



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação de uma solução tecnológica completa (extração de DNA + qPCR) para auxílio do diagnóstico de tuberculose no ponto de atendimento

Pesquisador: Alexandre Dias Tavares Costa

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 44423120.0.3001.5349

Instituição Proponente: Universidade Luterana do Brasil - ULBRA/ RS

Patrocinador Principal: FUNDACAO OSWALDO CRUZ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.377.973

Apresentação do Projeto:

O diagnóstico de tuberculose em pacientes suspeitos é atualmente realizado através do cultivo da amostra e subsequente crescimento e identificação do bacilo *Mycobacterium tuberculosis*. Este teste é demorado, apesar de bastante específico. Alternativamente, existem equipamentos que realizam o diagnóstico molecular usando a técnica de qPCR, incluindo a difícil etapa de extração de DNA num único dispositivo, diminuindo assim o tempo para o diagnóstico final e também a possibilidade de erro pelo usuário. Apesar de bastante específico, estes testes são atualmente muito caros, e só são viáveis no SUS em virtude do subsídio fornecido diretamente pela empresa desenvolvedora, Cepheid (EUA), ou através de organismos internacionais multilaterais, com a OMS. Em trabalhos anteriores do grupo, foi desenvolvido um protótipo de extração rápida de DNA seguida de qPCR num equipamento portátil (Q3-Plus), que mostrou resultados promissores. Foi usado um protótipo de extração rápida do DNA de escarro para buscar pelo marcador genômico IS6110 de *M. tuberculosis*. Foi identificada uma solução desnaturante que foi capaz de liquefazer a amostra de escarro e extrair o DNA da amostra, com qualidade suficiente para ser usado como material numa qPCR realizada num equipamento portátil, o Q3-Plus. Neste trabalho inicial foi mostrado que o protocolo protótipo é uma solução direta e simples, passível de uso em locais de baixa densidade tecnológica, com grande potencial, e que por isso deve ser avaliado num estudo estruturado, em coortes maiores, em paralelo à avaliação das mesmas amostras por métodos tradicionais, como a cultura e o teste molecular GeneXpert. Neste primeiro estudo foi mostrada

Endereço: Av. Farroupilha, 8001 Prédio14- Sala 224

Bairro: São José

CEP: 92.425-900

UF: RS

Município: CANOAS

Telefone: (51)3477-9217

Fax: (51)3477-9239

E-mail: comitedeetica@ulbra.br



ainda a possibilidade de formatar o teste molecular para o formato “pronto para uso” usando a técnica da gelificação dos reagentes, onde estes são aliquotados diretamente no cartucho ou tubo de reação. É importante citar que o equipamento portátil aqui usado foi validado para detecção também de malária e tracoma. Além da validação da reação para detecção do DNA de *Plasmodium* spp, o grupo recentemente validou um protocolo de extração de DNA em papel de filtro, semelhante ao proposto aqui, para extração de DNA de amostras de sangue total. Neste projeto, pretende-se aliar a portabilidade do equipamento Q3-Plus e a sensibilidade das reações de qPCR com um protocolo de extração rápida do DNA para compor uma solução tecnológica completa capaz de detectar a infecção por *M. tuberculosis* em amostras de escarro, diretamente no ponto de atendimento. Configurado como um kit, a solução tecnológica proposta engloba todos os passos necessários para a realização de um teste de base molecular, permitindo que eventuais tratamentos sejam iniciados rapidamente, sem necessidade da espera pelo resultado de laboratórios centrais de diagnósticos que demoram mais. Adicionalmente, no futuro, a solução tecnológica proposta permitirá que hospitais e centros médicos de menor capacidade laboratorial sejam capazes de continuar com diagnóstico molecular sendo realizado de forma local, rápido e adequado à demanda. Os pacientes que se enquadrarem nos critérios de elegibilidade serão convidados a participar do estudo e fornecer uma amostra de escarro ou lavado broncoalveolar (quando aplicável), além da amostra para a rotina de diagnóstico do centro. As amostras serão processadas pelo novo método (“tratamento teste”) e os resultados serão comparados com os resultados obtidos pelos métodos utilizados na rotina (cultura, baciloscopia e molecular/GeneXpert).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Principal: Avaliar uma plataforma tecnológica completa, composta por um protocolo de extração de DNA, um equipamento de qPCR portátil e um teste molecular tipo qPCR, otimizados para detectar DNA do bacilo *Mycobacterium tuberculosis* em amostras de pacientes com suspeita de tuberculose, diretamente no ponto de atendimento.

Objetivos Específicos:

1. Avaliar o desempenho, diretamente no ponto de atendimento, de um protocolo completo baseado em PCR Tempo Real (“amostra até resultado”) para detecção do DNA do bacilo causador da tuberculose em amostras de escarro ou lavado broncoalveolar, usando equipamento portátil Q3-Plus. O protocolo de extração de DNA seguido de detecção por equipamento qPCR portátil será avaliado quanto à sua sensibilidade, especificidade e usabilidade. Os resultados permitirão

Endereço: Av. Farroupilha, 8001 Prédio14- Sala 224

Bairro: São José

CEP: 92.425-900

UF: RS

Município: CANOAS

Telefone: (51)3477-9217

Fax: (51)3477-9239

E-mail: comitedeetica@ulbra.br



avaliar a aplicabilidade e efetividade da solução tecnológica completa em situação real de uso.

2. Comparar o desempenho da plataforma tecnológica completa com o desempenho de métodos tradicionais, tais como cultura e o teste comercial GeneXpert MTB/Rif. Serão comparados custo, tempo para obtenção do resultado diagnóstico, sensibilidade, especificidade e usabilidade. Os resultados permitirão validar o uso do equipamento portátil para detecção do DNA de *Mycobacterium tuberculosis* diretamente no ponto de atendimento.

3. Avaliar um alvo para a identificação de resistência a rifampicina (*rpoB*) e isoniazida (*inhA* e *katG*) aliado ao diagnóstico da TB, e comparar com o método comercial (GeneXpert MTB/Rif) e com o sequenciamento destes genes.

4. Construir um banco de amostras para uso futuro em novas versões do teste portátil, como por exemplo a inclusão da busca por marcadores de resistência. Neste projeto, o foco é avaliar a solução tecnológica completa como um procedimento capaz de triar pacientes com uma classificação de positividade para o marcador genômico de *M. tuberculosis*. Num futuro próximo, pretende-se avaliar uma reação para detecção de resistência aos antibióticos mais comuns usados em tuberculose, e um banco de amostras já curado e avaliado pelos principais métodos de diagnóstico é uma excelente ferramenta de pesquisa.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Existe a necessidade de fornecer uma amostra de escarro, por isso o risco é mínimo, podendo gerar apenas um desconforto ao escarrar, e na ocorrência deste ou qualquer outro desconforto, os pesquisadores se comprometem com você a fazer uma escuta qualificada e buscar auxílio médico, caso necessário. Não haverá realização de procedimento invasivo exclusivamente para o estudo. A obtenção do LBA se dará apenas se o participante for submetido a técnicas para obtenção do mesmo para fins diagnóstico.

A pesquisa não apresenta potencial de causar danos maiores ao participante do que os existentes na vida cotidiana, em consonância com o caráter processual e dialogal dessa pesquisa. Contudo, riscos relacionados as pesquisas com estudos com aplicação de questionários ou revisão de prontuário podem ser invasão de privacidade; discriminação a partir do conteúdo revelado; divulgação de dados. confidenciais (registrados no TCLE e nos questionários).

A equipe de pesquisa tomará todos os cuidados para mitigar todos os riscos.

Benefícios: Os participantes não terão benefício direto por participar desta pesquisa. Entretanto o conhecimento adquirido a partir dessa pesquisa poderá beneficiar com informações e orientações futuras a execução de uma técnica de preparação de amostra rápida, simples, eficiente, mais

Endereço: Av. Farroupilha, 8001 Prédio14- Sala 224

Bairro: São José

CEP: 92.425-900

UF: RS

Município: CANOAS

Telefone: (51)3477-9217

Fax: (51)3477-9239

E-mail: comitedeetica@ulbra.br



Continuação do Parecer: 5.377.973

barata, e idealmente livre de equipamentos que diminuiria significativamente o custo dos testes moleculares e mitigaria o desafio de acesso a países de baixa renda per capita para o diagnóstico de TB.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de uma segunda emenda a um projeto de pesquisa avaliado e aprovado pelo Colegiado deste CEP em julho de 2021 (CAAE: 44423120.0.3001.5349; Número do Parecer: 4.856.497), no qual a ULBRA é uma das instituições coparticipantes. Esse projeto, coordenado por um pesquisador do Instituto Carlos Chagas - Fundação Oswaldo Cruz (Paraná), foi aprovado pelo Colegiado do CEP da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ/IOC, em sua terceira versão, em 01/07/2021 (CAAE: 44423120.0.1001.5248; Número do Parecer: 4.821.830).

A emenda se justifica pela proposição de alterações no protocolo da pesquisa previamente aprovada, conforme descrito no parecer consubstanciado do CEP da instituição proponente, emitido em 28 de março de 2022 (CAAE: 44423120.0.1001.5248; Número do Parecer: 5.316.335):

1) A emenda propõe a inclusão de um novo objetivo ao projeto com a inserção de mais um alvo de análise, além do elemento IS6110 para diagnóstico da tuberculose, a análise do gene *rpoB*, um alvo relacionado à identificação de resistência a um dos principais fármacos de tratamento da TB, rifampicina; e aos genes *inhA* e *katG*, relacionados a resistência à isoniazida.

2) O projeto informa que haverá coleta de amostras de lavado broncoalveolar, que não foi previsto no projeto original. O tamanho da amostra é de 300 participantes. Na emenda também é solicitada a dispensa do TCLE somente no caso de amostras referenciadas ao Laboratório do HU-ULBRA das diversas regiões do Município de Canoas, baseada na logística e inviabilidade de localização do paciente para processo de obtenção do consentimento e solicitação do TCLE, pois tratam-se de amostras coletadas nas diversas Unidades de Saúde do Município de Canoas em seus diferentes níveis de complexidade e enviadas, via transporte Municipal. O recrutamento dos participantes será realizado no ambulatório do Hospital Sanatório Partenon (HSP), em Porto Alegre (RS), e pacientes recebidos no Hospital Universitário da Universidade Luterana Brasileira (HU-ULBRA), que é um Hospital Municipal de Canoas (RS). Esse hospital é centro de referência e também recebe amostras biológicas (escarro e/ou lavado broncoalveolar) do município de Canoas-RS. Essas amostras também serão usadas nesta pesquisa.

Endereço: Av. Farroupilha, 8001 Prédio14- Sala 224

Bairro: São José

CEP: 92.425-900

UF: RS

Município: CANOAS

Telefone: (51)3477-9217

Fax: (51)3477-9239

E-mail: comitedeetica@ulbra.br



Continuação do Parecer: 5.377.973

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Diversos documentos foram anexados à submissão da emenda com a finalidade de esclarecer e complementar as informações solicitadas pelo CEP da instituição proponente por meio de seu parecer consubstanciado de número 5.240.160, o qual elencava uma série de pendências.

Recomendações:

Nas referências futuras ao centro coparticipante situado em Canoas/RS, os pesquisadores devem atentar para o fato de que o Hospital Universitário (HU) deixou de ser “HU da ULBRA” há alguns anos, passando à denominação de “HU de Canoas”. Embora possa parecer um mero detalhe, soa estranho referir-se à coleta de dados e material biológico em uma instituição que não existe mais.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências ou inadequações adicionais que possam se configurar como óbices éticos.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	PCL_01_20_ICC_Carta_Resposta_Parecer CEP 5240160.pdf	10/03/2022 16:01:58	Alexandre Dias Tavares Costa	Aceito
Outros	PCL_01_20_ICC_Carta_Resposta_Parecer CEP 5240160.docx	10/03/2022 16:01:29	Alexandre Dias Tavares Costa	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	5_PCL01_20_Solicitacao_de_dispensa_de_TCLE_HU_ULBRA_04mar2022.docx	10/03/2022 16:00:23	Alexandre Dias Tavares Costa	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	5_PCL01_20_Solicitacao_de_dispensa_de_TCLE_HU_ULBRA_04mar2022.pdf	10/03/2022 16:00:11	Alexandre Dias Tavares Costa	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4_PCL_01_20_TCLE_v4_04mar2022_sem_alteracoes_destacadas.docx	10/03/2022 15:56:05	Alexandre Dias Tavares Costa	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	3_PCL_01_20_TCLE_v4_04mar2022_com_alteracoes_destacadas.docx	10/03/2022 15:55:32	Alexandre Dias Tavares Costa	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	2_PCL_01_20_Protocolo_v2_04mar2022_sem_alteracoes_destacadas.docx	10/03/2022 15:55:18	Alexandre Dias Tavares Costa	Aceito

Endereço: Av. Farroupilha, 8001 Prédio14- Sala 224

Bairro: São José

CEP: 92.425-900

UF: RS

Município: CANOAS

Telefone: (51)3477-9217

Fax: (51)3477-9239

E-mail: comitedeetica@ulbra.br



UNIVERSIDADE LUTERANA
DO BRASIL - ULBRA/ RS



Continuação do Parecer: 5.377.973

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	1_PCL_01_20_Protocolo_v2_04mar202 2_com_altecacoes_destacadas.docx	10/03/2022 15:55:04	Alexandre Dias Tavares Costa	Aceito
Outros	3b_PCL_01_20_Instrumento_Coleta_de Dados_v1_08dez2021.docx	26/01/2022 14:15:40	Alexandre Dias Tavares Costa	Aceito
Outros	3a_PCL_01_20_Instrumento_Coleta_de Dados_v1_08dez2021.pdf	26/01/2022 14:14:46	Alexandre Dias Tavares Costa	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CANOAS, 29 de Abril de 2022

Assinado por:
Arlete Beatriz Becker Ritt
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Farroupilha, 8001 Prédio14- Sala 224

Bairro: São José

CEP: 92.425-900

UF: RS

Município: CANOAS

Telefone: (51)3477-9217

Fax: (51)3477-9239

E-mail: comitedeetica@ulbra.br