specific way, please include that in the comments at the end of this document.</p>	<p><u>Variable Cohort A</u></p>	<p>Enrollment</p>	<p>Baseline (visita_inicial_arm_1)</p>		
	<p>Visit dates</p>		<p>X bl_visdat</p>		
	<p>Symptoms (cough, fever, night sweats, weight loss)</p>	<p>X enrol_cough enrol_fever enrol_nightsw t</p>			

		enrol_wtloss			
	Bacilloscopy	X enrol_transla b 1 yes 0 no 9 not known			
	GeneXpert	X enroll_gene x 1 yes			
	Xpert performed	X xpert_type 1 xpert MTB/RIF 2 xpert MTB/RIF Ultra 9 unknown			
	Xpert Result	X xpert_result 1 MTB detected (Rifampicin resistance DETECTED) 2 MTB detected (Rifampicin resistance NOT detected)			

		3 MTB detected (Rifampicin resistance INDETERMINATED) 4 MTB not detected 9 invalid result, Error or No result 99 don't know			
	Xpert Result/category	X xpert_cat 1 trace 2 very low 3 low 4 medium 5 high			
	Xpert Ct Value	X xpert_ct xpert_cta xpert_ctb xpert_ctc xpert_ctd xpert_cte			
	Age		X bl_age		
	Sex		X sex		
	Race		X race		

Height		X bl_height		
Weight		X bl_weight		
Cough duration		X cough_duration Show the field ONLY if: [enrol_cough] = '1' Duration in weeks (1, 2, 3...)		
HIV Status and date of test		X lab_hiv lab_hivdat lab_hivres		
History or current Smoking use		X smokhx X smoksecondary		
History or current Alcohol use		X alcoholhx		
History or current drug use		X drughx		
Comorbidities?		X diseasehx		
immunosuppressive medication use		X bl_immunotx 1 yes 0 no		

			9 not known		
	Laboratory results of sputum		culture_result cultura_type ttd_mtb ttd_mtb_hours		
	Laboratory results of sputum		X smear_posit_result Show the field ONLY if: [smear_result] = '1' = 1,2,3,4		
	CD4 count (and date), only if HIV+		X (cd4_yesno=1 AND lab_cd4dat, lab_cd4) OR (cd4_yesno=0 AND cd4_available=1 AND cd4_available_date, cd4_available_result)		
	HIV-1 RNA Viral load (and date), only if HIV+		X (vl_yesno=1 AND lab_vldat,		

			lab_vl) OR (vl_yesno=0 AND cv_available= 1 AND cv_available_d ate, cv_available_r esult)		
	Chest x-ray		X xray_xray xray_date xray_cavit 1 yes 0 no 2 impossible to determine by exam xray_adeno 1 yes 0 no 2 impossible to determine by exam xray_effusn 1 yes 0 no 2 impossible to determine by exam xray_opact		

			1 yes 0 no 2 impossible to determine by exam xray_opactmil 1 yes 0 no 2 impossible to determine by exam		
	<u>Variable Cohort B</u>	Baseline (visita_inicial_arm_1)	M6/ end of IPT (ms_6_visita_arm_1)	OFF Study (sada_prematura_arm_1)	
	Visit dates	X bl_visdat	X end_visdat	For Off study: (earlystop_date)	
	Age	X bl_age			
	Sex	X sex			
	Race	X race			
	Height	X bl_height			
	Weight	X bl_weight	X end_weight		
	Laboratory results of IGRA	X qtf_yesno qtf_date qtf_result qtf_nil qtf_tb qtf_tb_2	X qtf_yesno qtf_date qtf_result qtf_nil qtf_tb qtf_tb_2		

		qtf_mit	qtf_mit		
HIV Status and date of test	X lab_hiv lab_hivdat lab_hivres				
History or current Smoking use	X smokhx	X smokhx			
History or current Alcohol use	X alcoholhx	X alcoholhx			
History or current drug use	X drughx	X drughx			
Participant with OFF visit			X earlystop_rea son=2		
Laboratory results of sputum			culture_result cultura_type ttd_mtb ttd_mtb_hour s		
Comorbidities?	X diseasehx				
immunosuppressive medication use	X bl_immunotx				
History or current Tuberculosis diagnosis	X ever_treatedt b				
CD4 count (and date), only if HIV+	X (cd4_yesno=1 AND	X (cd4_yesno=1 AND	X (cd4_yesno=1 AND		

		lab_cd4dat, lab_cd4) OR (cd4_yesno=0 AND cd4_available =1 AND cd4_available_ date, cd4_available_ result)	lab_cd4dat, lab_cd4) OR (cd4_yesno=0 AND cd4_available =1 AND cd4_available_ date, cd4_available_ result)	lab_cd4dat, lab_cd4) OR (cd4_yesno=0 AND cd4_available =1 AND cd4_available_ date, cd4_available_ result)	
	HIV-1 RNA Viral load (and date), only if HIV+	X (vl_yesno=1 AND lab_vldat, lab_vl) OR (vl_yesno=0 AND cv_available= 1 AND cv_available_d ate, cv_available_r esult)	X (vl_yesno=1 AND lab_vldat, lab_vl) OR (vl_yesno=0 AND cv_available= 1 AND cv_available_d ate, cv_available_r esult)	X (vl_yesno=1 AND lab_vldat, lab_vl) OR (vl_yesno=0 AND cv_available= 1 AND cv_available_d ate, cv_available_r esult)	
	ART use	tohiv_yesno_b 1 yes 0 no 2 not applicable (HIV negative)	tohiv_yesno_b 1 yes 0 no 2 not applicable (HIV negative)	tohiv_yesno_b 1 yes 0 no 2 not applicable (HIV negative)	

		3 not known	3 not known	3 not known	
	LTBI therapy prevent use	quimio_yesno X date_dmy	X latent_tb 1 yes 0 no		
Length of follow-up Define how much follow-up you want participants to be able to have. For example, if you are interested in 6-month outcomes, all participants must have at least 6 months of follow-up. This can be started in terms of months/years of follow-up or enrollment prior to a certain date		All participants in Cohort B must have had at least 6 months of follow-up from the date of the baseline visit.			
Study population/inclusion and exclusion criteria A brief description of the participant population to be studied including specific inclusion and exclusion criteria, according to the variables requested above	Cohort A	Inclusion criteria:			
	Cohort B	<ul style="list-style-type: none"> • Xpert® MTB / RIF test positive for <i>Mycobacterium tuberculosis</i>; • Cases of pulmonary TB with MTB positive culture. 			
	Cohort A	<p>Exclusion criteria</p> <ul style="list-style-type: none"> • Xpert® MTB / RIF results with internal control CT values greater than 34 will be excluded from analysis. 			

	Cohort B	<p>Exclusion criteria</p> <ul style="list-style-type: none"> • Indeterminate QFT-Plus results.
<p>Analysis plan</p> <p>Is this a cross-sectional (only looking at one point in time) or prospective study?</p> <p>Define the main outcomes of interest and how they will be operationalized.</p> <p>Define the main exposures and how they will be operationalized.</p> <p>What type of analyses and model(s) will be used? Be specific about which comparisons they will be used for.</p> <p>Describe what variables will be considered as confounders and how they will be used in the model(s).</p>		<p>Type of study and sites:</p> <p>This is a prospective study. We investigate the association of delta Ct values of the Xpert® test and the transmission of Mycobacterium tuberculosis in contacts of active pulmonary tuberculosis cases followed up in a prospective cohort.</p> <p>Sites of the RePORT-Brazil:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD); - Instituto Brasileiro para Investigação de Tuberculose (IBIT); - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (Fiocruz); - Centro Municipal de Saúde de Duque de Caxias (Secretaria Municipal de Saúde) Duque de Caxias; - Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro (Clínica da Família Rinaldo de Lamare) - Rocinha. <p>Period of study:</p> <p>September 2021 to April 2022</p> <p>Data collect:</p> <p>Form (attachment) on the use of the datasheet of RePORT-Brazil.</p> <p>Reference population:</p>

		<p>All pulmonary TB participants with positive Xpert® and close contacts who performed at least the QFT-Plus test at baseline and follow-up visit (M6) who met the eligibility criteria.</p> <p>Data analysis:</p> <p>The data will be analyzed regarding the follow-up of contacts of tuberculosis cases, with evaluation of the variables described and correlation and regression analysis will be applied to investigate the association of quantitative and qualitative values (Very Low, Low, Medium and High) of the delta Ct of Xpert® test in cases of active tuberculosis and the IGRA/QuantiFERON-Plus result of the contacts. The mean CT value of each participant's probes will be used as the primary measure of bacillary load by Xpert® and the optimal CT cutoff will be compared with the quantitative and qualitative values of IGRA/QuantiFERON plus (Positive and Negative) in contacts, among others factors associated with infection.</p>
Structure/logistics required from RePORT-Brazil:		Assistance with data visualization and assistance with descriptive and statistical analysis.
Timeline:	September 2021 to April 2022	Data analysis, preparation of the manuscript and submission for publication.
Other:		

PICOT

P = Patient, Problem, Population: What population do you want to study? Think about age, sex, geographic location, or specific characteristics that are important for the question. To whom do you want to be able to generalize the results?

I = Intervention, Prognostic Factor, Exposure: What exposure(s) are you most interested in?

C = Comparison: What are you hoping to compare? Who is your referent group? Be as specific as possible.

O = Outcome: What are you trying to accomplish, measure, improve or affect? Outcomes may be disease-oriented or patient-oriented

T = Time/type of study or question: What time periods should be considered? What is your time period of follow-up? What study type is best suited to answer the question (i.e. cross-sections or cohort)

Reference:

1. World Health Organization. Global tuberculosis report 2020. Geneva: World Health Organization; 2020.
2. Melsew YA, Doan TN, Gambhir M, Cheng AC, McBryde E, Trauer JM (2018). Risk factors for infectiousness of patients with tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Epidemiology and Infection* 146, 345–353. <https://doi.org/10.1017/S0950268817003041>.
3. Melsew YA, Doan TN, Gambhir M, Cheng AC, McBryde E, Trauer JM (2018). Risk factors for infectiousness of patients with tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Epidemiology and Infection* 146, 345–353. <https://doi.org/10.1017/S0950268817003041>.
4. Hanrahan CF, Theron G, Bassett J, Dheda K, Scott L, Stevens W, Sanne I, Van Rie A. Xpert MTB/RIF as a measure of sputum bacillary burden. Variation by HIV status and immunosuppression. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014 Jun 1;189(11):1426-34. doi: 10.1164/rccm.201312-2140OC. PMID: 24786895; PMCID: PMC4098085.
5. Blakemore R, Nabeta P, Davidow AL, Vadwai V, Tahirli R, et al. (2011) A Multisite Assessment of the Quantitative Capabilities of the Xpert MTB/RIF Assay. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 184: 1076–1084. <https://doi.org/10.1164/rccm.201103-0536OC> PMID: 21836139.