



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Juliana Cristina Borges da Silva

Investigação de tuberculose latente utilizando os ensaios de produção de interferon-gama (IGRA) e da proteína de 10kDa induzida por interferon (CXCL-10/IP-10) em pacientes com doença renal crônica

Rio de Janeiro

2024

Juliana Cristina Borges da Silva

Investigação de tuberculose latente utilizando os ensaios de produção de interferon-gama (IGRA) e da proteína de 10kDa induzida por interferon (CXCL-10/IP-10) em pacientes com doença renal crônica

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Luciana Silva Rodrigues

Co-orientadora: Prof.^a Dra. Rachel Bregman

Rio de Janeiro

2024

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/ REDE SIRIUS/ CB/A

S586 Silva, Juliana Cristina Borges da
Investigação de tuberculose latente utilizando os ensaios de produção de interferon-gama (IGRA) e da proteína de 10kDa induzida por interferon (IP-10/CXCL-10) em pacientes com doença renal crônica / Juliana Cristina Borges da Silva. – 2024.
103 f.

Orientadora: Prof.^a Dra. Luciana Silva Rodrigues
Coorientadora: Prof.^a Dra. Raquel Bregman

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-Graduação em Ciências Médicas.

1. Insuficiência renal crônica – Complicações – Teses. 2. Tuberculose latente – Diagnóstico – Teses. 3. Testes de liberação de Interferon-gama – Métodos. I. Rodrigues, Luciana Silva. II. Bregman, Raquel. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 616.24-002.5:616.61

Bibliotecário: Felipe Caldonazzo CRB7/7341

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Juliana Cristina Borges da Silva

Investigação de tuberculose latente utilizando os ensaios de produção de interferon-gama (IGRA) e da proteína de 10kDa induzida por interferon (IP-10/CXCL-10) em pacientes com doença renal crônica

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 29 de maio de 2024.

Orientadora: Prof.^a Dra. Luciana Silva Rodrigues
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Coorientadora: Prof.^a Dra. Raquel Bregman
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Thiago Thomaz Mafort
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Prof.^a Dra. Renata de Souza Mendes
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Prof. Dr. Adriano Gomes da Silva
Fundação Oswaldo Cruz

Rio de Janeiro

2024

DEDICATÓRIA

Em memória de meu amado avô, cuja coragem e determinação na batalha contra a diabetes são a essência deste projeto, em prol ao progresso da ciência e saúde.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, expresso minha profunda gratidão a Deus, cuja orientação e força foram fundamentais para minha jornada acadêmica. Sem Ele, nada seria possível, e por isso, atribuo toda honra e glória a Ele por me conduzir até aqui.

Agradeço sinceramente à minha orientadora, Profa. Dra. Luciana Rodrigues, por estar ao meu lado desde o meu primeiro projeto de pesquisa. Concluo este mestrado como uma pessoa melhor, não apenas pelas minhas conquistas individuais, mas também pelas suas palavras de incentivo e orientações construtivas. Não poderia ter pedido por uma orientadora melhor. Sou igualmente grata à minha co-orientadora, Profa. Dra. Rachel Bregman, por me introduzir a um novo mundo da pesquisa e por confiar em meu trabalho.

À minha querida IC Nathália Vieira, que esteve ao meu lado em todos os momentos e foi essencial para o sucesso da pesquisa, expresso minha profunda gratidão e reconhecimento pela parceria e apoio incondicional. Agradeço também a todos os técnicos e professores da Patologia Geral, especialmente à Profa. Thais Amadeus por compartilhar seus conhecimentos. Dedico meus agradecimentos especiais aos meus colegas de laboratório que compartilharam experiências, risadas e placas de ELISA, sendo fundamentais nesta jornada: Roberto Stefan, Samara Galdino, Gabriel Seiblit, Shay Gomes, Karina Scandelai, Vinícius Lisboa e Raquel Corrêa. Minha sincera gratidão ao estático Dr. Marcelo-Alves.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todos os médicos e a equipe multidisciplinar do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE/UERJ). Em particular, gostaria de destacar a significativa contribuição do Ambulatório de Pneumologia, representado Dra. Ana Paula e Dra. Janaína Leung, e ao Ambulatório de Nefrologia, onde o Dr. Conrado e Dra. Renata Mendes demonstram uma dedicação excepcional. E um agradecimento especial ao Banco de Sangue por ceder o espaço para a coleta do grupo controle.

Expresso minha eterna gratidão à minha família, especialmente aos meus avós, mãe, irmãos e minha melhor amiga, pelo amor, apoio e incentivo constante. Ao meu marido, agradeço por seu apoio inabalável desde o meu primeiro dia no laboratório.

Agradeço profundamente à banca avaliadora composta pelo Dr. Adriano Gomes, Dra. Renata Mendes e Dr. Thiago Mafort, Dra. Sandra Boiça e Dr. Geraldo Pereira pela disponibilidade em avaliar nossa pesquisa e contribuir com valiosas considerações. Por fim, expresso meu reconhecimento ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas pela qualidade do ensino e pela oportunidade de crescimento acadêmico. Minha gratidão se estende às agências CAPES e FAPERJ pelo apoio financeiro ao longo destes anos do Mestrado.

RESUMO

SILVA, Juliana Cristina Borges da. **Investigação de tuberculose latente utilizando os ensaios de produção de interferon-gama (IGRA) e da proteína de 10kDa induzida por interferon (IP-10/CXCL-10) em pacientes com doença renal crônica.** 2024. 103 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

Há evidências crescentes de que pacientes com doença renal crônica (DRC) ou em diálise de rotina apresentam alto risco de adquirir infecção latente por tuberculose (ILTB) ou de desenvolver TB ativa. No entanto, o diagnóstico de ILTB ainda é um desafio com base nos testes atuais que refletem a resposta imune celular contra a infecção por *Mycobacterium tuberculosis* – que pode estar comprometida nesta população. Sabe-se que a imunidade celular, representada principalmente pelos linfócitos T capazes de produzir altas concentrações de interferon-gama (IFN- γ) constitui o principal mecanismo de defesa contra o Mtb. Particularmente, pacientes com doença renal crônica apresentando estágios mais avançados da doença apresentam alterações significativas na resposta imune inata e adaptativa devido ao acúmulo de toxinas, que normalmente são excretadas pelos rins, o que os torna mais vulneráveis a infecções por diferentes patógenos. Assim, o principal objetivo do presente estudo foi avaliar a prevalência de ILTB entre pacientes com DRC e aqueles em hemodiálise de rotina. Para isso, realizamos um estudo transversal incluindo pacientes acompanhados regularmente no Ambulatório de Nefrologia e no Serviço de Hemodiálise do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE/UERJ). A ILTB foi diagnosticada usando ensaio de liberação de interferon-gama (IGRA) QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus). O ensaio de liberação de CXCL-10/IP-10 determinado a partir de sobrenadantes de QFT-Plus foi, também, usado para identificar a resposta imune específica frente a antígenos do Mtb. Dados sociodemográficos, clínicos e laboratoriais foram obtidos de laudos médicos e analisados quanto a preditores de ILTB. Foram incluídos no estudo 123 pacientes, sendo 111 (90,2%) do grupo DRC e 12 (9,8%) do grupo hemodiálise (HD). O IGRA mostrou 39 (31,7%) resultados positivos na população geral do estudo: 36/111 (32,4%) em DRC e 3/12 (25%) em grupos de HD. Resultados indeterminados foram observados em 4/123 (3,3%) pacientes. Resultados positivos para CXCL-10/IP-10 foram observados em 39/123 (39,8%) pacientes. A análise de regressão multivariada identificou que a não vacinação com BCG (aOR 7,41 [IC 2,15-25,48]; $p = 0,0014$) e a positividade para ensaio CXCL-10/IP-10 (aOR 4,48 [IC 1,87-10,76]; $p = < 0,001$) foram fatores de risco independentes para ILTB entre pacientes na DRC e em HD. O IGRA QFT-Plus demonstrou ser um método útil na vigilância da ILTB em estágios críticos da DRC e na hemodiálise de rotina. As respostas CXCL-10/IP-10 específicas para Mtb foram associadas a um IGRA positivo, sugerindo um biomarcador adjuvante de ILTB nesta população.

Palavras-chave: tuberculose latente; doença renal crônica; IGRA; CXCL-10/IP-10; hemodiálise; tuberculose.

ABSTRACT

SILVA, Juliana Cristina Borges da Silva. *Investigation of latent tuberculosis using interferon-gamma production assays (IGRA) and interferon-induced 10kDa protein (IP-10/CXCL-10) in patients with chronic kidney disease*. 2024. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

There is increasing evidence that patients with chronic kidney disease (CKD) or on routine dialysis are at high risk of acquiring latent tuberculous infection (LTBI) or developing active TB. However, diagnosing LTBI remains a challenge based on current tests that reflect the cellular immune response against *Mycobacterium tuberculosis* infection – which may be compromised in this population. It is known that cellular immunity, represented mainly by T lymphocytes capable of producing high concentrations of interferon-gamma (IFN- γ), constitutes the main defense mechanism against Mtb. Particularly, patients with chronic kidney disease in more advanced stages of the disease present significant changes in the innate and adaptive immune response due to the accumulation of toxins, which are normally excreted by the kidneys, which makes them more vulnerable to infections by different pathogens. A prospective cross-sectional study was conducted in a tertiary nephrology reference hospital, Rio de Janeiro, Brazil. LTBI was diagnosed using interferon-gamma release assay (IGRA; QuantiFERON-TB Gold Plus [QFT-Plus]). CXCL-10/IP-10 release assay determined from QFT-Plus supernatants was also used to identify Mtb-specific immune response. Sociodemographic, clinical, and laboratorial data were obtained from medical reports and analyzed for LTBI predictors. A total of 123 patients were enrolled in the study, 111 (90.2%) from the CKD group and 12 (9.8%) from the hemodialysis (HD) group. IGRA showed 39 (31.7%) positive results in the general study population: 36/111 (32.4%) in CKD and 3/12 (25%) in HD groups. Indetermined IGRA results were observed in 4/123 (3.3%) patients. CXCL-10/IP-10 positive results were seen in 39/123 (39.8%) patients. Multivariate regression analysis identified that non-vaccination with BCG (aOR 7.41 [CI 2.15-25.48]; $p = 0.0014$) and the positivity for CXCL-10/IP-10 assay (aOR 4.48 [CI 1.87-10.76]; $p = < 0.001$) were independent risk factors for LTBI among DRC and HD patients. The IGRA QFT-Plus was shown to be a useful method in the surveillance of LTBI in critical stages of CKD and routine hemodialysis. Mtb-specific CXCL-10/IP-10 responses were associated with a positive IGRA and could provide an useful adjuvant biomarker of LTBI in this population.

Keywords: latent tuberculosis; chronic kidney disease; IGRA; CXCL-10/IP-10; hemodialysis; glomerular filtration rate.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Classificação da Doença Renal Crônica pelo <i>Kidney Disease Improving Global Outcome</i>	16
Figura 2	Efeitos da disfunção imunológica dos pacientes com DRC.....	20
Figura 3	Taxa de incidência da tuberculose no Estado do Rio de Janeiro no ano de 2019.	24
Figura 4	Sistema de secreção antígeno específica do Mtb codificado pela região RD1..	26
Figura 5	Modelo representativo da tuberculose como um espectro.....	27
Figura 6	Esquema sobre a aplicação e leitura da prova tuberculínica.....	33
Figura 7	Diferenças técnicas na realização dos ensaios de produção de interferon-gama.	36
Figura 8	Fluxograma da população de estudo.....	46
Figura 9	Resultados qualitativos do teste diagnóstico QuantiFERON-TB Gold Plus....	50
Figura 10	Níveis de IFN- γ em comparação com os estágios da DRC e HD.....	51
Figura 11	Produção de CXCL-10/ IP-10 antígeno-específica da população de estudo.....	53
Figura 12	Níveis de CXCL-10/ IP-10 em comparação com os estágios da DRC e HD...	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características sociodemográficas e clínicas da população de estudo...	48
Tabela 2	Características laboratoriais dos pacientes da população de estudo.....	49
Tabela 3	Respostas aos antígenos TB1 e TB2 Mtb-específicos do QFT-plus.....	52
Tabela 4	Fatores de risco independentes para a positividade do teste QFT-Plus na população de estudo.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGEs	produtos de glicação avançada. Do inglês, <i>advanced glycation end-products</i>
APCs	células apresentadoras de antígenos.
ATS	<i>do inglês, American Thoracic Society</i>
BAAR	bacilo álcool-ácido resistente
BCG	bacilo de Calmette-Guérin
BK	bacilo de Koch
CFP-10	<i>do inglês, Culture filtrate protein – 10kDa</i>
CXCL-10/IP-10	Proteína 10kDa induzida por interferon-gama
DCNT	doenças crônicas não transmissíveis
DM	diabetes mellitus
DNA	ácido desoxirribonucleico
DRC	doença renal crônica
DRT	doença renal terminal
ELISA	ensaio imunoenzimático
EPO	eritropoietina
ESAT-6	<i>do inglês, early secretory antigenic target – 6 kDA</i>
FGF-23	fator de crescimento de fibroblastos 23
HD	hemodiálise
HIV	vírus da imunodeficiência humana
IFN- γ	interferon-gama
IGRA	ensaio de produção de interferon-gama.
IL	interleucina
ILTB	infecção latente por tuberculose
iNOS	óxido nítrico-sintase induzida
K/DOQI	Iniciativa de qualidade de resultados da doença renal
LBA	lavado broncoalveolar
LP	líquido pleural
<i>M. bovis</i>	<i>Mycobacterium bovis</i>
Mtb	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>

MNTs	micobactérias não-tuberculosas
NO	óxido nítrico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBMC	células mononucleares do sangue periférico
PCR	proteína C reativa
PMNL	leucócitos polimorfonucleares
PPD	derivado proteico purificado
PRRs	receptores de reconhecimento de padrões
PTH	hormônio paratormônio
QFT-Plus	QuantiFERON-TB Gold Plus
TB	tuberculose
TC	tomografia computadorizada
TFG	taxa de filtração glomerular
TFGe	taxa de filtração glomerular estimada
TNF	fator de necrose tumoral
TLRs	<i>do inglês, toll-like receptors</i>
Tregs	células T reguladoras
TRS	terapia renal substitutiva
VDRs	receptores de vitamina D

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
×	multiplicação
β	beta
mL	mililitro
cm	centímetro
m ²	metro quadrado
rpm	rotações por minuto
α	alfa
γ	gama
μL	microlitro
UI	unidades internacionais
mm ³	milímetro cúbico

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	13
1 JUSTIFICATIVA.....	38
2 OBJETIVOS.....	39
2.1 Objetivo geral.....	39
2.2 Objetivos específicos.....	39
3 MÉTODOS.....	40
3.1 Aspectos éticos.....	40
3.2 Desenho do estudo.....	40
3.3 Definição da população do estudo.....	41
3.4 Critérios de inclusão.....	41
3.5 Critérios de exclusão.....	41
3.6 Coleta de dados.....	41
3.7 Ensaio de produção de interferon-gama.....	42
3.8 Ensaio de produção de CXCL-10/IP-10.....	43
3.9 Exames laboratoriais complementares.....	44
3.10 Análise estatística.....	44
4 RESULTADOS.....	46
4.1 Características gerais da população de estudo.....	46
4.2 Determinação de ILTB utilizando o ensaio QFT-Plus.....	50
4.3 Resposta Mtb- específicas para CXCL-10/IP-10 entre pacientes com DRC e HD...	52
4.4 Fatores de risco associados à positividade do teste diagnóstico QFT-Plus.....	54
5 DISCUSSÃO.....	56
CONCLUSÃO.....	60
REFERÊNCIAS.....	61
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	68
APÊNDICE B – Questionário dos pacientes com doença renal crônica.....	70
ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.....	72
ANEXO B – Manuscrito submetido.....	75

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB), doença causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), ainda é um importante problema de saúde pública mundial, necessitando de estratégias efetivas para seu controle. Estima-se que um quarto da população mundial esteja infectada de maneira latente pelo Mtb, condição conhecida como *infecção latente por tuberculose* ou *tuberculose latente* (ILTB) (1), correspondendo a indivíduos que desenvolvem imunidade parcial frente à infecção, sem manifestação de sinais ou sintomas, e considerados incapazes de disseminar o bacilo (2,3). No entanto, estes indivíduos apresentam maior risco relativo para o desenvolvimento da tuberculose ativa – esta sim com apresentação de sintomas e que pode ser fatal, se não adequadamente tratada (1,4,5).

Sabidamente, a ativação e mobilização de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ produtores de interferon-gama (IFN- γ), assim como macrófagos com alto potencial microbicida desempenham um papel essencial na formação e manutenção do granuloma – infiltrado inflamatório organizado apresentando células imunes com alto grau de ativação e diferenciação – o qual constitui importante defesa contra a infecção (1,6). No entanto, o Mtb é capaz de modular a resposta do hospedeiro e, quando não completamente erradicado, pode persistir em um estado de latência no hospedeiro (4–6). Todavia, condições patológicas diversas podem contribuir para a reativação deste foco infeccioso quiescente e sua progressão para TB ativa, sendo o enfraquecimento do sistema imunológico um dos fatores mais significativos. Neste contexto, as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como a diabetes mellitus (DM), a artrite reumatóide, as doenças inflamatórias intestinais, entre outras, merecem importante atenção, conforme descrito na literatura e por recomendação das autoridades de saúde (2,3). Além disso, indivíduos com baixa resposta imune, em uso de terapias imunossupressoras (transplante renal ou outros), idade avançada, crianças, indivíduos com desnutrição e populações vulneráveis, tais como pessoas em situação de rua representam importantes grupos de risco de adoecimento pela tuberculose (2,3).

Estudos atuais mostram que indivíduos com doença renal crônica (DRC) apresentam um risco notavelmente aumentado de desenvolver TB ativa, 8 a 25 vezes maior em comparação com a população geral (7). As taxas de mortalidade associadas à TB são ainda maiores entre aqueles que apresentam a doença em sua fase terminal e necessitam de terapia renal substitutiva (TRS) (8,9). A hipótese mais aceita para esta associação entre DRC-TB baseia-se a retenção de toxinas (uremia), resultante da progressiva perda funcional renal, e que contribui para o comprometimento da ativação e função de células fagocíticas e apresentadoras de antígenos,

em especial os polimorfonucleares e macrófagos (9,10). Essa condição torna esta população de pacientes especialmente suscetíveis a infecções e altas taxas de morbidade e mortalidade (9,11). Assim, o rastreamento e o tratamento profilático da ILTB nesses indivíduos poderão reduzir significativamente o risco de desenvolvimento da doença, auxiliando ainda no controle da cadeia de transmissão da tuberculose.

Não há nenhum teste considerado padrão-ouro para o diagnóstico da ILTB, e os que existem representam uma resposta indireta à infecção, sem a detecção do bacilo. Atualmente, existem dois testes padronizados e recomendados pela OMS para o rastreamento e diagnóstico da ILTB, são eles: i) o teste tuberculínico (conhecido popularmente como PPD), ii) e mais recentemente os ensaios de produção de interferon-gama (IGRA). Ambos os métodos dependem da resposta imune celular desenvolvida pelo indivíduo exposto ou infectado pelo *Mtb*, sem distinção de doença ativa ou latente (3,12,13).

Apesar da reconhecida relevância clínica dessa intersecção entre ILTB e DRC, a literatura atual é limitada e fragmentada, carecendo de investigações robustas que abordem a epidemiologia, incidência/prevalência, e fatores de risco associados, assim como os possíveis desfechos clínicos. Portanto, estudos que elucidem os mecanismos dessa interação, bem como estratégias efetivas de rastreamento e manejo desses pacientes podem contribuir sobremaneira para melhorar a qualidade da assistência à saúde e reduzir o número de casos ativos de TB nessa população vulnerável.

Doença renal crônica

Epidemiologia

A doença renal crônica (DRC) é atualmente caracterizada por uma alta incidência, impulsionada por diversos fatores de risco, incluindo idade avançada, hipertensão arterial, diabetes mellitus (DM) e condições cardiovasculares (11). Além disso, o envelhecimento populacional e o consequente aumento da expectativa de vida observada nas últimas décadas, contribuem significativamente para esse panorama epidemiológico (12).

Conforme dados apresentados pela Sociedade Brasileira de Nefrologia de 2020, a prevalência da DRC em escala global atinge 7,2% entre indivíduos com mais de 30 anos (14). No cenário nacional, estima-se que a DRC afete mais de dez milhões de indivíduos. Destes, aproximadamente 90 mil encontram-se sob TRS. Em 2020, foi notável a elevação da taxa bruta de mortalidade, que passou de 17,1% para 20,3%. Tal fenômeno pode, ao menos em parte, ser atribuído à maior incidência de DM nesta população, registrando um aumento de 27% para

31%. Além disso, é plausível considerar a contribuição do aparente aumento da faixa etária na população submetida à TRS, especialmente entre os pacientes com mais de 75 anos de idade (14).

Em paralelo, demandam atenção o número crescente de indivíduos com doenças DCNT, como a DM e a hipertensão arterial, que constituem uma parcela significativa entre as causas de mortalidade, correspondendo a aproximadamente 60% dos óbitos registrados em todo o mundo. Estima-se que essas doenças afetem cerca de 35 milhões de pessoas anualmente, com projeções indicando um aumento de 17% na mortalidade decorrente das DCNT ao longo da próxima década (12).

Classificação

A classificação DRC é determinada pela taxa de filtração glomerular (TFG), conforme as diretrizes da Iniciativa de qualidade de resultados da doença renal (K/DOQI) de 2002, como mostra a **Figura 1**. Um indivíduo é considerado portador de DRC quando sua TFG permanece abaixo de 60 mL/min/1,73 m² por um período igual ou superior a 3 meses (15).

A avaliação da TFG pode ser estimada por meio da medição da concentração de creatinina no sangue (TFGe) por meio da equação do CKD-EPI 2021. Esta utiliza a creatinina plasmática, idade e sexo do indivíduo. A estimativa da filtração glomerular é fundamental para o diagnóstico e monitoramento da progressão da DRC, permitindo uma intervenção precoce e um manejo eficaz da doença (16).

A quantificação da albuminúria é uma ferramenta utilizada na classificação do risco de progressão da doença. A inclusão deste parâmetro ocorreu em 2012, sendo mais um dado para o monitoramento da DRC (16). A presença de albuminúria permite o tratamento precoce da DRC e conseqüente retardo na progressão. Seu acompanhamento regular permite avaliar a eficácia das intervenções terapêuticas e ajustar o plano de tratamento conforme necessário (17).

Figura 1 - Classificação da Doença Renal Crônica pelo *Kidney Disease Improving Global Outcome*

Prognóstico da DRC conforme categorias de TFG e albuminúria: KDIGO 2012				Descrição e faixa das categorias de albuminúria persistente		
				A1	A2	A3
				Normal a levemente aumentada	Moderadamente aumentada	Gravemente aumentada
				< 30 mg/g < 3 mg/mmol	30–300 mg/g 3–30 mg/mmol	> 300 mg/g > 30 mg/mmol
Descrição e faixa das categorias de TFG (mL/min/1,73 m ²)	G1	Normal ou alta	≥ 90			
	G2	Levemente reduzida	60–89			
	G3a	Leve a moderadamente reduzida	45–59			
	G3b	Moderada a gravemente reduzida	30–44			
	G4	Gravemente reduzida	15–29			
	G5	DRC estágio 5	< 15			

Legenda: A graduação de cores, que vai do verde ao vermelho, representa o risco crescente e a progressão da DRC. TFG: Taxa de Filtração Glomerular. **Fonte:** *Harrison's Principles of Internal Medicine*, capítulo 314, figura 305-1, pág.7542: Chronic Kidney Disease, permissão de *Kidney Int Suppl* 3:5-14, 2013.

Manifestações clínicas

As principais causas da DRC englobam DM, hipertensão arterial, glomerulonefrite crônica, pielonefrite crônica, uso prolongado de anti-inflamatórios não hormonais, doenças autoimunes, doença renal policística, malformações congênicas e lesão renal aguda (11,17). Estas doenças contribuem para a instalação e progressão da DRC, ocasionando danos estruturais e funcionais aos rins ao longo do tempo. A identificação e controle eficaz dessas condições subjacentes são cruciais para prevenir ou retardar a evolução da DRC e suas complicações (18).

A detecção precoce de doenças crônicas, incluindo a DRC, é de suma importância, pois proporciona uma oportunidade para intervenções terapêuticas precoces. Quando identificada precocemente, a DRC pode ser gerenciada de maneira mais eficaz, permitindo o início do tratamento ao longo do curso da doença. Além disso, a diminuição da TFG, o aumento da excreção de albumina na urina e a presença de outros marcadores de lesão renal frequentemente ocorrem de forma assintomática, sem manifestações evidentes. Portanto, exames laboratoriais

desempenham um papel crucial no diagnóstico. Isso resulta em uma melhoria na qualidade de vida e na redução de complicações graves no futuro (15,16).

Nos estágios 1 e 2 (**Figura 1**), os pacientes representam uma categoria de indivíduos com alto risco de desenvolver a doença, apesar de ainda apresentarem uma TFG superior a 60 mL/min/1,73m². Nesses estágios iniciais, é fundamental reconhecer que, embora a função renal esteja relativamente preservada, há presença de marcadores de lesão renal, ou evidências de lesão renal. Essas manifestações, embora discretas, permitem o diagnóstico precoce de doença renal (17). A partir do estágio 3, os pacientes são classificados como portadores da DRC, embora não apresentem sintomas específicos, além daqueles de suas doenças de base. O diagnóstico nessa fase é baseado exclusivamente na TFGe, que indica uma redução na função renal. As alterações laboratoriais mais pronunciadas tendem a surgir a partir do estágio 4, comumente manifestando-se como anemia, distúrbios do metabolismo mineral ósseo, hipertensão arterial mais resistente e aumento da proteinúria (10,17).

À medida que a DRC progride para o estágio 5, o acúmulo de toxinas urêmicas no organismo aumenta, levando a complicações mais acentuadas. Neste estágio avançado da doença, é crucial realizar um controle rigoroso da anemia por meio da otimização da cinética do ferro, monitoramento dos níveis séricos de potássio e controle dos marcadores do metabolismo mineral ósseo. O acompanhamento laboratorial e médico torna-se mais frequente, com o objetivo de identificar precocemente as complicações tardias decorrentes do acúmulo de toxinas urêmicas, as quais podem resultar em complicações graves (17).

Algumas dessas complicações incluem hipercalemia, acidose metabólica, anemia refratária, hipertensão arterial resistente e hipervolemia. Nessas circunstâncias, o início da terapia de substituição renal TRS, como hemodiálise ou diálise peritoneal, é indicado como forma de controlar os sintomas e evitar o agravamento do quadro clínico (12,17).

É importante destacar que pacientes com DRC que não recebem um acompanhamento médico adequado podem apresentar complicações graves e necessitar de TRS emergencial. Portanto, a vigilância médica regular e o manejo eficaz da DRC são essenciais para prevenir o agravamento do quadro clínico e melhorar a qualidade de vida desses pacientes (12,17).

Fisiopatologia

O rim é um órgão complexo composto por uma variedade de células e estruturas especializadas, cada uma com funções distintas, que desempenham um papel crucial na regulação homeostática do organismo, influenciando o volume sanguíneo, a pressão arterial, a

composição eletrolítica do plasma e o equilíbrio ácido-base (11). Além disso, os rins são responsáveis pela excreção de escórias nitrogenadas e outros resíduos metabólicos do corpo. Essas funções são essenciais para manter o ambiente interno do corpo dentro de limites adequados para o funcionamento saudável das células e dos sistemas orgânicos (17).

A progressão da doença renal está diretamente relacionada com os mecanismos fisiopatológicos que ocorrem com a redução dos néfrons funcionantes. A hipertensão e hiperfiltração glomerular, ocasionam o comprometimento da arquitetura dos glomérulos, função anormal dos podócitos e ruptura da barreira de filtração. Paralelamente, ocorre infiltração leucocitária, atrofia tubular, fibrose túbulo intersticial e glomerulosclerose (17,19).

A fisiopatologia da DRC é complexa e envolve uma interação intrincada entre diversos fatores etiológicos e mecanismos patogênicos. Além das condições primárias, outros distúrbios metabólicos e renais podem contribuir para o desenvolvimento e progressão da DRC. No contexto da DM, a hiperglicemia crônica provoca danos nos rins, resultando em disfunção glomerular e comprometimento da função tubular. A formação de produtos da glicação avançada (AGEs) e a ativação de vias pró-inflamatórias e pró-fibróticas desempenham um papel central na patogênese da nefropatia diabética. Da mesma forma, a hipertensão arterial crônica induz lesões vasculares e glomerulares, levando à esclerose vascular e glomerular, respectivamente. Além dessas condições, as glomerulonefrites, caracterizadas por inflamação e lesão direta da membrana basal glomerular, constituem outra causa significativa de DRC (17,20).

A resposta inflamatória desencadeada pela deposição de imunocomplexos, ativação de linfócitos e liberação de citocinas pró-inflamatórias contribui para o dano renal progressivo nessas condições. Independentemente da etiologia específica, a evolução da DRC é marcada pela esclerose glomerular, fibrose intersticial e perda progressiva de néfrons funcionantes. Essas alterações estruturais resultam em uma cascata de respostas adaptativas mediadas por hormônios vasoativos, citocinas pró-inflamatórias e fatores de crescimento, que visam compensar a perda de função renal e manter a homeostase corporal (11,17,20)

À medida que a DRC avança, as complicações clínicas e laboratoriais se tornam mais evidentes. Quase todos os sistemas do organismo são afetados, sendo observadas as anormalidades nos níveis de cálcio, fósforo e hormônios reguladores de minerais, como o 1,25-dihidroxitamina D3 (calcitriol), o paratormônio (PTH) e o fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF-23). Além disso, ocorrem anormalidades na homeostase do sódio, potássio, água e equilíbrio ácido-base (10).

A relação entre o paratormônio e a vitamina D também exerce influência direta no metabolismo do cálcio (9). Quando os níveis de cálcio no sangue estão baixos, as glândulas paratireoides secretam PTH para estimular a liberação de cálcio dos ossos, aumentar a absorção de cálcio e estimular a síntese de vitamina D nos rins. O PTH desempenha um papel fundamental na prevenção da hipocalcemia, estimulando os osteoclastos a reabsorverem o osso, liberando cálcio na circulação.

O FGF23, secretado por osteócitos principalmente, regula a excreção renal e a reabsorção de fosfato, além de reduzir a produção de 1,25-dihidroxitamina D3. Com a progressão da doença renal, os níveis do FGF23 aumentam para estimular a excreção de fosfato. Porém, há um ponto no qual não há mais parênquima renal suficiente para a resposta ao FGF23 e a hiperfosfatemia advém. Isso pode contribuir para distúrbios ósseos e fragilidade óssea(9,21). Concentrações elevadas de FGF23 são observadas precocemente em pacientes com DRC, sugerindo associação com aumento da mortalidade e progressão da doença. Essas alterações hormonais e metabólicas destacam a complexidade da fisiopatologia da DRC, e evidenciam a importância de um equilíbrio adequado desses elementos para a saúde renal e óssea (9).

Síndrome Urêmica

Um amplo espectro de toxinas se acumula no sangue paralelamente à diminuição da TFG, contribuindo para o desenvolvimento da chamada *síndrome urêmica*. Essas toxinas abrangem uma variedade de substâncias, incluindo aquelas hidrossolúveis, hidrofóbicas, ligadas a proteínas e produtos metabólicos não voláteis contendo nitrogênio. Não existe um marcador ideal para avaliar os níveis séricos das toxinas urêmicas (17,22).

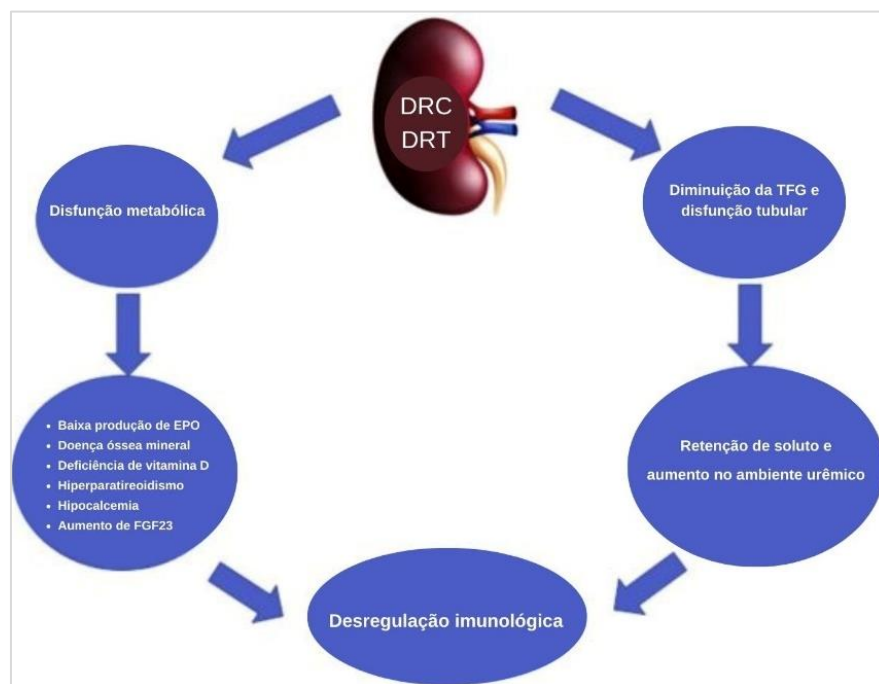
A síndrome urêmica representa amplas alterações no organismo. As funções metabólicas e endócrinas desempenhadas pelos rins também são afetadas. A presença dessas toxinas, ocasionam modificações irreversíveis da proteína e conseqüentemente ocasionam disfunção celular. Principalmente, podem ser afetadas as atividades enzimáticas, hormônios, lipoproteínas, anticorpos, receptores e transportadores de proteínas (17).

A DRC também está associada à inflamação sistêmica, como indicado pela elevação da proteína C-reativa (PCR), juntamente com uma diminuição de marcadores da fase aguda, como albumina (23). Em resumo, a síndrome urêmica envolve três principais pilares: i) distúrbios decorrentes do acúmulo de toxinas normalmente excretadas pelos rins; ii) anormalidades secundárias à perda das funções renais, tais como regulação hidroeletrolítica e hormonal, e iii) inflamação sistêmica progressiva com suas conseqüências vasculares e nutricionais (17).

Impacto da doença renal crônica na resposta imune

Diversos fatores desempenham um papel importante na presença da disfunção renal, contribuindo para o comprometimento da imunidade na DRC. Estes incluem estresse oxidativo, inflamação, envelhecimento imunológico precoce, doença metabólica renal, síntese reduzida de vitamina D, hipocalcemia, alterações no FGF-23, e ativação do sistema renina-angiotensina (**Figura 2**) (9,17).

Figura 2 - Efeitos da disfunção imunológica nos pacientes com DRC



Legenda: Vários fatores desempenham um papel crucial na presença da disfunção renal, contribuindo para o comprometimento da imunidade na doença renal crônica. Abreviação: DRC, doença renal crônica; EPO, eritropoietina; DRT, doença renal terminal; FGF23, fator de crescimento fibroblastos 23; TFG, taxa de filtração glomerular. **Fonte:** *Immune Dysfunction and Risk of Infection in Chronic Kidney Disease*, Maaz Syed-Ahmed and Mohanram Narayanan, 2019, (traduzida).

Em pacientes com DRC, os níveis hormonais estão aumentados, como o excesso crônico PTH, que afeta principalmente as funções dos leucócitos polimorfonucleares (PMNL) que está associada à redução da capacidade dos PMNL de responder eficazmente aos estímulos inflamatórios e à apoptose (9). A partir disso, ocorre mudanças no metabolismo e na função das células B, assim como as funções dos linfócitos T, resultando em alterações na imunidade celular (9,10).

Os linfócitos T auxiliares (*T-helper*), também conhecidos como células Th1, desempenham um papel crucial na regulação da resposta imunológica adaptativa, mediando a

ação de interleucinas como IL-12, e IFN- γ , que exercem impactos diversos sobre o sistema imunológico (24,25). Por outro lado, as células Th2, produzem principalmente IL-4 e IL-5 (9). A deterioração gradual da função renal está ligada a um impacto significativo na linhagem de células linfoides. Isso resulta na diminuição do número de células T e B virgens, aumento na diferenciação de células T e encurtamento dos telômeros, levando a uma imunidade mediada por células T comprometida. Esse cenário é associado a uma resposta vacinal deficiente e a maior suscetibilidade a infecções (24).

Considerando o papel vital do sistema imunológico na proteção, em pacientes pré-dialíticos, que são mais suscetíveis a infecções, foi constatada uma redução constitutiva na expressão do receptor *Toll-Like-4* (TLR4) (9,26). A redução na expressão do TLR4 tem sido associada a uma diminuição na síntese de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral (TNF), IL-1 β , IL-6 e IL-8. Os receptores *Toll-Like* (TLRs) representam uma família crucial de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) que desempenham um papel fundamental na detecção de agentes patogênicos e na ativação da resposta imune inata. Eles são expressos em várias células do sistema imunológico, como células dendríticas, macrófagos e células B. Os TLRs reconhecem uma ampla gama de moléculas associadas a patógenos, incluindo componentes microbianos específicos, como lipopolissacarídeos bacterianos, ácidos nucleicos virais e lipopeptídeos bacterianos, bem como moléculas liberadas por células hospedeiras danificadas (9,10,22).

A detecção desses padrões moleculares desencadeia uma cascata de eventos intracelulares que levam à produção de citocinas pró-inflamatórias, a ativação de células imunes e a expressão de moléculas coestimuladoras em células apresentadoras de antígenos, como células dendríticas. Essas respostas são essenciais para iniciar e regular a resposta imune do organismo contra infecções microbianas e outras ameaças (26,27).

Em pacientes em diálise, a baixa produção de IL-10 está associada ao aumento dos níveis de proteína C reativa (28,29). No ambiente urêmico, as células apresentadoras de antígenos estão funcionalmente alteradas, e a uremia, ao modificar moléculas coestimuladoras (CD80, CD86), reduz a capacidade de apresentação de antígenos de células dendríticas e macrófagos (22). Os níveis de eritropoietina (EPO), uma citocina glicoproteica secretada pelo rim em resposta à hipóxia celular, também estão diminuídos. A inflamação crônica, mediada por IL-1, TNF e IFN- γ , resulta em resistência ao tratamento com EPO, o que pode impactar a eritropoiese e conseqüentemente a anemia (10,30).

Outra alteração importante, é a redução na síntese de 1,25-dihidroxitamina D, a forma ativa da vitamina D, que desencadeia uma série de complicações no organismo, incluindo a

modulação do sistema imunológico, regulação das respostas inflamatórias e interferência no sistema renina-angiotensina (9).

A vitamina D desempenha diversas funções no sistema imunológico, influenciando tanto a resposta imune inata quanto a adaptativa. Sendo suas principais funções, i) modulação da resposta inflamatória, a vitamina D possui propriedades anti-inflamatórias, reduzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias, TNF e IL-6, o que contribui para o controle da resposta inflamatória; ii) regulação da função das células imunes modulação da função de diversas células do sistema imunológico, incluindo células dendríticas, macrófagos, linfócitos T e B (31,32). Ela promove a maturação e a atividade das células T regulatórias (*Tregs*), que são essenciais para manter a tolerância imunológica e prevenir respostas autoimunes excessivas; iii) ativação de receptores de defesa, são ativados receptores de vitamina D (VDRs) em células do sistema imunológico, desencadeando uma série de eventos moleculares que regulam a expressão de genes relacionados à resposta imune; iv) promoção da produção de peptídeos antimicrobianos, ocorre a estimulação da produção de peptídeos antimicrobianos, como a catelicidina e o beta-defensina, que desempenham um papel crucial na defesa contra infecções bacterianas, virais e fúngicas (33). Em resumo, a vitamina D exerce um papel fundamental na modulação da resposta imune, promovendo uma resposta equilibrada e eficaz contra infecções e inflamações, ao mesmo tempo em que auxilia na prevenção de respostas imunológicas excessivas ou autoimunes.

Vários estudos e meta-análises têm corroborado o papel preponderante da deficiência de vitamina D na incidência e susceptibilidade à tuberculose (34–37). É sabido que os monócitos e macrófagos possuem a capacidade de sintetizar a enzima CYP27B1 (1 α -hidroxilase), responsável pela conversão da forma inativa da vitamina D, 25-hidroxivitamina D3, em sua forma biologicamente ativa, 1,25-dihidroxivitamina D3 (38,39). Nesse sentido, essas células constituem funções primordiais para a ação da vitamina D em diversas condições patológicas, incluindo a tuberculose.

Como previamente mencionado, indivíduos com DRC apresentam diminuição na expressão do receptor TLR. Diversos receptores de superfície, tais como o receptor TLR 2, têm sido implicados no reconhecimento de micobactérias por células dendríticas (39,40). Estudos têm observado que os TLRs afetam quase todos os aspectos das estratégias de evasão imunológica adotadas pelo Mtb sendo a interrupção da fusão fagolisossomal, inibição de intermediários reativos de oxigênio e nitrogênio, inibição do apoptose de macrófagos infectados e a interferência na apresentação de antígenos. Foi demonstrado que, conforme a infecção se torna crônica, a sinalização repetida pelos antígenos processados Man-LAM e PIM, ambos

importantes agonistas de TLR, promove a parada da maturação fagossômica e a sobrevivência de micobactérias dentro do fagossomo (26,27,39). Portanto, a redução na expressão do receptor TLR em indivíduos com DRC pode comprometer a capacidade do sistema imunológico de reconhecer e combater eficazmente as micobactérias, favorecendo a sobrevivência e a persistência do Mtb no organismo.

Em uma revisão sistemática, constatou-se que pacientes nos estágios 1 a 5 da DRC, que ainda não necessitavam de diálise, apresentaram um risco relativo aumentado de TB em comparação com indivíduos sem DRC. Observou-se uma tendência de aumento na taxa de TB conforme progredia o estágio da DRC, sendo mais acentuada nos estágios 4 e 5 da doença(41). Além disso, infecções representam uma importante fonte de morbidade e mortalidade nesse grupo, independentemente do estágio da doença, devido à imunossupressão associada, que aumenta a suscetibilidade a infecções, como a ILTB (7).

É necessário estudos que abordem esse tema de forma mais abrangente, enfatizando a importância do rastreamento de ILTB nesses indivíduos. Evitando assim, o desenvolvimento para tuberculose ativa e piora do quadro clínico. Portanto, uma abordagem mais minuciosa e multidisciplinar é essencial no cuidado desses pacientes, visando não apenas preservar a função renal, mas também acompanhar os distúrbios imunológicos e as consequências associadas a essa condição.

Tuberculose

Epidemiologia

De acordo com o relatório da Organização Mundial da Saúde de 2023, aproximadamente 7,5 milhões de indivíduos foram diagnosticados com tuberculose, e uma estimativa de que cerca de 10,6 milhões de casos e 1,3 milhões de óbitos no mundo (42,43). O advento da crise sanitária e social agravada pela pandemia de COVID-19 teve um impacto profundamente negativo no acesso aos serviços de diagnóstico e tratamento da TB, refletindo numa redução “irreal” do número de casos. Os avanços alcançados nos anos anteriores na implementação de medidas para diminuição de casos, na pandemia estagnaram ou retrocederam (43).

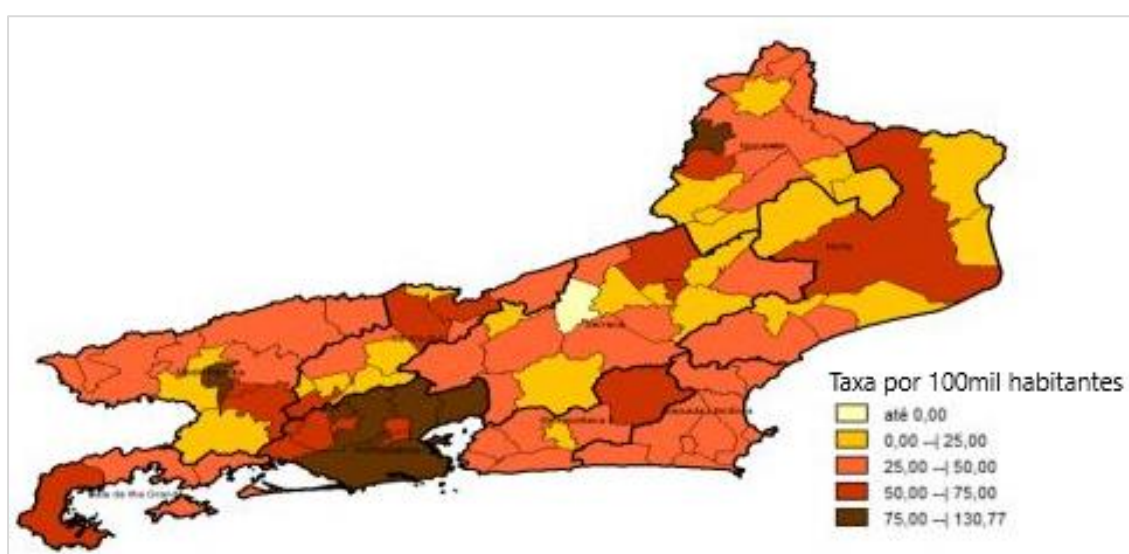
No decorrer do primeiro ano da pandemia, estima-se que aproximadamente 10,1 milhões de indivíduos tenham desenvolvido TB em nível global. Entretanto, somente 5,8 milhões desses casos (57,4%) foram diagnosticados e notificados, representando uma redução

de 18% em relação ao ano de 2019, quando antes os países relataram 7,1 milhões de casos dos 10 milhões estimados (71%). No ano subsequente, em 2021, o número de pessoas acometidas pela TB foi de 10,6 milhões, das quais 6,4 milhões (60,4%) foram notificadas, indicando uma melhora parcial na subdetecção de casos de TB ao nível mundial (3).

No Brasil, também, conseguimos observar essa subnotificação, visto que houve uma redução de 12,1% na incidência da doença, com 37,9 casos por 100 mil hab. em 2019, em paralelo aos 33,3 casos por 100 mil hab. em 2020. Em 2022 os números voltaram a subir com 38,0 casos por 100 mil hab., 81.604 casos novos, provavelmente devido ao retorno da rotina diagnóstica e de acompanhamento nos centros de saúde. Em 2023, foram observados 37,0 casos por 100 mil hab., 80.012 casos novos. Entre as populações em situação de vulnerabilidade, a coinfeção TB-HIV (vírus de imunodeficiência humana) passou de 8,6% em 2022 para 9,3% em 2023 (3,42).

Os Estados do Amazonas, Roraima e Rio de Janeiro, destacam-se por apresentarem taxas de incidência de tuberculose particularmente elevadas e superiores à média nacional, indicando regiões de alta endemicidade e maior risco de adoecimento pela doença. Na **Figura 3**, é possível visualizar a distribuição das incidências dos casos de tuberculose nos municípios do estado Rio de Janeiro- RJ, durante o ano de 2019. Embora existam variações em alguns municípios, a incidência é semelhante em todas as regiões (44).

Figura 3 - Taxa de incidência de tuberculose no Estado do Rio de Janeiro no ano de 2019



Fonte: Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro, Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Acesso em 01 de fevereiro de 2021.

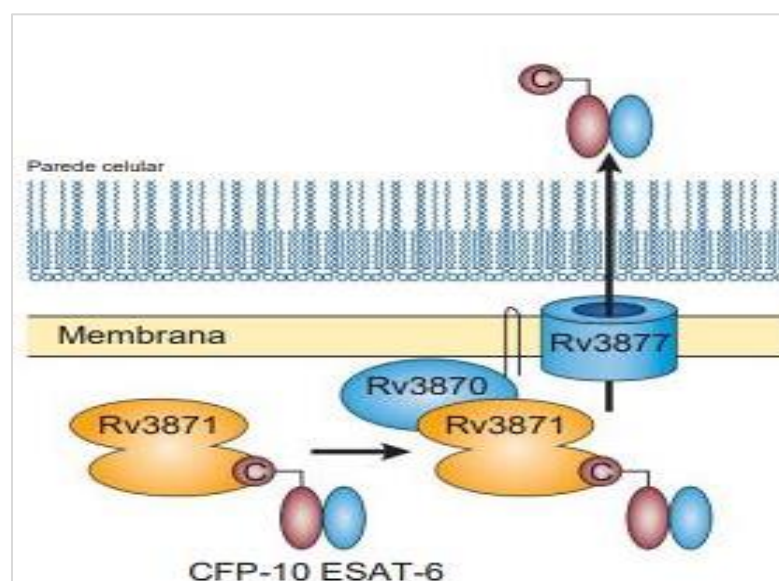
Agente etiológico e transmissão

Mycobacterium tuberculosis, também conhecido como bacilo de Koch (BK), é o agente etiológico da tuberculose. O Mtb é uma micobactéria, sendo um bacilo álcool-ácido resistente (BAAR), morfologia fina, ligeiramente curva e com dimensões variando de 0,5 a 3µm. O bacilo é aeróbio e possui uma parede celular composta por uma matriz rica em lipídios, conferindo-lhe baixa permeabilidade. Essa característica não apenas diminui a eficácia de muitos antibióticos, como também facilita sua sobrevivência nos macrófagos (45,46).

Um dos principais determinantes da patogenicidade da Mtb reside na região de RD1, presente no seu genoma, mas ausente no genoma da cepa vacinal atenuada *Mycobacterium bovis* BCG (47,48). O cromossomo da região RD1 codifica o principal fator de virulência secretado, o ESAT-6 (49) (**Figura 4**). O ESAT-6 desempenha várias funções cruciais no Mtb, incluindo atividade lítica da membrana, causando danos às células epiteliais alveolares e macrófagos (47,48), além de desestabilizar o fagolisossomo, permitindo que o Mtb transloque do fagossomo para o citosol. Foi demonstrado que o ESAT-6 secretado induz a apoptose de macrófagos, parcialmente relacionada à regulação positiva da atividade da caspase (50) e ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio, eventualmente levando à apoptose induzido pelo estresse do retículo endoplasmático (51). Além disso, a expressão ectópica da proteína de fusão ESAT-6 e CFP-10 pode regular a formação de autofagossomas, modulando a expressão de genes relacionados à autofagia (52,53).

A transmissão da tuberculose ocorre por meio da inalação de aerossóis infectados, resultantes da tosse, espirro ou fala de indivíduos com a doença ativa. Uma vez dentro do organismo, o Mtb tem preferência pelas vias respiratórias, e se instala do ápice do pulmão, onde se prolifera e desencadeia a doença. Essa afinidade com os pulmões também contribui significativamente para sua alta taxa de transmissibilidade (45,46). O risco de adoecimento e evolução para a tuberculose ativa após a infecção vai depender de inúmeros fatores, como a resposta do sistema imune do hospedeiro, idade avançada, uso de medicamentos imunossupressores e algumas comorbidades subjacentes. Estudos indicam que indivíduos saudáveis apresentam aproximadamente 30% de chance de serem infectados pelo Mtb variando conforme o grau de exposição, contato próximo com indivíduos bacilíferos, infectividade do caso índice (quantidade de bacilos expelidos) e virulência da cepa (45).

Figura 4 - Sistema de secreção antígeno específica da Mtb codificado pela região RD1.



Legenda: O Rv3871 interage com o ESAT-6 e o CFP-10. Posteriormente, o Rv3871 interage com o Rv3870, um componente do sistema secretor ligado à membrana, ancorando todo o complexo à membrana. Fonte: Behr, M., Sherman, D. Mycobacterial virulence and specialized secretion: same story, different ending. *Nat Med* **13**, 286–287 (2007).

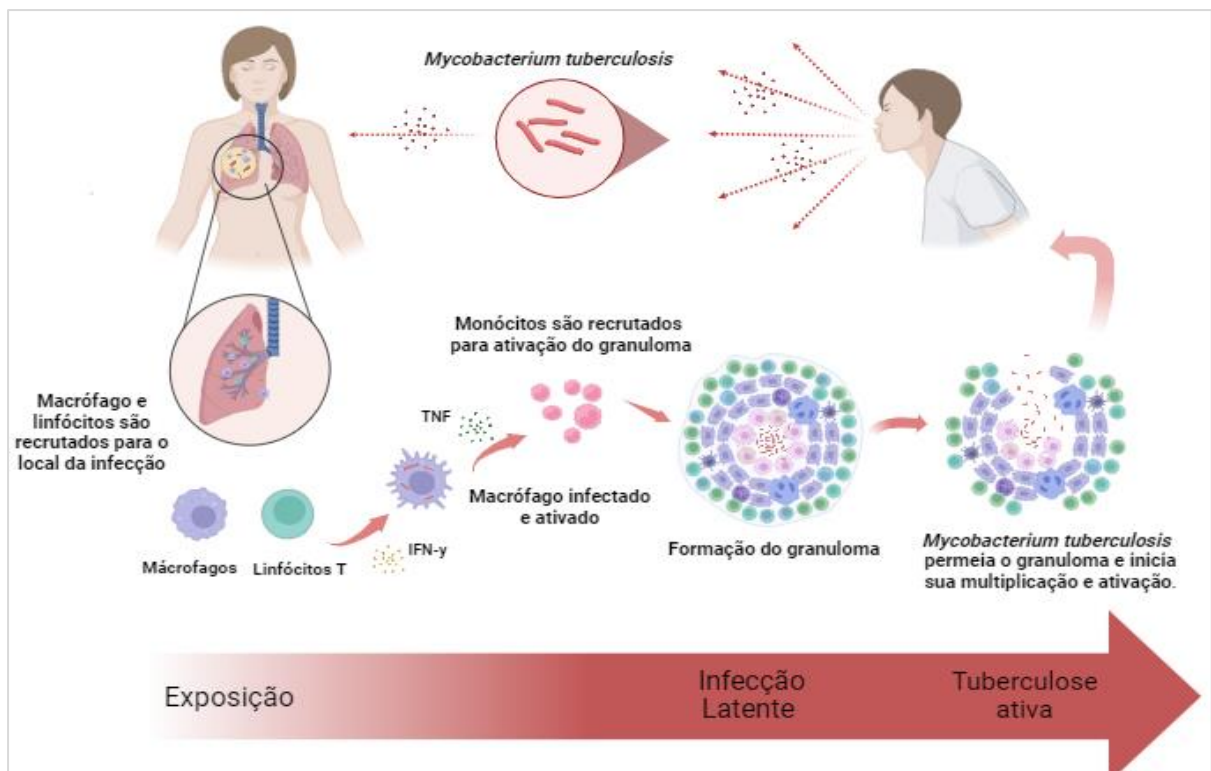
Mecanismos imunológicos

O estabelecimento da infecção pelo Mtb ocorre a partir da inalação de gotículas contaminadas contendo o agente infeccioso. Após um período de replicação e disseminação, instaura-se uma resposta imunológica que resulta na contenção de bacilos viáveis. Estes, então, entram em um estado de dormência, podendo eventualmente ser reativados (2,46). Após a entrada no organismo através das vias aéreas superiores, a micobactéria estabelece-se preferencialmente no ápice do pulmão (45). Este evento desencadeia a ativação da resposta imune inata, caracterizada pelo recrutamento imediato de células efetoras, sendo o macrófago alveolar o primeiro a ser mobilizado para o local da infecção (3) (**Figura 5**). O Mtb, como patógeno intracelular, inicialmente invade as células epiteliais alveolares, notadamente os pneumócitos I e II, após a inalação de gotículas contendo o bacilo (13,54). Os macrófagos alveolares desempenham um papel primordial na defesa do hospedeiro contra o Mtb, atuando na fagocitose e eliminação da micobactéria. Essa fagocitose é mediada por receptores de reconhecimento padrão (PRRs), que podem ser inativados por algumas proteínas reativas do Mtb, como o antígeno ESAT-6 (55). Além disso, a infecção desencadeia uma resposta imune caracterizada pela liberação de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos alveolares, incluindo TNF, IL-1 β , IL-6, IL-23 e fatores quimiotáticos para granulócitos. Esses

eventos constituem os primeiros estágios da interação entre o hospedeiro durante a infecção pulmonar (13).

Embora o macrófago exerça sua função fagocítica sobre o bacilo, sua capacidade de eliminação é limitada. Essa limitação está em parte associada à habilidade do microrganismo em interferir nas respostas microbicidas do hospedeiro, inibindo a fusão entre lisossomos e vacúolos fagocíticos (56). Tal interferência promove a sobrevivência e replicação do Mtb no ambiente extracelular, contribuindo substancialmente para a patogênese da tuberculose. Isso resulta na produção de citocinas, quimiocinas e mediadores inflamatórios, tais como, IFN- γ , IL-12, CXCL-10/ IP-10 entre outros (3,4). As citocinas produzidas principalmente pelos macrófagos alveolares, pneumócitos e linfócitos atraem a primeira rodada de células inflamatórias, ou seja, neutrófilos, macrófagos derivados de monócitos, células NK e células que promovem ainda mais a inflamação e a remodelação tecidual (1,57).

Figura 5 - Modelo representativo da tuberculose como um espectro.



Legenda: na maioria dos indivíduos expostos ao *M. tuberculosis*, os mecanismos de resposta imune celular são capazes de eliminar completamente ou neutralizar a infecção a partir da formação de granulomas. Fonte: O próprio autor. Ferramenta de edição *BioRender*, 2024.

Sabe-se que a imunidade celular é o principal mecanismo de defesa contra a tuberculose é representada principalmente pelos linfócitos T CD4⁺ capazes de produzir altas concentrações

de IFN- γ frente ao bacilo (13,56). Inúmeras ações são descritas para o IFN- γ , tais como: *i*) ativação dos macrófagos para liberação de uma diversidade de mediadores, *ii*) ativação e diferenciação de monócitos em “células epitelióides” que, finalmente, caracterizam a resposta granulomatosa na tuberculose, *iii*) expressão da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS), responsável por aumentar os níveis de óxido nítrico (NO) e, conseqüentemente, a atividade bactericida local (56) *iv*) indução de autofagia, processo de destruição de componentes celulares danificados e patógenos intracelulares, como o Mtb, *v*) formação e manutenção do granuloma (1,56).

A principal função do granuloma é conter a proliferação micobacteriana. Logo, alguns indivíduos desenvolvem imunidade parcial à tuberculose permanecendo assintomáticos e sem capacidade de disseminar a doença, sendo considerados indivíduos com ILTB (1,46). No entanto, cerca de 5-15% dos indivíduos infectados, não irão conseguir conter a multiplicação do bacilo, resultando na progressão para a TB ativa (58). O granuloma é uma estrutura altamente organizada e compacta, composta por uma variedade de células altamente ativas e diferenciadas. Estas incluem células gigantes multinucleadas do tipo Langhans, que são cercadas por um anel de linfócitos, células epitelioides (macrófagos diferenciados) e macrófagos (59). É bem estabelecido que deficiências na resposta imune protetora ou qualquer distúrbio nesta resposta podem levar à formação de granulomas deficientemente estruturados e à incapacidade de resistência ao bacilo, resultando no avanço para a tuberculose ativa (56).

Manifestações clínicas e diagnóstico

A tuberculose pulmonar é a forma mais comum e conhecida da tuberculose, causada pela infecção do Mtb nos pulmões. É caracterizada pela presença de sintomas como tosse persistente por mais de duas semanas, acompanhada de expectoração, febre, suores noturnos, perda de peso e fadiga. As manifestações extrapulmonares apresentam sinais e sintomas específicos que dependem dos órgãos ou sistemas afetados. A incidência dessas formas da doença é mais comum em pacientes coinfectados pelo HIV, e entre aqueles indivíduos com comprometimento imunológico grave. Entre as formas mais frequentemente diagnosticadas na nossa população estão a tuberculose pleural, ganglionar periférica, meningoencefálica, pericárdica e óssea (3,45).

A tuberculose primária, que ocorre logo após a infecção pelo Mtb, é mais comum em crianças e em pacientes com condições imunossupressoras. Geralmente, apresenta uma forma grave, mas com baixa transmissibilidade. Em outros casos, o sistema imunológico consegue controlar a infecção. Os bacilos podem permanecer em estado latente (*infecção latente por M.*

tuberculosis – *ILTB*) por muitos anos até que ocorra a reativação, resultando na tuberculose pós-primária (ou secundária). Em aproximadamente 80% dos casos, a doença afeta os pulmões, frequentemente com a formação de cavidades. A reinfeção pode ocorrer com uma nova exposição, sendo mais comum em áreas com alta prevalência da doença (2,12).

Existem diversos métodos diagnósticos para detectar tuberculose ativa, cada um com suas vantagens e limitações: i) cultura de amostras respiratórias: considerado o padrão ouro, a cultura de amostras respiratórias é altamente sensível, mas demora cerca de 40 dias para obter o resultado. Em casos paucibacilares, como formas extrapulmonares, pode resultar em falsos negativos; ii) baciloscopia: este método consiste no exame microscópico direto de amostras respiratórias, como escarro, lavado broncoalveolar (LBA) e líquido pleural (LP), em busca de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR). No entanto, a sensibilidade da baciloscopia pode ser afetada pela qualidade da amostra e pela carga bacilar; iii) testes moleculares: o *GeneXpert* MTB/RIF é um exemplo de teste rápido molecular que detecta o DNA do *Mtb* e a resistência à rifampicina em amostras respiratórias. Apesar de sua alta sensibilidade e especificidade, o *GeneXpert* MTB/RIF é mais caro em comparação com a baciloscopia e outros métodos convencionais (45).

Além dos métodos laboratoriais, os diagnósticos de imagem desempenham um papel crucial na detecção da tuberculose. A radiografia de tórax pode identificar sinais de infecção pulmonar, como infiltrados, lesões cavitárias no lobo superior, enquanto a tomografia computadorizada (TC) oferece imagens mais detalhadas e pode detectar lesões pulmonares menores e complicações da tuberculose, como linfadenopatia mediastinal ou derrame pleural (2).

Outros testes diagnósticos incluem a Prova Tuberculínica (ou PPD), o QuantiFERON-TB Gold-Plus (QFT-Plus) e o T-SPOT TB – os quais serão discutidos mais à frente, que avaliam a sensibilidade do hospedeiro aos antígenos do *Mtb*. Normalmente esses, são utilizados em pessoas assintomáticas para identificar a presença da *ILTB*, especialmente em indivíduos com maior risco de evoluir para a tuberculose ativa. Porém é importante observar que esses testes imunológicos não conseguem distinguir entre tuberculose ativa e *ILTB* (13,45).

O diagnóstico precoce de tuberculose é de suma importância devido à sua elevada morbidade, mortalidade e capacidade de disseminação na comunidade. Apesar da *ILTB* ser assintomática e não transmitir a doença, sua detecção assume um papel crucial na prevenção da tuberculose ativa, especialmente em indivíduos considerados de grupos de risco. Identificar e tratar profilaticamente indivíduos com *ILTB* pode evitar a progressão para a TB ativa no futuro, redução da carga do *Mtb* na população, bem como dos custos associados ao tratamento de casos

mais graves e possíveis complicações clínicas. Portanto, estratégias de diagnóstico e tratamento profilático, para ILTB, é essencial para o controle efetivo da doença e para alcançar as metas globais de eliminação da tuberculose.

Tuberculose latente

Com o avanço da ciência e da tecnologia, a compreensão da definição da ILTB foi se aperfeiçoando continuamente por um longo período. A evolução da definição de ILTB pode ser dividida em três etapas: macropatologia, bacteriologia e imunologia. Somente em 1999, a American Thoracic Society (ATS) emitiu diretrizes para o tratamento da ILTB e usou o termo “infecção latente por tuberculose” (60). Desde então, testes imunológicos para tuberculose, como a prova tuberculínica, foram cruciais no diagnóstico de infecção de ILTB. Anos após, ocorreu a alteração destas diretrizes, e a definição de ILTB foi alterada para “um estado de resposta imune persistente aos antígenos da Mtb sem evidências clínicas da tuberculose ativa (61). Essa definição de ILTB foi reconhecida pela OMS e utilizada nas “Diretrizes sobre o Manejo da Infecção Latente por Tuberculose” (13). Logo, o entendimento sobre a ILTB passou por três fases: o diagnóstico anatômico no século XIX, o diagnóstico bacteriológico no século XX e o diagnóstico imunológico no século XXI. Com esses progressos, adquirimos uma compreensão mais aprofundada sobre o mecanismo da doença, diagnóstico e tratamento de uma infecção assintomática de forma mais eficaz (13).

Infecção e reativação

Estima-se que aproximadamente um quarto da população mundial está infectada de forma latente pelo Mtb (3). A duração da fase latente da doença é variável e alguns indivíduos podem abrigar a infecção ao longo de suas vidas. Aproximadamente de 5% a 15% da população saudável corre o risco de reativação da doença, geralmente dentro dos primeiros 2 a 5 anos após a infecção inicial (6,8). Logo após a contaminação, a resposta de células imunológicas dura de 2 até 8 semanas para inibir a replicação do bacilo. Nesse período, os linfócitos T são ativados e diferenciam-se em várias subpopulações, incluindo células Th1 positivas para interferon-gama (IFN- γ) (células T CD4+), linfócitos T citotóxicos (células T CD8+), células Th17, células Th2 e células T reguladoras (Tregs) (13,54).

Essas células ativadas desempenham importantes papéis na resposta imunológica. As células efetoras são recrutadas e encaminhadas para a circulação sanguínea e direcionadas para

o local da infecção. Nessa etapa, a formação dos granulomas é iniciada e os resultados dos testes tuberculínicos e do ensaio de liberação de interferon-gama (IGRA) podem se tornar positivos (1,13).

Para que ocorra a reativação do foco infeccioso, requer que o Mtb no interior de macrófagos saia da fase de inativação (1,13). Portanto, os indivíduos com ILTB exercem um papel significativo como potenciais reservatórios para o surgimento de novos casos de TB ativa (9).

Populações de risco

Embora cerca de 5% a 15% da população saudável apresente risco de desenvolver TB ativa, diversas comorbidades estão associadas ao risco aumentado de progressão para TB ativa (45). O Ministério da Saúde alerta a importância do diagnóstico de ILTB para determinadas populações que apresentam risco elevado de reativação da ILTB e evolução para TB ativa. Indivíduos infectados pelo HIV necessitam de bastante atenção, mesmo com tratamento antirretroviral e estabilidade do quadro clínico (45). Outras comorbidades e condições associadas à ILTB são classificadas em diferentes níveis de risco, variando de alto a muito baixo, dependendo dos fatores de risco associados (62,63).

Na categoria de alto risco, incluem-se pacientes com doença renal crônica em hemodiálise (64) pacientes submetidos a transplantes e em uso de imunossupressores (65), além de pacientes com silicose entre outros. Em risco moderado, estão pacientes tratados com inibidores do TNF- α ou glicocorticoides e pessoas com DM (46,66). Indivíduos etilistas, tabagistas, baixo peso ou desnutrição têm um risco ligeiramente aumentado de reativação (45,66). A incidência de tuberculose é mais elevada entre esses grupos do que na população em geral (2). Uma característica comum entre a maioria dessas condições que aumentam o risco de reativação é a baixa da resposta imune.

O uso dos medicamentos conhecidos como "imunobiológicos" está cada vez mais comuns, principalmente em pacientes com condições como artrite reumatóide, doenças inflamatórias intestinais e aqueles que passaram por transplante renal (45). No entanto, é importante observar seus efeitos na resposta imunológica do hospedeiro em relação ao Mtb. Os imunobiológicos têm o potencial de inibir vias importantes da resposta do hospedeiro ao Mtb. Por exemplo, drogas anti-TNF, como o infliximabe, são capazes de suprimir a atividade desta citocina, a qual desempenha um papel crucial tanto na formação quanto na manutenção do granuloma (67). Este fenômeno pode comprometer a capacidade do organismo de conter a

infecção pelo Mtb, aumentando o risco de reativação da doença. Portanto, o uso desses medicamentos requer uma cuidadosa avaliação (62).

É amplamente reconhecido que a identificação e o tratamento profilático da ILTB podem reduzir significativamente o risco de desenvolvimento da TB ativa, com estratégias cruciais para seu controle (46). Portanto, o desenvolvimento de testes eficazes para identificar indivíduos com risco aumentado de progressão para TB ativa é urgentemente necessário. No entanto, até o momento, não existe um teste padrão-ouro específico para diagnosticar ILTB (46,47).

Testes diagnósticos de tuberculose latente

Como mencionado, não há padrão-ouro para o diagnóstico de ILTB e, aqueles que existentes indicam uma resposta indireta da infecção por meio de métodos imunológicos que determinam a sensibilidade do hospedeiro aos antígenos do Mtb. Atualmente, existem dois testes padronizados reconhecidos pela OMS para diagnóstico de ILTB: o PPD e os IGRAs, ambos os métodos dependem da resposta imune celular (13,46,62).

O PPD consiste na inoculação intradérmica da tuberculina (derivado proteico purificado do Mtb) para medir a resposta imune celular e baseia-se em medir em milímetros a resposta gerada no local da inoculação (46,66). Os IGRAs, QuantiFERON®-TB (QFT; QIAGEN) e T-SPOT.TB® (Oxford Immunotec, Abingdon, Reino Unido), caracterizam-se por serem capazes de medir a produção de IFN- γ pelos linfócitos T a partir de antígenos específicos do Mtb (ESAT-6 e CFP-10) no sangue. Ambos os testes são eficazes, porém o PPD acaba sendo pouco específico, principalmente em vacinados contra o bacilo da BCG. Em contrapartida, os IGRAs têm se mostrado úteis na detecção de ILTB em pacientes imunocomprometidos, especialmente naqueles que foram vacinados com a BCG (13,46).

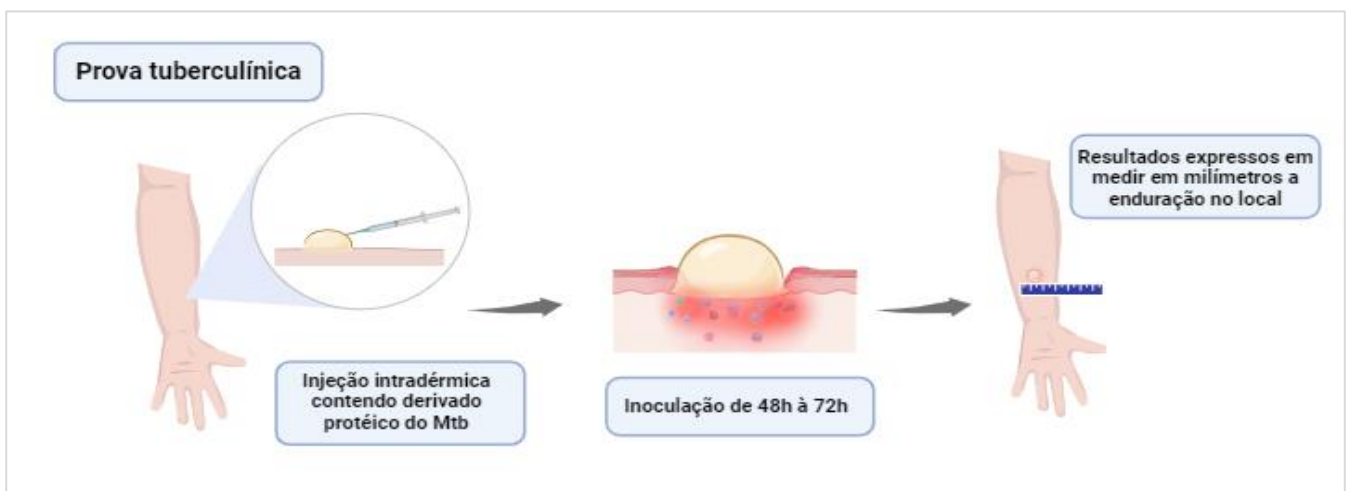
A radiografia de tórax desempenha um papel importante no diagnóstico da ILTB. As alterações radiográficas mais comuns que sugerem a infecção incluem nódulos não calcificados, nódulos calcificados, bronquiectasias, cicatrizes fibrosas e espessamento pleural. No entanto, é importante ressaltar que essas alterações não são específicas e podem ser encontradas em outras doenças pulmonares, incluindo aquelas causadas por infecções por micobactérias não tuberculosas (MNTs) (45,58).

Para que o achado radiológico seja considerado significativo, é essencial avaliá-lo em conjunto com o histórico clínico do paciente e outros métodos diagnósticos disponíveis (58). Além da radiografia de tórax, outros exames complementares, como o PPD e/ou IGRAs e a

avaliação clínica do paciente, são fundamentais para confirmar o diagnóstico ILTB. Portanto, uma abordagem integrada e multidisciplinar é crucial para garantir um diagnóstico preciso.

O PPD é o método diagnóstico de ILTB pioneiro no início do século XX por Clemens von Pirquet, um pediatra que trabalhava em Viena, Áustria (45). Em 1907, ele observou que pacientes com TB ativa frequentemente apresentavam reações cutâneas quando expostos à tuberculina, um derivado proteico do Mtb. Von Pirquet percebeu que essas reações cutâneas indicavam uma sensibilidade específica à infecção. Então, ele desenvolveu a prova tuberculínica. O derivado protéico era aplicado na parte superficial da pele e se observou a prevalência de reações cutâneas positivas em crianças atendidas em sua clínica. As reações cutâneas positivas foram subsequentemente associadas a um risco aumentado de desenvolver tuberculose ativa (45,56). O método diagnóstico consiste na inoculação intradérmica de 2 unidades de tuberculina (derivado proteico purificado de Mtb) para medir a resposta imune celular a esses antígenos. A leitura é baseada em uma reação de hipersensibilidade cutânea (tipo IV) após a aplicação, e o resultado se baseia em medir em milímetros a resposta gerada no local da inoculação após 48-72 horas, dada por endureção local (**Figura 6**) (46,68).

Figura 6 - Esquema sobre a aplicação e leitura da prova tuberculínica



Legenda: a interpretação é fundamentada na reação cutânea após a administração do purificado proteico do Mtb, enquanto o resultado é determinado pela mensuração, em milímetros, da resposta gerada na área de inoculação após 48-72 horas. Essa resposta é caracterizada pela presença de uma endureção local. Fonte: O próprio autor. Ferramenta de edição *BioRender*, 2024.

A popularidade do teste para detecção de ILTB decorre de sua relativa baixa complexidade e custo, além de não requerer instalações laboratoriais sofisticadas, o que o torna acessível tanto para uso na prática clínica quanto em estudos epidemiológicos. No entanto, o teste apresenta

limitações significativas. Por exemplo, os pacientes geralmente precisam comparecer a duas consultas separadas - uma para a aplicação do teste e outra para a leitura dos resultados. Além disso, indivíduos imunossuprimidos podem apresentar resultados falso-negativos, enquanto aqueles vacinados com BCG podem apresentar resultados falso-positivos (13,46,68).

É considerada infecção latente o indivíduo que tiver resultado igual ou superior a 5 mm. Porém, ocorre uma sensibilidade variável em determinadas situações, o resultado igual ou superior a 10 mm em crianças (< 10 anos) que tiveram contato e vacinadas com a BCG há menos de 2 anos, indivíduos com baixo peso (< 50 anos), tabagistas (< 50 anos), indivíduos com DM (< 65 anos) e indivíduos com DRC ou em diálise deve ser interpretado como sugestivo de infecção por Mtb (46).

O avanço na geração de métodos diagnósticos mais específicos para ILTB foi viabilizado por meio de pesquisas sobre a região do cromossomo *M. tuberculosis* (RD1), ausente no *M. bovis*, utilizado na vacina BCG (69). Essa região codifica dois antígenos específicos do Mtb, conhecidos como ESAT-6 e CFP-10 (13,47). Essas proteínas fazem parte da família ESAT-6 de pequenas proteínas secretadas, encontradas nos filtrados de culturas específicas do bacilo. Ambas as proteínas são consideradas antígenos imunodominantes, reconhecidas pelas células imunes presentes no sangue periférico da maioria dos pacientes com tuberculose (70).

A capacidade das células mononucleares do sangue periférico (PBMC) de secretar interferon-gama (IFN- γ) em resposta à estimulação com ESAT-6 e CFP-10 tem sido associada à exposição ao Mtb. Essa descoberta impulsionou o desenvolvimento de ensaios comerciais de liberação de IFN- γ (IGRAs), nos quais o sangue total ou as PBMCs são estimulados com antígenos codificados por RD1, com a quantificação das respostas de IFN- γ como testes imunológicos (13). Portanto, foram desenvolvidos os IGRAs como ferramenta imunodiagnóstico para identificação de ILTB. Esses exames caracterizam-se por serem capazes de medir resposta de memória frente a antígenos específicos do Mtb (ESAT-6 e CFP-10) (62) não compartilhados pela cepa vacinal BCG. Sendo dois tipos de IGRAs: QuantiFERON®-TB (QFT-GIT, QIAGEN, GmbH, Hilden, Alemanha) e T-SPOT.TB® (Oxford Immunotec, Abingdon, Reino Unido), (13) sendo apenas o primeiro comercializado Brasil.

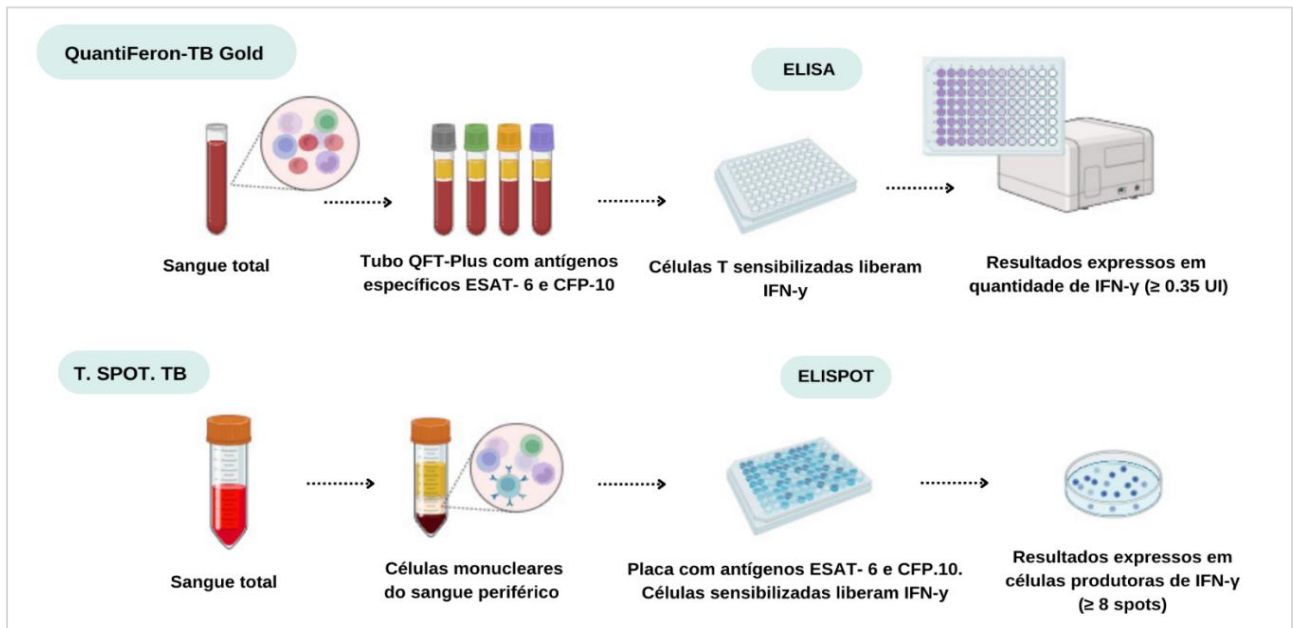
O T-SPOT.TB® é um método imunoenzimático baseado em pontos (ELISPOT), uma técnica que permite a detecção e a contagem de células produtoras de IFN- γ . Este teste envolve a manipulação do sangue periférico inicialmente fracionado para obtenção de células mononucleares (PBMC), que são posteriormente estimuladas com os antígenos ESAT-6 e CFP-

10 em uma placa de cultura específica (13). Durante o procedimento, avalia-se o número de células formadoras de pontos (*spots*) que produzem IFN- γ em resposta à estimulação com esses antígenos específicos (**Figura 7**) (71,72). Os resultados são interpretados por meio da subtração da contagem dos *spots* no controle negativo pela contagem de *spots* nos poços sensibilizados com os antígenos do Mtb, permitindo assim a mensuração da proporção de células produtoras de IFN- γ . Diferentemente do teste QFT-Plus, no T-SPOT.TB® não são avaliados os níveis de IFN- γ , mas sim a presença e quantidade de células produtoras desta citocina. Considera-se infectado o paciente que apresentar uma contagem igual ou superior a 8 *spots* (71).

O ensaio QFT-GIT, já descontinuado, era composto por 3 tubos (controle positivo, negativo e TB), sendo o último caracterizado pela estimulação e liberação de IFN- γ somente das células T CD4+ com três antígenos do Mtb, incluindo ESAT-6, CFP 10 e TB7.7 (73). Em 2015, foi projetado o QuantiFERON-TB Gold-Plus (QFT-Plus, 4ª geração, QIAGEN, MD, Estados Unidos) que consiste em 4 tubos: Nil (tampa cinza) controle negativo, Mitógeno (tampa roxa) controle positivo, tubo TB1 (tampa amarelo) e TB2 (tampa verde) que possuem antígenos específicos do Mtb (ESAT-6 e CFP-10). O tubo TB1 foi projetado para induzir a resposta específica das células T CD4+ frente aos antígenos específicos. Enquanto o tubo TB2 é capaz de estimular tanto as respostas das células T CD4+, como também das células T CD8+. O QFT-Plus é realizado a partir de sangue periférico coletado diretamente nos tubos, e consiste na medição *in vitro* da capacidade de produção de IFN- γ pelos linfócitos T por ensaio imunoenzimático (ELISA) (**Figura 7**) (13).

Embora o QFT-Plus não diferencie TB ativa e ILTB, é mais específico, pois detecta a produção de IFN- γ quando estimulado com os antígenos específicos apresentados em qualquer um dos tubos TB1 e/ou TB2 (13). Enquanto na prova tuberculínica, os antígenos utilizados são compartilhados por outras micobactérias e os falsos-positivos podem ser recorrentes (68). Apesar de não alcançarem uma precisão de 100%, os IGRAs demonstraram uma sensibilidade de 98,0% e uma especificidade de 72% (72). Sua utilidade tem sido evidente, especialmente em pacientes imunocomprometidos com disfunção de células T, incluindo aqueles que receberam a vacinação BCG (8).

Figura 7 - Diferenças técnicas na realização dos ensaios de produção de interferon-gama



Legenda: Os IGRAS precisam de uma infraestrutura e equipamentos especializados para sua realização. Ambos utilizam sangue como amostra, entretanto, divergem em algumas metodologias como a utilização do ensaio imunoenzimático ELISA e o ELISPOT. Fonte: O próprio autor. Ferramenta de edição *BioRender*, 2024.

Os métodos diagnósticos disponíveis, como a prova tuberculínica, QFT-plus e o T-SPOT.TB, desempenham um papel fundamental na identificação de indivíduos com ILTB (13,46) permitindo que intervenções terapêuticas sejam iniciadas. Investir em estratégias de diagnóstico e tratamento profilático da ILTB é essencial para reduzir a incidência de TB ativa e suas consequências para a saúde pública.

Tratamento profilático

O tratamento da ILTB representa uma estratégia essencial na prevenção do desenvolvimento da doença em populações com risco elevado, como contatos de casos de tuberculose pulmonar bacilífera, pessoas vivendo com HIV e indivíduos com comprometimento imunológico, como aqueles com doença renal crônica em estágios avançados. De acordo com as projeções da OMS, a prevenção da TB ativa por meio do tratamento da ILTB é uma das principais estratégias para reduzir a taxa de incidência da doença, contribuindo para o alcance das metas estabelecidas pela “Estratégia pelo Fim da Tuberculose” (3,45,46).

Estudos indicam que o tratamento da ILTB com isoniazida (H) reduz o risco de desenvolver TB ativa em 60% a 90%. Essa variação na eficácia está relacionada à duração e à

adesão ao tratamento. Além da isoniazida, pesquisas com outros medicamentos têm demonstrado resultados similares, porém com perfil de segurança mais favorável, caracterizado por uma menor incidência de efeitos adversos graves. Isso amplia as opções de esquemas terapêuticos disponíveis para o tratamento da ILTB (3,45,46).

A indicação preferencial para o uso da isoniazida como fármaco de escolha no tratamento da ILTB baseia-se na ampla experiência de sua utilização. No entanto, em pacientes com hepatopatias, crianças com menos de 10 anos de idade, indivíduos com mais de 50 anos de idade ou naqueles que apresentam intolerância à isoniazida, deve-se considerar a priorização de outros regimes terapêuticos. Recentemente, o tratamento foi atualizado para o uso da isoniazida e rifapentina (P), durante três meses, conforme orientações do Ministério da Saúde (2).

O tratamento profilático, realização de testes diagnósticos de forma rotineira em pacientes nos estágios avançados da DRC, antes da necessidade de TRS, podem ser benéficas para prevenir o desenvolvimento da tuberculose. Essa abordagem pode superar os desafios associados ao tratamento tardio, diagnóstico e agravamento do quadro clínico antes da necessidade de TRS, potencialmente evitando óbitos relacionados à TB (7).

Diante desse contexto, o objetivo desse estudo, foi investigar a tuberculose latente utilizando o ensaio de produção de interferon-gama (IGRA) e da proteína de 10kDa induzida por interferon (IP-10/CXCL-10) em pacientes com doença renal crônica. Acreditamos que os resultados desse estudo, podem ser valiosos na atenção primária a esses pacientes, contribuindo para um manejo clínico mais rigoroso, a possibilidade de tratamento profilático e a interrupção da progressão para tuberculose ativa.

1. JUSTIFICATIVA

Como previamente discutido, as infecções representam uma fonte substancial de morbidade e mortalidade em pacientes com doença renal crônica, independentemente do estágio da doença (7,9), incluindo a infecção latente pelo Mtb. Essa condição não apenas agrava a condição primária do paciente, mas também desempenha um papel significativo na disseminação da tuberculose (46). Apesar da associação entre doença renal e tuberculose ser documentada, os estudos disponíveis são marcados por sua heterogeneidade e escassez. Assim, à medida que os testes diagnósticos evoluem e novos marcadores emergem, torna-se imperativo conduzir pesquisas mais abrangentes e específicas nesta população de estudo.

Essa associação entre ILTB e doença renal crônica está intimamente relacionada à complexidade do sistema imunológico desses indivíduos, a qual é exacerbada pela progressão da disfunção renal (9). Este fenômeno é primariamente atribuído à deterioração da função renal, em conjunto com uma variedade de fatores que influenciam a resposta imunológica (9). Diante deste contexto, é essencial ressaltar que o tratamento profilático e o diagnóstico precoce da ILTB desempenham papéis cruciais no manejo clínico e epidemiológico da população afetada (7). Embora o PPD tenha sido amplamente utilizado para diagnóstico de ILTB, há uma crescente adoção dos ensaios do tipo IGRA devido à sua maior especificidade (72). A implementação de teste diagnósticos atuais, em estágios da DRC, pode auxiliar na identificação precoce da ILTB, permitindo intervenções preventivas e interrupção da progressão para tuberculose ativa (7). São necessários mais estudos nessa população, sendo nossas informações limitadas, principalmente no Brasil, um país de alta incidência de tuberculose.

Estratégias de vigilância e diagnóstico precoces, como a utilização do QFT-Plus, são fundamentais para mitigar os riscos associados à tuberculose nessa população. Mais estudos são importantes para aprofundar a compreensão da associação entre ILTB e DRC e avaliar a eficácia de abordagens preventivas, incluindo o tratamento profilático.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Determinar a prevalência de tuberculose latente em pacientes com doença renal crônica em tratamento conservador e em terapia renal substitutiva/hemodiálise.

2.2 Objetivos específicos

- a) Identificar ILTB entre pacientes com DRC e terapia renal substitutiva por hemodiálise utilizando o QFT-Plus como método diagnóstico;
- b) Determinar os níveis de produção de CXCL10/IP-10 em resposta a antígenos específicos do Mtb na população de estudo;
- c) Comparar os resultados qualitativos (positivo, negativo ou indeterminado) e quantitativos de produção de IFN- γ - e CXCL10/IP-10-antígeno específicos dentre os grupos de pacientes com DRC (nos diferentes estágios) e em hemodiálise;
- d) Identificar fatores de risco de ILTB associados à positividade ao teste QFT-Plus em pacientes com DRC e em hemodiálise, a partir de levantamento de dados sociodemográficos, clínicos e laboratoriais.

3. MÉTODOS

3.1 Aspectos éticos

Todos os procedimentos e protocolos do presente estudo foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE), da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), sob parecer número 4.624.686 (Anexo A). Durante o recrutamento, os indivíduos foram apresentados aos objetivos e potenciais contribuições do estudo, e ao aceitarem voluntariamente a participação, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE; Apêndice A).

3.2 Desenho do estudo

Estudo transversal prospectivo envolvendo pacientes com DRC ou em hemodiálise atendidos ambulatorialmente no Serviço de Nefrologia e Hemodiálise do HUPE/UERJ, Rio de Janeiro, recrutados no período de agosto de 2021 a setembro de 2023. Os pacientes incluídos foram diagnosticados com base nas diretrizes do *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO) conforme a seguir: presença de um ou mais marcadores de lesão do parênquima renal e/ou taxa de filtração glomerular estimada (TFGe) inferior a 60 mL/min/1,73 m², por um período superior a três meses. A investigação de COVID-19 e/ou HIV foi autodeclarada. A determinação de ILTB foi realizada a partir da coleta de amostra de sangue periférico executada por um profissional treinado, para realização do teste imunológico QuantiFERON-TB Plus (QFT-Plus). As amostras foram processadas e armazenadas no Laboratório de Imunopatologia, Disciplina de Patologia Geral, Faculdade de Ciências Médicas (FCM)/UERJ para análise da produção de IFN- γ e CXCL-10/IP-10 frente aos antígenos específicos do Mtb. Todos os participantes foram convidados a responder ao questionário sociodemográfico (Apêndice B). A marca da vacinação da BGC foi avaliada por 2 profissionais da saúde. Os dados obtidos no presente estudo foram correlacionados com dados sociodemográficos, clínicos e laboratoriais, também obtidos a partir de consulta ao prontuário eletrônico. Indivíduos identificados com ILTB foram indicados ao Núcleo de Tisiologia (NUTIS) - Serviço de Pneumologia e Tisiologia do HUPE/UERJ para acompanhamento e avaliação de atividade de doença.

3.3 Definição da população do estudo

A população consistiu em 2 grupos, a seguir: a) pacientes com DRC nos estágios 3b a 5 (estágio 3b: TFG_e 30–44 mL/min; estágio 4: TFG_e 15–29 mL/min e estágio 5: TFG_e < 15 mL/min) e pacientes em terapia renal substitutiva por hemodiálise por período mínimo de 3 meses.

3.4 Critérios de inclusão

- Pacientes nos estágios 3b a 5, em acompanhamento regular (ao menos três consultas por ano) no ambulatório de Nefrologia do HUPE;
- Pacientes em programa regular de hemodiálise contínua há, pelo menos, 3 meses no serviço de Hemodiálise do HUPE;
- Aceitação da participação do estudo e assinatura do TCLE.

3.5 Critérios de exclusão

- Indivíduos menores de 18 anos;
- Tuberculose prévia;
- Gestantes;
- Uso de medicamentos imunossupressores.
- Neoplasia

3.6 Coleta de dados

Dados clínicos e laboratoriais foram obtidos a partir da consulta de prontuários e sistema eletrônico do sistema Soul MV do HUPE, ao longo do estudo, e preenchimento de questionário no momento do recrutamento. Os dados foram transcritos e armazenados em planilhas do tipo Excel para posterior análise estatística.

3.7 Ensaio de produção de interferon-gama (IGRA)

Para realização deste método diagnóstico, sangue periférico foi coletado em tubos de heparina de lítio (BD Vacutainer) utilizando sistema à vácuo com escalpe de segurança do tipo “borboleta” (ForLab) por profissional treinado. Para determinar a ILTB na população de estudo, foi utilizado o Kit QuantiFERON TB Gold-Plus (QFT-Plus; QIAGEN, Alemanha). Para tal, as amostras de sangue foram transferidas para os tubos QFT-Plus, compostos por controle negativo (Nil), antígenos Mtb específicos (TB1 e TB2) e controle positivo (Mitógeno). Os tubos foram homogeneizados por inversão e mantidos por 20 horas a 37°C em estufa (Thermo, Scientific Forma Series II). Após a incubação, os tubos foram centrifugados a 3.000 xg, 25 °C por 15 minutos. Os plasmas obtidos foram coletados e armazenados em alíquotas de 150 µL em freezers a -80 °C até o momento da dosagem de IFN- γ .

Posteriormente, as amostras foram submetidas ao ensaio imunoenzimático (ELISA) para medir os níveis de IFN- γ . Resumidamente, para cada participante da pesquisa, 50 µL de plasma de cada tubo do kit (Nil, TB1, TB2 e Mitógeno) foi adicionado em placa de 96 poços pré-sensibilizada, juntamente com a curva padrão fornecida pelo fabricante. Em seguida, a placa foi lavada utilizando o tampão de lavagem, e, após adição do conjugado, a placa foi incubada durante 2 horas, à temperatura ambiente. Após este período, ela foi lavada com tampão de lavagem novamente e 100 µL de solução de substrato foi adicionado. Após 30 minutos a reação foi interrompida com adição de solução de paragem (H₂SO₄ 2N). A leitura da placa foi feita em leitor de microplacas (Thermo Scientific Multiskan™ FC), nos comprimentos de onda de 450 nm e 620 nm, utilizando o software Skanit 6.0.1. As densidades ópticas (D.O.) obtidas após a leitura foram analisadas utilizando o software QuantiFERON TB Gold Plus, para avaliação da qualidade do ensaio e obtenção dos valores de IFN- γ em UI/mL dos participantes da pesquisa. A interpretação dos resultados do teste foi realizada a partir da subtração dos valores obtidos nos tubos com antígenos (TB1 e TB2) por aqueles obtidos no tubo sem estímulo (Nil), conforme orientado pelo fabricante. Resultados considerados como infecção por Mtb (positivo), foram considerados quando a subtração de TB1-Nil ou/e TB2-Nil, foi $\geq 0,35$ UI/mL e $\geq 25\%$ do valor obtido em Nil. Resultados indeterminados foram definidos quando a concentração de IFN- γ para o tubo Nil era > 8.0 UI/mL ou Mitógeno < 0.5 UI/mL.

3.8 Ensaio de produção de CXCL-10/IP-10

Para quantificar os níveis de IP-10/CXCL-10 antígenos-específicos, foi utilizado o plasma obtido dos tubos QFT-plus, e determinados por ELISA usando kit específico IP-10/CXCL-10 DuoSet ELISA (R&D Systems Inc, MN, EUA) humano, seguindo as instruções do fabricante. Resumidamente, no dia anterior, iniciou-se a etapa de sensibilização da placa de poliestireno de 96 poços (OLEN, K-30) com 50 µL de anticorpo de captura anti-IP-10 diluído em Tampão Salina Fosfato (PBS), com a concentração de 2 ng/mL. Em seguida, a placa foi incubada por cerca de 16h à temperatura ambiente. Após a incubação, a placa foi lavada com tampão de lavagem (PBS + Tween 0,05%), e realizada a etapa de bloqueio com 150 µL de reagente diluente (PBS + 1% albumina sérica bovina, BSA). Após 1h de bloqueio, foi realizada a lavagem da placa e posterior adição da curva padrão e de 50 µL de plasma de cada tubo do kit QFT-Plus (Nil, TB1, TB2, Mitógeno) nos respectivos poços. Após 2h, foi realizada uma nova lavagem, com posterior adição de 50 µL anticorpo de detecção anti-IP-10 diluído em reagente diluente, com a concentração de trabalho de 12,5 ng/mL. Em seguida, as placas foram lavadas e foi adicionado 50 µL de estreptavidina e incubadas durante 30 min. Após este período, seguiu-se uma nova etapa de lavagem e posterior adição de solução substrato contendo tetrametilbenzidina (TMB). Após formação da reação colorimétrica, depois de 20 min., utilizando-se solução de parada (H₂SO₄ 2N), a reação foi interrompida. A leitura da placa ELISA foi realizada em um leitor de microplacas (Thermo Scientific Multiskan™ FC), utilizando-se os comprimentos de onda de 450 nm e 540 nm, com auxílio do software Skanit 6.0.1, o qual também calculou a concentração de IP-10 em pg/mL. A sensibilidade do ensaio foi de 31,3-10.000 pg/mL. Optou-se por um ponto de corte para maximizar a soma da sensibilidade e da especificidade. Um resultado positivo foi definido como [(nível IP-10 estimulado pelo antígeno MTB) — (nível IP-10 estimulado por Nil)] ≥ 535,9 pg/mL, conforme previamente mostrado pelo nosso grupo (87).

3.9 Exames laboratoriais complementares

Os resultados de exames laboratoriais de sangue (hemograma, creatinina, albumina, proteína C reativa e hemoglobina glicada) e urina de rotina dos pacientes foram realizados pelo laboratório central do HUPE/UERJ. As informações dos exames foram extraídas do sistema de prontuário Soul-MV com um intervalo de 3 meses, antes ou depois, da data da coleta do sangue para aplicação no teste QFT-Plus. A creatinina estimada foi utilizada na equação do CKD-EPI para o cálculo da TFG e categorização do estadiamento dos pacientes (classificação KDIGO).

3.10 Análise estatística

Para variáveis numéricas contínuas, foram utilizados testes não paramétricos U de Mann-Whitney (2 níveis) na comparação das variáveis demográficas e clínicas basais. Enquanto para variáveis nominais categóricas foram utilizados testes χ -quadrado de Pearson na avaliação da independência de frequência entre estas variáveis e os grupos de pacientes com doença renal crônica. A comparação entre os níveis de produção transformados em log (base 10) de QFT-Plus (Nil, Mitógeno, antígenos específicos de TB e outras medidas obtidas pela subtração do acima) e outros, utilizou-se valores marginais esperados/médios e seus intervalos de confiança de 95% obtidos a partir de modelos de regressão linear múltipla (log-linear) de efeitos fixos com inclusão de efeitos principais, grupos de doença renal crônica e variáveis de confusão (por exemplo, idade e raça). Foram realizadas análises gráficas dos resíduos dos modelos ajustados para confirmar sua aleatoriedade. Nas comparações pareadas entre valores marginais esperados/médios obtidos a partir de modelos de regressão linear múltipla (teste t de Student), foram feitos ajustes de nível de confiança pelo método Sidak, e ajustes de valor de p para comparações múltiplas pelo método de Tukey, este último nos casos em que o efeito principal teve mais de 2 níveis. Para estimar os fatores de risco associados à positividade de ILTB ou QFT-Plus entre pacientes com DRC, foram utilizados múltiplos modelos binomiais de efeito fixo (análise logística multivariada), incluindo como principais efeitos variáveis possivelmente associadas ao resultado do QFT-Plus e variáveis de confusão (variáveis com pelo menos níveis menos sugestivos, valor de $p < 0,1$ (por exemplo, idade, sexo e histórico de vacinação com BCG), nas análises simples/univariadas. Os resultados foram apresentados como OR (Odds-ratio) e aOR (Odds-ratio ajustado) e seus intervalos de confiança de 95%. Sempre que necessário, categorizamos as variáveis numéricas contínuas usando como pontos

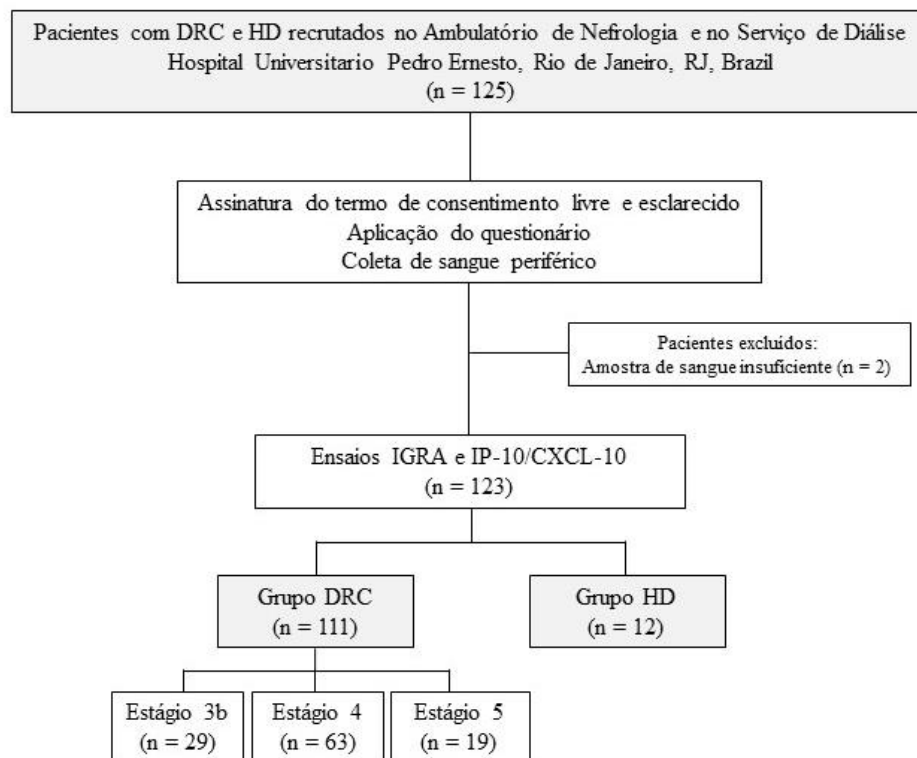
de corte o número inteiro redondo mais próximo de suas medianas ou tercis (ou seja, em níveis de significância bicaudal menores ou iguais a 33% e 66%). 0,01, 0,05 e 0,1 foram considerados 'altamente significativos', 'significativos' e 'sugestivos', respectivamente. Todas as análises estatísticas foram realizadas usando R versão 4.1.2 (R Core Team, 2021), pacotes 'lme4', 'emmeans.', e suas dependências.

4. RESULTADOS

4.1 Características gerais da população de estudo

Um total de 125 pacientes atendidos no ambulatório de Nefrologia e na unidade de diálise do HUPE/UERJ foram prospectivamente incluídos neste estudo. Todos os indivíduos atenderam aos critérios de elegibilidade inicialmente propostos. Entretanto, dois pacientes foram excluídos devido à coleta insuficiente de amostras de sangue para a realização dos ensaios de liberação de citocinas. Portanto, a população final do estudo foi composta por 123 indivíduos, os quais foram divididos em dois grupos, a saber: i) grupo DRC: pacientes com DRC com TFGe < 45ml/min, classificados nos estágios 3b a 5 (n = 111); e, ii) grupo HD: pacientes que necessitaram de terapia renal substitutiva por hemodiálise (n = 12), conforme **Figura 8**.

Figura 8 - Fluxograma da população de estudo



Desenho do estudo para identificação de tuberculose latente em pacientes com doença renal crônica. Os números entre parênteses referem-se aos pacientes submetidos ao exame diagnóstico e dosagem da citocina CXCL-10/ IP-10. QFT-Plus: QuantiFERON-TB Gold Plus; IP-10: proteína induzível por interferon-gama de 10 kD. DRC: doença renal crônica; HD: hemodiálise. Fonte: O próprio autor.

Os resultados da análise das características clínicas e demográficas da população de estudo estão apresentadas na **tabela 1**. Observou-se que 51 (45,9%) e 7 (58,3%) eram do sexo masculino ($p = 0.608$), com média de idade de 66 anos e 54 anos ($p = 0.015$), nos grupos DRC e HD, respectivamente. Em relação à vacinação com BCG na infância, 95 (85,6%) no grupo DRC e 12 (100%) no grupo HD apresentaram a cicatriz vacinal. Na população estudada, 21 (18,9%) no DRC e 3 (25%) no HD tiveram contato com um caso índice de tuberculose. O estágio predominante na DRC neste estudo foi o estágio 4 com 63 (56,8%), seguido pelo estágio 3B com 29 (26,1%) e estágio 5 com 19 (17,1%) indivíduos ($p < 0.001$). As principais doenças de base identificadas foram DM com 50 (45%) casos em DRC e 2 (16,7%) em HD, seguido de hipertensão arterial com 24 (21,6%) DRC e 4 (33,3%) em HD.

Em relação as características laboratoriais da população investigada, foi possível observar níveis significativamente diminuídos de hemoglobina ($p = 0.032$), leucócitos totais ($p = 0.023$) e linfócitos ($p = 0.017$) em HD em comparação ao DRC. Além disso, a contagem de monócitos circulantes ($p = 0.44$) foi maior no grupo HD. Enquanto a hemoglobina glicada ($p = 0.009$) foi menor no grupo HD, como mostra a **tabela 2**.

Tabela 1 - Características sociodemográficas e clínicas da população de estudo

Características	DRC (n = 111)	HD (n = 12)	p valor
Idade, anos, [IQR]	66 [12,5]	54 [11,25]	0.015
Masculino, sexo	51 (45,9)	7 (58,3)	0.608
Vacinação BCG	95 (85,6)	12 (100)	0.338
Contato com TB	21 (18,9)	3 (25)	0.903
Tabagismo	13 (11,9)	2 (16,7)	0.991
Etilismo	20 (18,3)	3 (25)	0.865
Local de moradia			0.057
Rio de Janeiro	74 (66,7)	12 (100)	
Região metropolitana	34 (30,6)	0	
Outras	3 (2,7)	0	
Causas da DRC			0.308
Diabetes mellitus	50 (45)	2 (16,7)	
Hipertensão	24 (21,6)	4 (33,3)	
Glomerulonefrites	7 (6,3)	1 (8,3)	
Outras	30 (27)	5 (41,7)	
Estágio DRC			< 0.001
3b	29 (26,1)	NA	
4	63 (56,8)	NA	
5	19 (17,1)	NA	

Os dados são expressos em número (%) ou intervalo interquartil [IQR]. Os testes qui-quadrado de Pearson foram utilizados na avaliação da independência de frequência entre as variáveis e os grupos de pacientes com DRC e HD. Abreviaturas: DRC: doença renal crônica; HD: hemodiálise; BCG: bacilo Calmette–Guérin; TB: tuberculose; NA: não aplicável. Valor de $p \leq 0.05$ foi considerado significativo. Fonte: O próprio autor.

Tabela 2 - Características laboratoriais dos pacientes da população de estudo

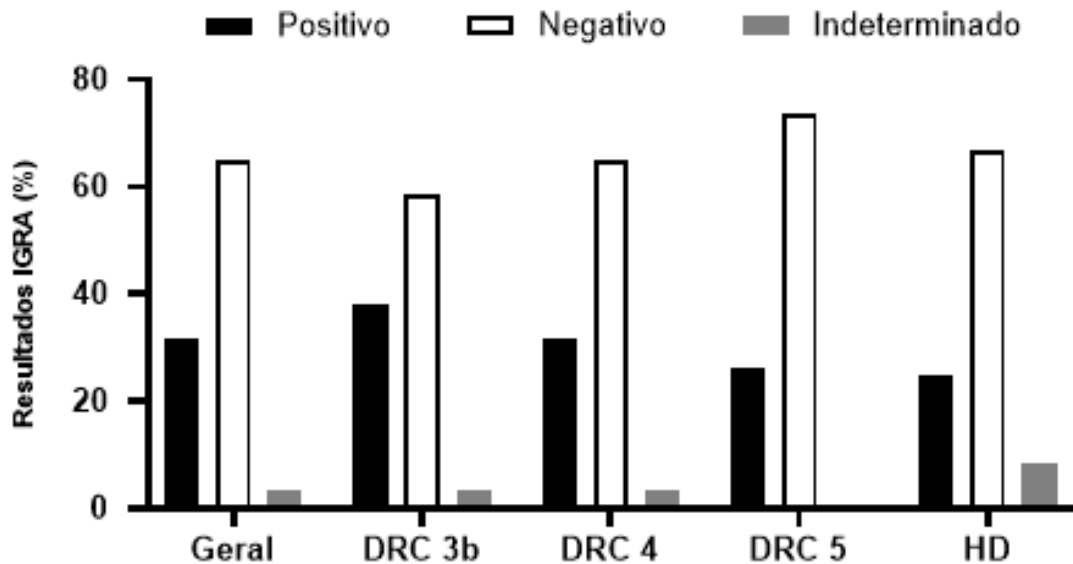
Características	DRC (n=111)	HD (n=12)	P valor
Hemoglobina g/dL	12,06 [11,42 – 12,70]	10,81 [9,59 – 12,03]	0.032
Leucócitos totais, células/mm ³	6627.76 [5806.74 – 7448.79]	4936.54 [3372.32 – 6500.75]	0.023
Neutrófilos, células/mm ³	4106.49 [3464.12 – 4748.86]	3299.75 [2073.60 – 4525.91]	0.164
Monócitos, células/mm ³	604.64 [447.20 – 762.08]	891.89 [591.37 – 1192.42]	0.044
Linfócitos, células/mm ³	1742.54 [1508.11 – 1976.97]	1233.24 [785.76 – 1680.71]	0.017
Hemoglobina glicada, %			
Diabetes	6,96 [6,72 – 7,20]	5,23 [4,19 – 6,28]	0.009
Outros	5,41 [5,13 – 5,68]	5,14 [4,51 – 5,77]	0.872
Proteína C reativa, mg/dL			
Diabetes	5,42 [3,15 – 7,68]	5,80 [-0,85 – 12,45]	0.999
Outros	2,38 [-0,48 – 5,25]	7,17 [3,23 – 11,10]	0.208
Albumina, g/dL	4,12 [4,01 – 4,24]	3,87 [3,27 – 4,47]	0.388
TFGe (mL/min/1,73m ²)			< 0.001
3b	36,58 [34,47 – 38,69]	NA	
4	22,78 [21,24 – 24,31]	NA	
5	13,73 [11,40 – 16,05]	NA	

Os dados são expressos como valores marginais médios marginais [intervalo de confiança de 95%]. Valores marginais médios e seus intervalos de confiança de 95% obtidos a partir de modelos de regressão linear múltipla (log-linear) de efeitos fixos com inclusão de efeitos principais, grupos de doença renal crônica e variáveis de confusão (por exemplo, idade e raça). Abreviaturas: DRC: doença renal crônica; HD: hemodiálise; BCG: bacilo Calmette–Guérin; TB: tuberculose; NA: não aplicável. Valor de $p \leq 0,05$ foi considerado significativo. Abreviaturas: DRC, doença renal crônica; HD, hemodiálise; TFGe, taxa de filtração glomerular; N/A, não aplicável. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados significativos. Os intervalos de confiança são apresentados como n [menor.CL – maior.CL]. Fonte: O próprio autor.

4.2 Determinação de ILTB utilizando o ensaio QFT-Plus

Quase um terço (31,7%; 39/123) da população geral apresentou resultado positivo para IGRA, sendo 36/111 (32,4%) no grupo DRC e 3/12 (25%) no grupo HD. Resultados indeterminados foram encontrados em 4 (3,3%) sujeitos, sendo um deles do grupo HD. Avaliando os resultados do IGRA entre os subgrupos de DRC, observamos 37,9% (11/29) positivos e 58,6% (17/29) negativos no estágio 3b., enquanto isso, no estágio 4 observamos 31,7% (20/63) positivos e 65,1% (41/63) negativos, e no estágio 5, 26,3% (5/19) foram considerados positivos e 73,3% (14/19) negativos (**Figura 9**).

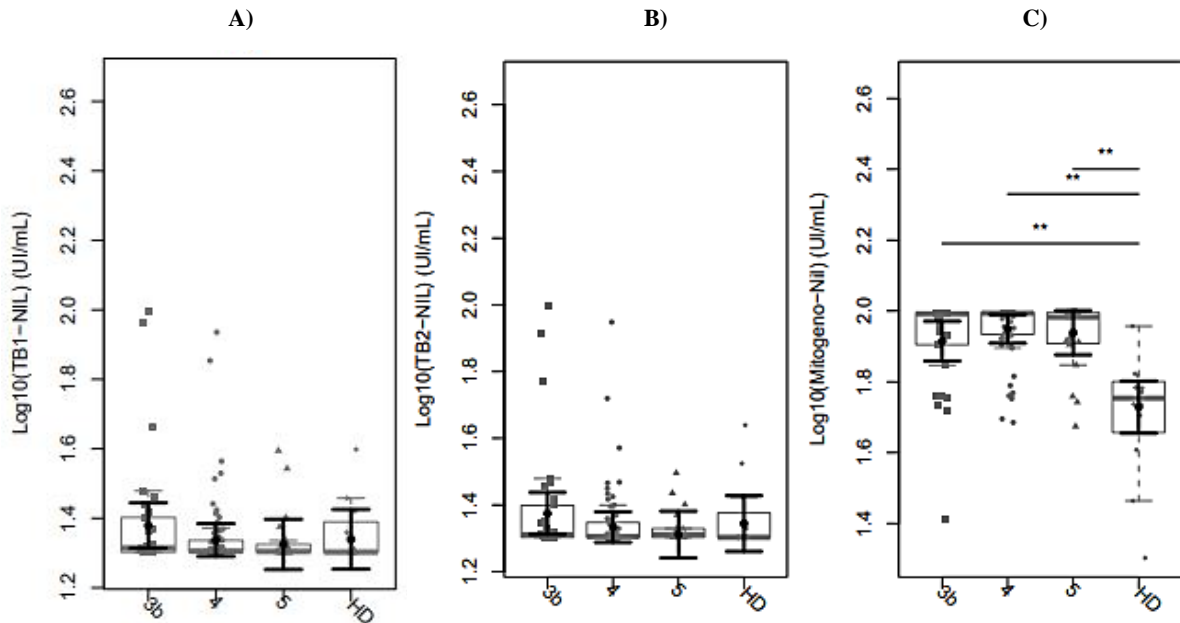
Figura 9 - Resultados qualitativos do teste diagnóstico QuantiFERON-TB Gold Plus



Legenda: Resultados de ILTB em pacientes com DRC baseada em estágios e necessidade de hemodiálise, utilizando o teste QuantiFERON-Gold Plus para diagnóstico. No gráfico, foram positivos (preto), negativos (cinza claro) e indeterminados (cinza). Abreviaturas: DRC: doença renal crônica; HD: hemodiálise; IGRA: ensaios de liberação de interferon-gama. Fonte: O próprio autor.

Na **figura 10**, estratificamos a população de estudo entre os estágios da DRC (3b, 4 e 5) e HD para avaliar os níveis de IFN- γ em resposta específica aos antígenos, a partir da subtração do Nil (TB1- Nil; TB2 – Nil; Mitógeno – Nil) nos gráficos (A, B, C). Não foram observadas diferenças significativas entre os subgrupos de DRC e hemodiálise. Verificamos que os níveis de IFN- γ do tubo Mitógeno, que representa o controle positivo, foi significativamente menor no grupo HD em comparação com os estágios da DRC (C).

Figura 10 - Níveis de IFN- γ em comparação com os estágios da DRC (3b, 4 e 5) e HD



Legenda: Níveis de IFN- γ em resposta aos antígenos do Mtb de acordo com os tubos Nil, TB1, TB2, e Mitógeno a partir dos estágios da DRC (3b, 4 e 5) e HD. Níveis de IFN- γ subtraídos pelo valor de Nil: TB1-Nil (A), TB2-Nil (B), Mitógeno – Nil (C). Pontos pretos maiores e barras verticais representam médias ajustadas estimadas pelo modelo linear e intervalos de confiança de 95% (IC 95%). * $P < 000.5$. Fonte: O próprio autor.

Uma vez que o IGRA QFT-Plus fornece níveis sanguíneos de IFN- γ produzidos *in vitro* principalmente por T CD4+ (tubo TB1) ou ambos pelos linfócitos T CD4+ e CD8+ (tubo TB2) em resposta a antígenos Mtb-específicos, também avaliamos o status de LTBI em relação à responsividade de cada tubo QFT-Plus entre os grupos DRC e HD. A maioria dos respondedores à DRC, assim como todos os pacientes em HD, apresentou positividade concomitante para TB1 e TB2 (**tabela 3**).

Tabela 3 - Respostas aos antígenos TB1 e TB2 Mtb-específicos do QFT-plus

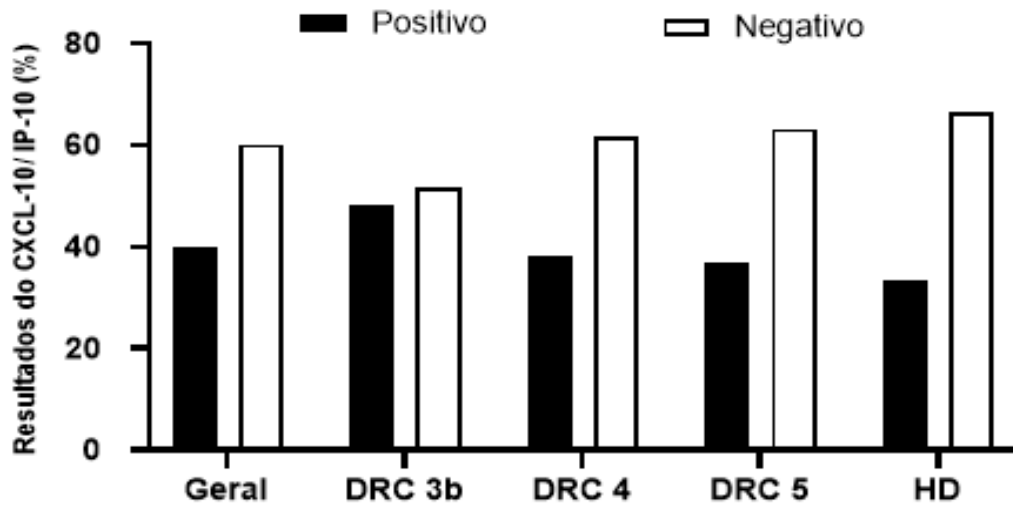
N (%) de respondedores do QFT-Plus	CKD (n = 36)	HD (n = 3)
TB1, <i>somente</i>	4 (11,1)	0
TB2, <i>somente</i>	8 (22,2)	0
TB1 e TB2	24 (66,6)	3 (100)
TB1 <i>ou</i> TB2	12 (33,3)	0

Abreviaturas: QFT-Plus, QuantiFERON TB Gold-Plus; DRC, doença renal crônica; HD, hemodiálise. Os dados são apresentados como (%) ou média \pm desvio padrão. Fonte: O próprio autor.

4.3 Resposta Mtb- específicas para CXCL-10/ IP-10 entre pacientes com DRC e HD

Com base nas amostras de plasma obtido dos tubos QFT-plus foi possível avaliar a produção da citocina CXCL-10/ IP-10 antígeno-específica. Utilizando o ponto de corte, já definido pelo nosso grupo de pesquisa (metodologia, página 45). Nossa população de estudo demonstrou uma taxa de positividade de 39.1% (49/123). Sendo, 40,5% (45/111) no grupo DRC e 33.3% (4/12) no grupo HD. Avaliando os resultados a partir dos estágios da DRC observou-se que no estágio 3B 48,5% (14/29) foram positivos e 51,7% (15/29) negativos, no estágio 4 38,1% (24/63) foram positivos e 61,9% (39/63) negativos, enquanto no estágio 5 observamos 36,8% (7/19) positivos e 63,2% (12/19) negativos (**Figura 11**).

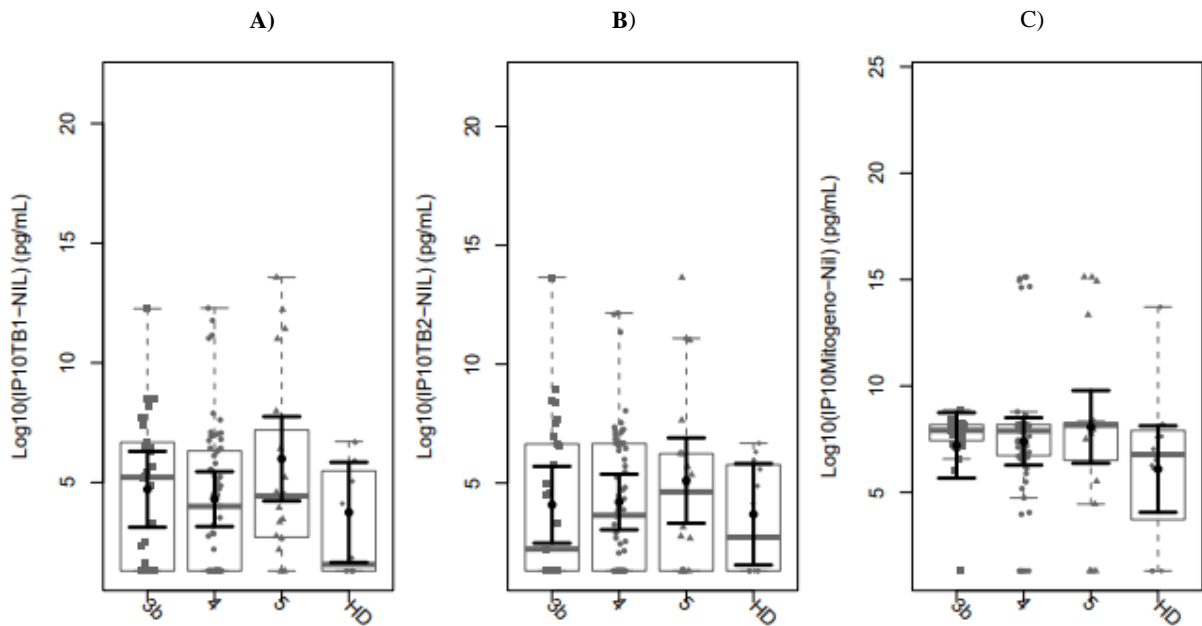
Figura 11 - Produção de CXCL-10/IP-10 antígeno-específica da população estudo



Legenda: Resultado da dosagem de citocina IP-10 do plasma dos tubos de ensaio QFT-Plus por ensaio imunoenzimático ELISA padronizado, com base nos estágios da DRC e necessidade de hemodiálise. No gráfico os resultados em casos positivos (preto) e negativos (preto). Abreviaturas: DRC: doença renal crônica; HD: hemodiálise; CXCL-10/IP-10: proteína de 10kDa induzida por interferon. Fonte: O próprio autor.

Por fim, na **Figura 12** analisamos os níveis de CXCL-10/ IP-10 antígeno-específicos entre os estágios da DRC (3b, 4 e 5) e HD a partir da subtração do tubo Nil (TB1- Nil; TB2 – Nil; Mitógeno – Nil) nos gráficos (A, B, C). Porém, não foram observados valores significativos de níveis de IP-10 entre os grupos analisados.

Figura 12 - Níveis de CXCL-10/IP-10 em comparação com os estágios da DRC e HD.



Níveis de IP.10/CXCL-10 em resposta aos antígenos do Mtb de acordo com os tubos Nil, TB1, TB2 e Mitógeno estratificando a população de estudo como 3b, 4 e 5 e HD. Níveis de IP-10 subtraídos pelo valor de Nil: TB1-Nil (A), TB2-Nil (B), Mitógeno – Nil (C). Pontos pretos maiores e barras verticais representam médias ajustadas estimadas pelo modelo linear e intervalos de confiança de 95% (IC 95%). * $P < 0.005$. Fonte: O próprio autor.

4.4 Fatores de risco associados à positividade do teste diagnóstico QFT-Plus

A partir da análise de regressão logística multivariada foi possível avaliar os fatores de risco independentes associados à ILTB pela positividade do IGRA QFT-Plus (**tabela 4**). Identificamos que a não vacinação do BCG na infância (aOR 7,41 [IC 2,15-25,48]; $p = 0.0014$) e a positividade do ensaio IP-10/CXCL-10 (aOR: 4,48 [1,87-10,76]; $p \leq 0.001$) foram fatores de risco independentes para positividade do teste. Embora não significativo, é importante chamar a atenção para as tendências de associações em indivíduos apresentando menor contagem de monócitos no sangue ($p = 0.075$) e história familiar de DRC ($p = 0.07$).

Tabela 4 - Fatores de risco independentes para a positividade do teste QFT-Plus na população de estudo

Fatores de risco	Negativo QFT (n=80)	Positivo QFT (n= 39)	OR [CI95%]	P value	aOR [CI95%]	P value
DRC	72 (90%)	36 (92,31%)	0,75 [0,19-3]	0.68	0,96 [0,23-3,96]	0.95
HD	8 (10%)	3 (7,69%)				
Sexo						
Masculino	33 (41,25%)	22 (56,41%)	1,84 [0,85-4]	0.12	1,82 [0,8-4,13]	0.15
Feminino	47 (58,75%)	17 (43,59%)				
Histórico familiar de DRC	32 (40%)	7 (17,95%)	0,33 [0,13-0,83]	0.012	0,41 [0,15-1,07]	0.07
Não vacinação com a BCG	4 (5%)	11 (28,21%)	7,46 [2,2-25,38]	0.0012	7,41 [2,15-25,48]	0.0014
Contato com TB	13 (16,25%)	8 (20,51%)	1,33 [0,5-3,54]	0.56	1,76 [0,61-5,09]	0.3
Tabagista	9 (11,39%)	6 (15,79%)	1,46 [0,48-4,44]	0.50	1,35 [0,4-4,54]	0.62
Etilista	13 (16,46%)	9 (23,68%)	1,58 [0,61-4,1]	0.35	1,4 [0,5-3,95]	0.52
Ensaio CXCL-10/IP-10						
Negativo	57 (71,25%)	14 (35,9%)				
Positivo	23 (28,75%)	25 (64,1%)	4,43 [1,96-9,99]	<0.001	4,48 [1,87-10,76]	<0.001
Contagem de monócitos	42 (54,55%)	13 (35,14%)	2,22 [0,99-4,98]	0.054	2,23 [0,92-5,39]	0.075

Os dados são expressos como OR (Odds Ratio) e aOR (Odds Ratio Ajustado) e seus respectivos intervalos de confiança de 95%. Os fatores de risco associados à positividade de ILTB ou QFT-Plus entre pacientes com DRC foram estimados por múltiplos modelos binomiais de efeito fixo (análise logística multivariada) incluindo como principais efeitos variáveis possivelmente associadas ao resultado do QFT-Plus e variáveis de confusão (variáveis com níveis pelo menos sugestivos, valor de $p < 0,1$ por exemplo, idade, sexo e histórico de vacinação com BCG), nas análises simples/univariadas. Abreviaturas: IFN- γ : interferon-gama IP-10: proteína induzível por interferon-gama de 10-kD; DRC: doença renal crônica; HD: hemodiálise; BCG: bacilo Calmette–Guérin TB: tuberculose; NA: não aplicável; IC: intervalo de confiança; Fonte: O próprio autor.

5. DISCUSSÃO

Embora a Doença Renal Crônica, em todos os seus estágios de progressão, seja reconhecida como fator de risco para desenvolvimento da tuberculose ativa (45,46), as evidências disponíveis na literatura sobre sua associação com a infecção latente pelo Mtb são, ainda, limitadas. Esta limitação se dá, principalmente, pelo fato de que a maioria dos estudos disponíveis apresentam coortes compostas por pacientes submetidos à hemodiálise, sem explorar os estágios da doença renal. Além disso, verifica-se uma heterogeneidade nos métodos laboratoriais diagnósticos de ILTB, onde o método diagnóstico atual – como o IGRA QuantiFERON-TB Plus 4ª geração, ainda não foi demonstrado nessa população. Da mesma forma, não foram realizadas pesquisas em relação ao potencial de novos biomarcadores, como o CXCL-10/IP-10, que poderiam aprimorar a sensibilidade e especificidade do diagnóstico. Apesar da DRC e a tuberculose serem problemas de saúde significativos no Brasil, a investigação desta associação carece de novas pesquisas científicas.

Considerando que o rastreamento de populações vulneráveis e eventual tratamento profilático da ILTB são estratégias prioritárias para impedir a evolução para a doença ativa, e ainda tendo em vista que pacientes com DRC apresentam maior suscetibilidade a infecções devido ao comprometimento do sistema imunológico (41), o presente estudo teve como objetivo avaliar a prevalência da ILTB em pacientes em diferentes estágios da DRC e em hemodiálise. Para isso, utilizamos o IGRA QFT-Plus como método diagnóstico. Nos participantes do estudo verificamos que aproximadamente um terço (31,7%) testou positivo para o QFT-Plus. Entre eles observamos 37,9% no estágio 3b, seguido por 31,7% no estágio 4 e 26,3% no estágio 5 e 25% no grupo HD. Na análise dos resultados da citocina CXCL-10/IP-10 verificamos que 40,5% e 33,3%, foram positivos no grupo DRC e HD, respectivamente. Finalmente, a análise de regressão multivariada revelou que a não vacinação com BCG na infância, assim como a resposta Mtb-específica positiva para o CXCL-10/IP-10 foram considerados fatores de risco independentes associados ao diagnóstico de ILTB na população de estudo.

Na análise das características laboratoriais da população estudada, observamos uma diminuição significativa nos níveis de hemoglobina, leucócitos totais e linfócitos no grupo HD em comparação ao grupo DRC. A redução da hemoglobina, indicando o desenvolvimento de anemia, é frequentemente associada ao avanço da DRC e correlacionada com um maior risco de eventos cardiovasculares (21,74). Além disso, estudos descrevem que é comum encontrar casos de monocitose e linfopenia em pacientes em HD (26,75). Estudos retrospectivos de coorte

destacaram que a redução na contagem de linfócitos é um indicador independente de mortalidade (9). Nossos resultados corroboram achados anteriores, evidenciando um perfil laboratorial característico ao observar os dados clínicos da nossa coorte, constatamos que 52% dos participantes apresentam DM como doença de base, aspecto reconhecido como um fator associado tanto à ILTB quanto ao desenvolvimento de tuberculose ativa (66).

Conforme indicado por estudos prévios (9,27,29), altos níveis PCR são atribuídos ao grau de inflamação pré-existente nessa população. Em nossa coorte não foi diferente, a média de níveis de PCR foi de 6.96 mg/ dL no grupo DRC e 5.23 mg/dL no HD. A partir disso, é importante destacar que os resultados indeterminados foram associados aos níveis elevados de IFN- γ basal (tubo Nil). Constatou-se 2,7% e 8,3% de resultados indeterminados, no grupo DRC e HD, respectivamente. Conseqüentemente, a inflamação subjacente e os elevados níveis de IFN- γ não específicos levaram a resultados indeterminados no teste diagnóstico. Ademais, todos os indivíduos responderam aos estímulos do tubo mitógeno (controle positivo), sendo assim, não tendo indícios de imunossupressão.

A interação entre a DRC e a resposta imunológica comprometida demonstram a necessidade de métodos de diagnóstico mais avançados para identificar precocemente a ILTB. Os métodos atuais disponíveis medem a resposta celular de memória frente aos antígenos do bacilo. Um deles é a prova tuberculínica utilizado há mais de um século (13,46) e os IGRAS (QuantiFERON TB e T- SPOT) que atualmente estão sendo mais utilizados (45,46). Com o avanço da tecnologia, foram surgindo novas gerações do teste QuantiFERON, como o QFT-Plus 4ª geração. Estudos apontam que o QFT-Plus possui uma maior sensibilidade em comparação com o QFT-GIT, tal achado, pode ser atribuído a adição do tubo TB2 sensibilizado para células T CD8 + (13,73). Em concordância, nosso estudo observou 22,2% resultados positivos somente para o tubo TB2, reforçando a importância da resposta das células T CD8 + na detecção do Mtb.

Como já mencionado, os estudos neste tema são, ainda, restritos e marcados por uma diversidade de métodos diagnósticos utilizados. Um estudo conduzido em Taiwan na China, utilizando o método QFT-GIT para diagnosticar ILTB, registrou 25% de resultados positivos entre os pacientes em hemodiálise, 11% em indivíduos com doença renal crônica grave com TFG_e < 30 mL/min/1,73 (estágios 4 e 5) e 11% no grupo controle composta pela equipe da unidade de diálise (76). Outro estudo conduzido em Taiwan em 2020, realizado em indivíduos pré-transplante renal, foi observada uma taxa de positividade de 20% para o teste QFT-GIT (77). Uma pesquisa conduzida em Bangkok, na Tailândia, empregando o T. SPOT TB como método diagnóstico, revelou uma prevalência 22,5% na sua população de estudo, sendo: 25%

no estágio 1, 12,5% no estágio 2, 25,0% no estágio 3a, 25,0% no estágio 3b e 24,2% no grupo de diálise (hemodiálise e diálise peritonial) (8). Um estudo observacional-analítico realizado em Bandung na Indonésia, utilizando o teste QFT-GIT para diagnóstico observou uma positividade de 39,2% em indivíduos em hemodiálise (78). Em São Paulo no Brasil, o único estudo realizado avalia apenas pacientes em hemodiálise e identificou uma prevalência de ILTB de 8,5%, utilizando o teste tuberculínico como método diagnóstico (79). É importante ressaltar que, assim como Brasil, Taiwan, Tailândia e Indonésia estão entre os 30 países com maior incidência de tuberculose no mundo (3).

A partir da análise de regressão logística multivariada foi possível demonstrar os fatores de risco independentes associados à positividade do QFT-Plus na nossa população de estudo. Nossos resultados revelaram que a falta da vacinação com a BCG na infância (OR ajustada: 7,41 [IC 95%: 2,15-25,48]; $p = 0.0014$) foi fator de risco independente para o resultado positivo no teste diagnóstico. Em uma meta-análise que avaliaram crianças vacinados com BCG e não vacinadas que foram expostas à tuberculose, utilizando o QFT-GIT como diagnóstico, foi demonstrado que o BCG protege contra a infecção por Mtb e impede a progressão para doença ativa (80,81). Uma revisão sistemática demonstrou que a vacinação com BCG oferece proteção contra tuberculose pulmonar e extrapulmonar por até 10 anos. No entanto, a maioria desses estudos não acompanhou os participantes por tempo suficiente ou apresentou um número reduzido de casos após 15 anos (82). Em concordância com nosso estudo, uma pesquisa que investigou a incidência de tuberculose latente em pacientes renais pré-transplante constatou, por meio de análises de regressão multivariada, que a não vacinação com BCG estava fortemente associada como um fator de risco independente para o desenvolvimento de ILTB (77).

Encontramos também a positividade para a citocina CXCL-10/IP-10 (aOR: 4,48 [1,87-10,76]; $p = < 0.001$) como fator de risco independente para o diagnóstico de ILTB. A Proteína Induzível por Interferon-gama 10 (CXCL-10/ IP-10) atua como um agente quimiotático crucial, recrutando células do sistema imunológico para o sítio de infecção. Este processo ocorre em sinergia com o IFN- γ , como resposta ao reconhecimento de peptídeos específicos do Mtb por células T específicas (83–85). Com bases em nossos dados podemos observar que níveis elevados de CXCL-10/ IP-10, foram associados a um aumento significativo na probabilidade de desenvolvimento de ILTB, estimada em 4.48 vezes. Em um estudo recente, foi destacado o aumento de níveis das citocinas IFN- γ e CXCL-10/ IP-10 em pacientes com TB ativa em comparação aos indivíduos saudáveis (85). Enquanto o IFN- γ é produzido principalmente pelos

linfócitos T, o IP-10 é produzido por inúmeras células incluindo sistema imune inato como células apresentadoras de antígenos (APCs) (83,85,86). Estes dados apontam para a possibilidade dessa citocina como potencial biomarcador, em associação com o IFN- γ para a detecção e monitoramento da ILTB. Para pacientes em condições de vulnerabilidade, como aqueles com DRC, a combinação de biomarcadores com testes diagnósticos sensíveis pode melhorar a precisão diagnóstica e a intervenção precoce. Neste sentido, nossos dados com o ensaio de produção de CXCL-10/IP-10 se mostram relevantes, pois nos ajudam a entender melhor como o patógeno e sua relação com o hospedeiro afetam essa população, assim como avaliar novas ferramentas diagnósticas promissoras.

Podemos destacar como importantes limitações do estudo: i) não foi possível comparar o QFT-Plus com o PPD devido à instabilidade na distribuição do teste no Brasil no período de recrutamento; ii) número relativamente baixo de indivíduos no grupo DRC devido aos critérios de elegibilidade (TFGe abaixo 44 mL/min) e em acompanhamento por pelo menos 3 meses e dentro do período de 2 anos de recrutamento; iii) por tratar-se de centro de referência e unidade terciária (alta complexidade) de assistência em saúde não podemos excluir estes vieses; iv) tivemos poucos participantes fazendo hemodiálise dentro do período de recrutamento, o que se deve à reduzida presença de pacientes em tratamento de rotina em hemodiálise no HUPE. A maioria deles são transferidos para centros de referência em diálise. v) não foram realizadas comparações com grupo controle sadios. Apesar disto, nosso estudo pode ser considerado pioneiro no Brasil ao empregar o teste QFT-Plus para a avaliação a ILTB nessa coorte populacional, a qual pôde ser bem caracterizada por aspectos clínicos e laboratoriais e em acompanhado por longo período no HUPE/UERJ.

Finalmente, esperamos que nosso estudo possa contribuir significativamente para futuras pesquisas relacionadas aos pacientes com doença renal crônica e à prevenção da tuberculose. Almejamos que os resultados e as conclusões alcançados sejam o ponta pé inicial para investigações posteriores nesta área. Assim, aspiramos contribuir de forma significativa para a melhoria da qualidade de vida e o bem-estar dos pacientes.

CONCLUSÃO

Como conclusões do presente estudo, destacamos que:

- Identificamos uma prevalência de 31,7% (39/123) de ILTB em nossa população de estudo, sendo, 32,4% no grupo DRC e 25% nos pacientes em hemodiálise.
- O QuantiFERON-TB Plus pode ser considerado como uma ferramenta útil na detecção de ILTB em pacientes com DRC em seus estágios finais.
- Nossa população de estudo demonstrou uma taxa de positividade de 39,1% (49/123) no ensaio CXCL-10/IP-10, sendo, 40,5% no grupo DRC e 33,3% no grupo HD, evidenciando seu potencial como biomarcador relevante para a detecção da infecção latente em pacientes com DRC.
- A ausência de vacinação BCG durante a infância e níveis elevados do biomarcador CXCL-10/IP-10 foram identificados como fatores de maior risco para a ILTB, destacando a necessidade de estratégias preventivas e de vigilância contínua nestes pacientes em especial.

REFERÊNCIAS

1. Ehlers S, Schaible UE. The granuloma in tuberculosis: dynamics of a host-pathogen collusion. *Front Immunol.* 2013 Jan 7;3:411. doi: 10.3389/fimmu.2012.00411. PMID: 23308075; PMCID: PMC3538277.
2. Saúde M DA. MANUAL DE RECOMENDAÇÕES PARA O CONTROLE DA TUBERCULOSE NO BRASIL, 2023. Disponível em: www.saude.gov.br/;
3. Global tuberculosis report 2023 [Internet]. 2023. Disponível em: <https://iris.who.int/>;
4. Campaniço A, Harjivan SG, Warner DF, Moreira R, Lopes F. Addressing latent tuberculosis: New advances in mimicking the disease, discovering key targets, and designing hit compounds. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020;
5. Cavalcante-Silva LHA, Almeida FS, Andrade AG de, Comberlang FC, Cardoso LL, Vanderley SER, et al. Mycobacterium tuberculosis in a Trap: The Role of Neutrophil Extracellular Traps in Tuberculosis. Vol. 24, *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023;
6. Domingo-Gonzalez R, Prince O, Cooper A, Khader SA. Cytokines and Chemokines in Mycobacterium tuberculosis Infection . *Microbiol Spectr.* 14 de outubro de 2016;4 (5);
7. Ugarte-Gil C, Carrillo-Larco RM, Kirwan DE. Latent tuberculosis infection and non-infectious co-morbidities: Diabetes mellitus type 2, chronic kidney disease and rheumatoid arthritis. *International Journal of Infectious Diseases.* 1º de março de 2019;80:S29–31;
8. Hayuk P, Boongird S, Pornsuriyasak P, Bruminhent J. Interferon-gamma release assays for diagnosis of latent TB infection in chronic kidney diseases and dialysis patients. *Front Cell Infect Microbiol.* 14 de novembro de 2022;12;
9. Syed-Ahmed M, Narayanan M. Immune Dysfunction and Risk of Infection in Chronic Kidney Disease. Vol. 26, *Advances in Chronic Kidney Disease*. W.B. Saunders; 2019. p. 8–15;
10. Tecklenborg J, Clayton D, Siebert S, Coley SM. The role of the immune system in kidney disease. Vol. 192, *Clinical and Experimental Immunology*. Blackwell Publishing Ltd; 2018. p. 142–50.;
11. Ammirati AL. Chronic kidney disease. Vol. 66, *Revista da Associação Médica Brasileira*. Associação Médica Brasileira; 2020. p. 3–9.;
12. MINISTÉRIO DA SAÚDE, diretrizes clínicas para o cuidado ao paciente com doença renal crônica-drc no sistema único de saúde Brasília-df 2014 [internet]. 2014. disponível em: www.saude.gov.br/sas;
13. Gong W, Wu X. Differential Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection and Active Tuberculosis: A Key to a Successful Tuberculosis Control Strategy. Vol. 12, *Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media S.A.; 2021;

14. Censo Brasileiro de Diálise, Pasqual Barretti A, Barretti P. Editoriais | Editorials. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2175-8239>;
15. KDIGO 2012: Official Journal of the international Society of nephrology [Internet]. Disponível em: www.publicationethics.org;
16. Editorial Board. *Kidney Int.* abril de 2024;105(4):A1;
17. Jameson JL et al. *MEDICINA INTERNA DE HARRISON*; [recurso eletrônico]. 20ª ed. Vol. 20. 2020.;
18. Sato Y, Takahashi M, Yanagita M. Pathophysiology of AKI to CKD progression. Vol. 40, *Seminars in Nephrology*. W.B. Saunders; 2020. p. 206–15;
19. Schlondorff DO. Overview of factors contributing to the pathophysiology of progressive renal disease. *Kidney Int.* 2008;74(7):860–6.;
20. López-Novoa JM, Martínez-Salgado C, Rodríguez-Peña AB, Hernández FJL. Common pathophysiological mechanisms of chronic kidney disease: Therapeutic perspectives. Vol. 128, *Pharmacology and Therapeutics*. 2010. p. 61–81;
21. Figurek A, Rroji M, Spasovski G. FGF23 in Chronic Kidney Disease: Bridging the Heart and Anemia. Vol. 12, *Cells*. MDPI; 2023;
22. Girndt M, Sester M, Sester U, Kaul H, Köhler H. Defective expression of B7-2 (CD86) on monocytes of dialysis patients correlates to the uremia-associated immune defect. *Kidney Int.* 2001;59(4):1382–9.;
23. Meyer TW, Hostetter TH. Medical progress uremia [internet]. vol. 357, *n engl j med*. 2007. disponível em: www.nejm.or;
24. Ando M, Shibuya A, Yasuda M, Azuma N, Tsuchiya K, Akiba T, et al. Impairment of innate cellular response to in vitro stimuli in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrology Dialysis Transplantation*. novembro de 2005;20(11):2497–503;
25. Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson RJ, Lindholm B, Pecoits-Filho R, Riella M, et al. IL-10, IL-6, and TNF- α : Central factors in the altered cytokine network of uremia-The good, the bad, and the ugly. Vol. 67, *Kidney International*. 2005;
26. Ando M, Shibuya A, Tsuchiya K, Akiba T, Nitta K. Reduced expression of Toll-like receptor 4 contributes to impaired cytokine response of monocytes in uremic patients. *Kidney Int.* 7 de julho de 2006;70(2):358–62;
27. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: Update on toll-like receptors. Vol. 11, *Nature Immunology*. 2010. p. 373–84;
28. Arici M, Walls J. End-stage renal disease, atherosclerosis, and cardiovascular mortality: Is C-reactive protein the missing link? Vol. 59, *Kidney International*. 2001;

29. Li J, Chen J, Lan HY, Tang Y. Role of C-Reactive Protein in Kidney Diseases. Vol. 9, Kidney Diseases. S. Karger AG; 2023. p. 73–81.
30. Macdougall IC, Cooper AC. Erythropoietin resistance: the role of inflammation and pro-inflammatory cytokines [Internet]. Disponível em: https://academic.oup.com/ndt/article/17/suppl_11/39/1943830;
31. Prietl B, Treiber G, Pieber TR, Amrein K. Vitamin D and immune function. Vol. 5, Nutrients. MDPI AG; 2013. p. 2502–21;
32. Chun RF, Liu PT, Modlin RL, Adams JS, Hewison M. Impact of vitamin D on immune function: Lessons learned from genome-wide analysis. Vol. 5 APR, Frontiers in Physiology. Frontiers Media SA; 2014;
33. Boonstra A, Barrat FJ, Crain C, Heath VL, Savelkoul HFJ, O’Garra A. $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D3 Has a Direct Effect on Naive CD4+ T Cells to Enhance the Development of Th2 Cells. *The Journal of Immunology*. 1º de novembro de 2001;167(9):4974–80;
34. Sita-Lumsden A, Laphorn G, Swaminathan R, Milburn HJ. Reactivation of tuberculosis and vitamin D deficiency: The contribution of diet and exposure to sunlight. *Thorax*. novembro de 2007;62(11):1003–7;
35. Nnoaham KE, Clarke A. Low serum vitamin D levels and tuberculosis: A systematic review and meta-analysis. Vol. 37, *International Journal of Epidemiology*. Oxford University Press; 2008. p. 113–9;
36. Wejse C, Olesen R, Rabna P, Kaestel P, Gustafson P, Aaby P, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D in a West African population of tuberculosis patients and unmatched healthy controls 1-3. Vol. 86, *Am J Clin Nutr*. 2007;
37. Gibney KB, MacGregor L, Leder K, Torresi J, Marshall C, Ebeling PR, et al. Vitamin D deficiency is associated with tuberculosis and latent tuberculosis infection in immigrants from sub-Saharan Africa. *Clinical Infectious Diseases*. 1º de fevereiro de 2008;46(3):443–6;
38. Adams JS, Sharma P, Gacad MA, Singer FR. Metabolism of 25-Hydroxyvitamin D3 by Cultured Pulmonary Alveolar Macrophages in Sarcoidosis;
39. Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* (1979). 24 de março de 2006;311(5768):1770–3;
40. Srivastava V, Manchanda M, Gupta S, Singla R, Behera D, Das G, et al. Toll-like receptor 2 and DC-SIGNR1 differentially regulate suppressors of cytokine signaling 1 in dendritic cells during Mycobacterium tuberculosis infection. *Journal of Biological Chemistry*. 18 de setembro de 2009;284(38):25532–41;
41. Luczynski P, Holmes T, Romanowski K, Arbiv OA, Cook VJ, Clark EG, et al. Risk of Tuberculosis Disease in People with Chronic Kidney Disease Without Kidney Failure: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clinical Infectious Diseases*. 15 de outubro de 2023;77(8):1194–200;

42. Cleuton M. Boletim Epidemiológico [Internet]. 2023. Disponível em: www.gov.br/saude;
43. Epidemiológico [Internet]. 2024. Disponível em: www.gov.br/saude;
44. Plano Estadual de Controle e Eliminação da TB;
45. Saúde M DA. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil [Internet]. Disponível em: www.saude.gov.br;
46. Saúde M DA. Protocolo de vigilância da infecção latente pelo Mycobacterium tuberculosis no Brasil [Internet]. Disponível em: www.saude.gov.br/svs;
47. Behr MASDR, Gamiieldien J, Hide W, Brown GD, Siezen RJ, Beyers AD. Mycobacterial virulence and specialized secretion: same story, different ending. *Nature*. 1º de outubro de 2007;
48. Majlessi L, Brodin P, Brosch R, Rojas MJ, Khun H, Huerre M, et al. Influence of ESAT-6 Secretion System 1 (RD1) of Mycobacterium tuberculosis on the Interaction between Mycobacteria and the Host Immune System. *The Journal of Immunology*. 15 de março de 2005;174(6):3570–9;
49. Gey van Pittius NC, Gamiieldien J, Hide W, Brown GD, Siezen RJ, Beyers AD. The ESAT-6 gene cluster of Mycobacterium tuberculosis and other high G+C Gram-positive bacteria. *Genome Biol*. 1º de outubro de 2001;2(10);
50. Derrick SC, Morris SL. The ESAT6 protein of Mycobacterium tuberculosis induces apoptosis of macrophages by activating caspase expression. *Cell Microbiol*. junho de 2007;9(6):1547–55;
51. Choi HH, Shin DM, Kang G, Kim KH, Park JB, Hur GM, et al. Endoplasmic reticulum stress response is involved in Mycobacterium tuberculosis protein ESAT-6-mediated apoptosis. *FEBS Lett*. junho de 2010;584(11):2445–54;
52. Zhang L, Zhang H, Zhao Y, Mao F, Wu J, Bai B, et al. Effects of Mycobacterium tuberculosis ESAT-6/CFP-10 fusion protein on the autophagy function of mouse macrophages. *DNA Cell Biol*. 1º de fevereiro de 2012;31(2):171–9;
53. Refai A, Gritli S, Barbouche MR, Essafi M. Mycobacterium tuberculosis virulent factor ESAT-6 drives macrophage differentiation toward the pro-inflammatory M1 phenotype and subsequently switches it to the anti-inflammatory M2 phenotype. *Front Cell Infect Microbiol*. 18 de setembro de 2018;8;
54. Chai Q, Lu Z, Liu CH. Host defense mechanisms against Mycobacterium tuberculosis. Vol. 77, *Cellular and Molecular Life Sciences*. Springer; 2020. p. 1859–78;
55. Westphalen K, Gusarova GA, Islam MN, Subramanian M, Cohen TS, Prince AS, et al. Sessile alveolar macrophages communicate with alveolar epithelium to modulate immunity. *Nature*. 2014;506(7489):503–6;

56. Kumar V, Prihker DN, Abbas AK, Aster JC. Robbins & Cotran Patologia-Bases Patológicas das Doenças 9ª EDIÇÃO;
57. Feng CG, Kaviratne M, Rothfuchs AG, Cheever A, Hieny S, Young HA, et al. NK Cell-Derived IFN- γ Differentially Regulates Innate Resistance and Neutrophil Response in T Cell-Deficient Hosts Infected with Mycobacterium tuberculosis . The Journal of Immunology. 15 de novembro de 2006;177(10):7086–93;
58. Joshi R, Patil S, Kalantri S, Schwartzman K, Menzies D, Pai M. Prevalence of abnormal radiological findings in health care workers with latent tuberculosis infection and correlations with T cell immune response. PLoS One. 29 de agosto de 2007;
59. Metcalfe JZ, Everett CK, Steingart KR, Cattamanchi A, Huang L, Hopewell PC, et al. Interferon- γ release assays for active pulmonary tuberculosis diagnosis in adults in low-and middle-income countries: Systematic review and meta-analysis. Vol. 204, Journal of Infectious Diseases. 2011;
60. American Thoracic Society Targeted Tuberculin Testing and Treatment of Latent Tuberculosis Infection [Internet]. Disponível em: www.atsjournals.org;
61. Lewinsohn DM, Leonard MK, Lobue PA, Cohn DL, Daley CL, Desmond E, et al. Official American thoracic society/Infectious diseases society of America/Centers for disease control and prevention clinical practice guidelines: diagnosis of tuberculosis in adults and children. Clinical Infectious Diseases. 15 de janeiro de 2017;64(2):111–5;
62. Kiazzyk S, Ball T. Latent tuberculosis infection: An overview. Canada Communicable Disease Report. 2 de março de 2017;43(3/4):62–6;
63. Huston P, Robinson H, Schanzer D, Poulin M, Patterson W, Amar J, et al. Canada communicable disease report. 2017;43(4);
64. Christopoulos AI, Diamantopoulos AA, Dimopoulos PA, Goumenos DS, Barbalias GA. Risk factors for tuberculosis in dialysis patients: A prospective multi-center clinical trial. BMC Nephrol. 2009;10 (1);
65. Sidhu A, Verma G, Humar A, Kumar D. Outcome of latent tuberculosis infection in solid organ transplant recipients over a 10-year period. Transplantation. 27 de setembro de 2014;98(6):671–5.;
66. Torres AV, Corrêa R da S, Bevilacqua M de F, do Prado LCF, Bandeira FMG de C, Rodrigues LS, et al. Screening of latent tuberculosis infection among patients with diabetes mellitus from a high-burden area in Brazil. Frontiers in Clinical Diabetes and Healthcare. 2022;3;
67. Cantini F, Nannini C, Niccoli L, Petrone L, Ippolito G, Goletti D. Risk of Tuberculosis Reactivation in Patients with Rheumatoid Arthritis, Ankylosing Spondylitis, and Psoriatic Arthritis Receiving Non-Anti-TNF-Targeted Biologics. Vol. 2017, Mediators of Inflammation. Hindawi Limited; 2017.;
68. Howard TP, Solomon DA. Reading the Tuberculin Skin Test Who, When, and How?;

69. Gey van Pittius NC, Gamielien J, Hide W, Brown GD, Siezen RJ, Beyers AD. The ESAT-6 gene cluster of *Mycobacterium tuberculosis* and other high G+C Gram-positive bacteria;
70. Smith I. *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis and molecular determinants of virulence. Vol. 16, *Clinical Microbiology Reviews*. 2003. p. 463–96;
71. Pai M, Denkinger CM, Kik S V., Rangaka MX, Zwerling A, Oxlade O, et al. Gamma interferon release assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(1):3–20;
72. Trajman A, Steffen RE, Menzies D. Interferon-gamma release assays versus tuberculin skin testing for the diagnosis of latent tuberculosis infection: An overview of the evidence. *Pulmonary Medicine*. 2013;
73. Pourakbari B, Mamishi S, Benvari S, Mahmoudi S. Comparison of the QuantiFERON-TB Gold Plus and QuantiFERON-TB Gold In-Tube interferon- γ release assays: A systematic review and meta-analysis. Vol. 64, *Advances in Medical Sciences*. Medical University of Bialystok; 2019. p. 437–4;
74. Hanna RM, Streja E, Kalantar-Zadeh K. Burden of Anemia in Chronic Kidney Disease: Beyond Erythropoietin. Vol. 38, *Advances in Therapy*. Adis; 2021. p. 52–75;
75. Kato A, Takita T, Furuhashi M, Maruyama Y, Kumagai H, Hishida A. Blood monocyte count is a predictor of total and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract*. dezembro de 2008;110(4);
76. Shu CC, Hsu CL, Lee CY, Wang JY, Wu VC, Yang FJ, et al. Comparison of the prevalence of latent tuberculosis infection among non-dialysis patients with severe chronic kidney disease, patients receiving dialysis, and the dialysis-unit staff a cross-sectional study. *PLoS One*. 28 de abril de 2015;10(4);
77. Shu CC, Tsai MK, Lin SW, Wang JY, Yu CJ, Lee CY. Latent tuberculosis infection increases in kidney transplantation recipients compared with transplantation candidates: A neglected perspective in tuberculosis control. *Clinical Infectious Diseases*. 15 de agosto de 2020;71(4):914–23;
78. Bandiara R, Indrasari A, Dewi Rengganis A, Sukesi L, Afiatin A, Santoso P. Risk factors of latent tuberculosis among chronic kidney disease with routine haemodialysis patients. *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis*. 1º de maio de 2022;27;
79. Ferreira V, Da Fonseca CD, Bollela VR, Romão EA, Da Costa JAC, De Sousa AFL, et al. Prevalence of latent tuberculosis and associated factors in patients with chronic kidney disease on hemodialysis. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2021;29;
80. Roy A, Eisenhut M, Harris RJ, Rodrigues LC, Sridhar S, Habermann S, et al. Effect of BCG vaccination against *Mycobacterium tuberculosis* infection in children: Systematic review and meta-analysis. *BMJ (Online)*. 5 de agosto de 2014;349;

81. Syggelou A, Spyridis N, Benetatou K, Kourkouni E, Kourlaba G, Tsagaraki M, et al. BCG vaccine protection against TB infection among children older than 5 years in close contact with an infectious adult TB case. *J Clin Med*. 1º de outubro de 2020;9(10):1–10;
82. Abubakar I, Pimpin L, Ariti C, Beynon R, Mangtani P, Sterne J, et al. Systematic review and meta-analysis of the current evidence on the duration of protection by bacillus Calmette-Guérin vaccination against tuberculosis. Vol. 17, *Health Technology Assessment*. 2013;
83. Santos AP, da Silva Corrêa R, Ribeiro-Alves M, da Silva ACOS, Mafort TT, Leung J, et al. Application of Venn's diagram in the diagnosis of pleural tuberculosis using IFN- γ , IP-10 and adenosine deaminase. *PLoS One*. 1º de agosto de 2018;13(8);
84. Friedrich R, Rappold E, Bogdan C, Held J. Comparative analysis of the wako B-glucan test and the fungitell assay for diagnosis of candidemia and *Pneumocystis jirovecii* pneumonia. *J Clin Microbiol*. 1º de setembro de 2018;56(9);
85. Ruhwald M, Dominguez J, Latorre I, Losi M, Richeldi L, Pasticci MB, et al. A multicentre evaluation of the accuracy and performance of IP-10 for the diagnosis of infection with *M. tuberculosis*. *Tuberculosis*. maio de 2011;91(3):260–7;
86. Okamoto M, Kawabe T, Iwasaki Y, Hara T, Hashimoto N, Imaizumi K, et al. Evaluation of interferon- γ , interferon- γ -inducing cytokines, and interferon- γ -inducible chemokines in tuberculous pleural effusions. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 2005;
87. Corrêa RDS, Rodrigues LS, Pereira LHL, Nogueira OC, Leung J, Sousa MDS, et al. Neutrophil CD64 expression levels in IGRA-positive individuals distinguish latent tuberculosis from active disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. February 1, 2019;114(2).

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO – UERJ
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS – FCM
LABORATÓRIO DE IMUNOPATOLOGIA – LIP

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título do projeto: INVESTIGAÇÃO DA TUBERCULOSE LATENTE EM PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA

Nome dos pesquisadores responsáveis: Profa. Dra. LUCIANA SILVA RODRIGUES

Nome dos médicos responsáveis: Prof. Dra RACHEL BREGMAN

Nomes e telefones de contato para questões e problemas: Dra. Luciana Silva Rodrigues, Telefone: (21) 2868-8690 e Dra Rachel Bregman, Telefone: (21) 2868-8045.

Justificativa do projeto:

O rim é o órgão responsável pela filtragem de substâncias e nutrientes no corpo humano, porém na doença renal crônica, o funcionamento deste órgão está prejudicado. Além das alterações renais, esta doença também está relacionada com a queda na resposta imunológica, o que pode levar ao aparecimento de outras doenças. Uma das doenças que mais acometem pacientes com baixa imunidade é a tuberculose, que é causada por uma bactéria que pode permanecer dormente no corpo, condição conhecida por tuberculose latente. É importante o seu rastreamento, pois o indivíduo infectado pode apresentar a doença ativa futuramente. Desta forma, estamos iniciando uma pesquisa que tem por finalidade investigar a tuberculose latente em pacientes com doença renal crônica e estudar a sua resposta imunológica, o que produzirá avanços para o entendimento de ambas as doenças.

Você, está sendo convidado (a) a participar desta pesquisa e é importante que leia esse documento com atenção para decidir se aceita ou não ser incluído no grupo que vai participar desse estudo. Se você decidir que não quer participar dessa pesquisa, a sua decisão será respeitada e o seu tratamento médico seguirá normalmente, não havendo nenhum prejuízo para a sua assistência médica enquanto durar o seu tratamento. Da mesma forma, se você aceitar participar da pesquisa e a qualquer momento quiser desistir dessa participação, a sua assistência médica continuará normalmente. Para a pesquisa será necessária a coleta de sangue. Esse material será utilizado para a realização de testes que indiquem a tuberculose latente e, será armazenado no Laboratório de Imunopatologia da Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Caso você deseje, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável para esclarecer eventuais dúvidas.

Para maiores detalhes sobre os riscos, inconveniências, desconfortos e outras informações pertinentes relativas à sua participação neste projeto, veja a seção seguinte.

Procedimentos e riscos:

Um profissional treinado para a coleta de sangue fará a punção da veia do seu braço, utilizando material descartável. O procedimento durará de 5 a 10 minutos, e é idêntico aquele usado quando se coleta sangue para exames laboratoriais de rotina. Os possíveis desconfortos e riscos, se ocorrerem, são aqueles relacionados com a retirada de sangue, como dor local e/ou hematoma (mancha roxa) no local, e infecção (muito raramente). A quantidade de sangue necessária para o estudo é de aproximadamente 15mL, e não causará nenhuma complicação à sua saúde.

Benefícios:

Esse estudo beneficiará futuramente toda a população, pois permitirá compreender o funcionamento do sistema imunológico de indivíduos com doença renal crônica e sua associação com a tuberculose latente. Os resultados deste estudo serão apresentados em reuniões e publicações científicas sempre sem identificação dos participantes.

Ressarcimento de Despesas:

Não haverá nenhum tipo de compensação financeira para os participantes da pesquisa. Por outro lado todos os exames adicionais e de rotina serão feitos no Hospital Universitário Pedro Ernesto e não serão cobrados.

Confiabilidade:

As pessoas que vão puncionar a sua veia e coletar o seu sangue e, os pesquisadores que estão coordenando este estudo irão tratar sua identidade com padrões profissionais de confiabilidade. O seu nome não estará nas amostras, e ninguém com exceção dos pesquisadores do estudo, será capaz de identificar você como doador desta amostra.

Responsabilidade:

A Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto, responsabilizará o coordenador do estudo por qualquer transtorno que aconteça durante o mesmo.

Inclusão em grupo controle sadio

Caso você não seja paciente atendido no ambulatório e tenha suas funções renais consideradas normais, você está sendo convidado a participar do estudo como parte do grupo controle sadio.

Participação Voluntária/Retirada:

Sua participação neste estudo é completamente voluntária. Cabe a você decidir se quer participar ou não. Mesmo se decidir participar, você é livre para desistir do estudo a qualquer momento sem dar um motivo ou explicação. Isto não afetará seu cuidado médico.

Concordância para fazer parte do Estudo

Assinando este documento você concorda que:

- 1- Você esclareceu todas as dúvidas sobre o Estudo.
- 2- Você é voluntário (a) para participar deste Estudo.

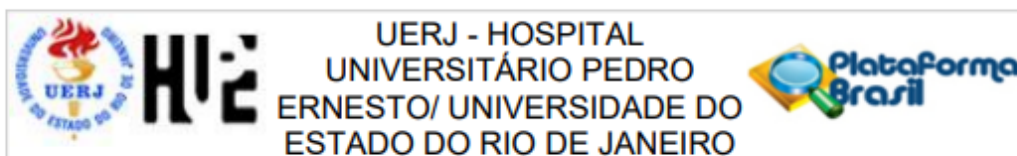
Nome _____	Data: __/__/__
Assinatura _____	
Nome (Testemunha, se aplicável) _____	Data: __/__/__
Assinatura (Testemunha, se aplicável) _____	
Nome (Representante legal, se aplicável) _____	Data: __/__/__
Grau de parentesco com o paciente: _____	
Assinatura (Representante legal, se aplicável) _____	

Doença de base (vide prontuário):	
1. Diabetes	5. Doença renal policística
2. Hipertensão	6. Tumor renal
3. Nefrite túbulo-intersticial	7. Indeterminada
4. Glomerulonefrite	8. Outros (_____)
Uso de medicamentos	Se sim, qual?
a) Sim	1. Anti-hipertensivos
b) Não	2. Insulina
c) Sem dado	3. Esquema antituberculose
	4. Diurético
	5. Imunossupressores
	6. Quimioterápico
	7. Antibiótico
	8. Outros (_____)
Tabagista	1. Sim 2. Não
Etilista	1. Sim 2. Não

Assinatura do pesquisador responsável pelo preenchimento:

Assinatura _____

ANEXO A– Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**Título da Pesquisa:** Tuberculose latente na doença renal crônica**Pesquisador:** Luciana Silva Rodrigues**Área Temática:****Versão:** 1**CAAE:** 42338720.4.0000.5259**Instituição Proponente:** Hospital Universitário Pedro Ernesto**Patrocinador Principal:** FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ**DADOS DO PARECER****Número do Parecer:** 4.624.686**Apresentação do Projeto:**

Transcrição editada do conteúdo registrado no protocolo e dos arquivos anexados à Plataforma Brasil.

É estimado que um quarto da população mundial esteja infectada pelo Mycobacterium Tuberculosis (Mtb), agente causador da Tuberculose –

doença que apresenta alto grau de morbi- e mortalidade global (OMS, 2019). A tuberculose latente (TBL) é definida como uma condição na qual se

estabelece uma imunidade parcial e persistente ao Mtb, porém sem evidências clínicas da doença ativa. No entanto, diversos fatores estão

associados à reativação de um foco infeccioso e desenvolvimento da tuberculose ativa, tais como terapias imunossupressoras e doenças crônicas

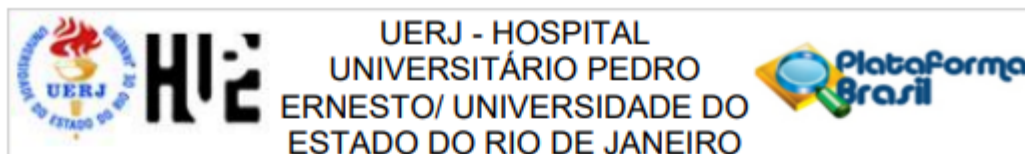
não transmissíveis, a exemplo do Diabetes Mellitus e da Doença Renal Crônica (DRC). Sabe-se que a imunidade celular, representada

principalmente pelos linfócitos T CD4+ (Th1) capazes de produzir altas concentrações de interferon-gama (IFN-g), constitui o principal mecanismo de

defesa contra o Mtb. Em particular, os indivíduos com DRC em estágios mais avançados (3b-5) apresentam alterações significativas na resposta

imune inata e adaptativa devido à uremia, o que os torna mais vulneráveis à infecções por

Endereço: Av. 28 de setembro, nº77 - CePeM - Centro de Pesquisa Clínica Multiusuário - 2º andar/sala nº 28 - prédio
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **E-mail:** cep@hupe.uerj.br



Continuação do Parecer: 4.624.686

desenvolvimento da pesquisa; O Comitê de Ética solicita a V. S^a., que encaminhe relatórios parciais de andamento a cada 06 (seis) Meses da pesquisa e ao término, encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto; Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1533049.pdf	01/09/2020 11:33:47		Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_DRC_TBL_projeto_CEP.pdf	25/08/2020 17:36:23	Luciana Silva Rodrigues	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Plano_de_Trabalho.pdf	25/08/2020 17:32:53	Luciana Silva Rodrigues	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	25/08/2020 17:31:52	Luciana Silva Rodrigues	Aceito
Declaração de concordância	Carta_CEP_Nefro_HUPE_TBL.pdf	25/08/2020 17:25:00	Luciana Silva Rodrigues	Aceito
Outros	Questionario_Grupo_Control.pdf	23/07/2020 09:32:31	Luciana Silva Rodrigues	Aceito
Outros	Questionario_pacientes.pdf	23/07/2020 09:31:25	Luciana Silva Rodrigues	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	23/07/2020 08:07:57	Luciana Silva Rodrigues	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	22/07/2020 23:17:52	Luciana Silva Rodrigues	Aceito

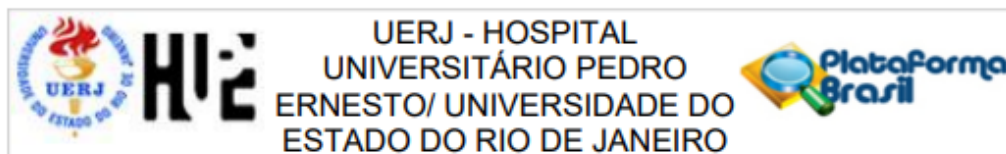
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. 28 de setembro, nº77 - CePeM - Centro de Pesquisa Clínica Multiusuário - 2º andar/sala nº 28 - prédio
Bairro: Via Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **E-mail:** cep@hupe.uerj.br



Continuação do Parecer: 4.624.686

RIO DE JANEIRO, 31 de Março de 2021

Assinado por:
WILLE OIGMAN
(Coordenador(a))

Endereço: Av. 28 de setembro, nº77 - CePeM - Centro de Pesquisa Clínica Multiusuário - 2º andar/sala nº 28 - prédio
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **E-mail:** cep@hupe.uerj.br

ANEXO B – Manuscrito submetido

BMC Infectious Diseases

Use of interferon-gamma release assay (IGRA) and CXCL-10/IP-10 for screening of latent tuberculosis infection (LTBI) in chronic kidney disease and hemodialysis patients

Juliana Cristina Borges da Silva^{1&}, Nathália Barcellos Vieira^{1&}, Marcelo Ribeiro-Alves², Roberto Stefan de Almeida Ribeiro¹, Carla Cavalheiro da Silva Lemos³, Renata Mendes³, Conrado Lysandro Rodrigues Gomes³, Ana Paula Santos⁴, José Hermógenes Suassuna³, Rachel Bregman³ and Luciana Silva Rodrigues^{1*}

¹Laboratory of Immunopathology, Medical Sciences Faculty, Rio de Janeiro State University (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil; ²Laboratory of Clinical Research on STD/AIDS, National Institute of Infectology Evandro Chagas, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, RJ, Brazil; ³Nephrology Division, Pedro Ernesto University Hospital (HUPE), UERJ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil; ⁴Pulmonary and Tisiology Division, HUPE, UERJ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

[&]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author: Prof. Luciana Silva Rodrigues; Rio de Janeiro State University, Medical Sciences Faculty, Avenida Professor Manoel de Abreu, 444 - 4º andar, Maracanã, Rio de Janeiro, RJ, Brazil. CEP: 20.550-170; lrodrigues.uerj@gmail.com

ABSTRACT

Background: There is growing evidence that patients with chronic kidney disease (CKD) show a high risk of acquiring latent tuberculosis infection (LTBI) or of developing active TB. However, diagnosing LTBI is still a challenge based on current tests which reflect the cellular immunity against *Mycobacterium tuberculosis* infection – that may be compromised in this population. Herein, we evaluated the prevalence of LTBI among patients with CKD and those in routine hemodialysis, and LTBI predictors.

Methods: A prospective cross-sectional study was conducted in a tertiary nephrology reference hospital, Rio de Janeiro, Brazil. LTBI was diagnosed using interferon-gamma release assay (IGRA; QuantiFERON-TB Gold Plus [QFT-Plus]). CXCL-10/IP-10 release assay was determined from QFT-Plus supernatants.

Results: A total of 123 patients were enrolled in the study, 111 (90.2%) from the CKD group and 12 (9.8%) from the hemodialysis (HD). IGRA showed 39 (31.7%) positive results in the general study population: 36/111 (32.4%) in CKD and 3/12 (25%) in HD groups. Indeterminate IGRA results were observed in 4/123 (3.3%) patients. CXCL-10/IP-10 positive results were seen in 39/123 (39.8%) patients. Multivariate regression analysis identified that non-vaccination with BCG (aOR 7.41 [CI 2.15-25.48]; $p = 0.0014$) and the positivity for CXCL-10/IP-10 assay (aOR 4.48 [CI 1.87-10.76]; $p = < 0.001$) were independent risk factors for LTBI among DRC and HD patients.

Conclusion: The IGRA QFT-Plus was shown to be a useful method in the surveillance of LTBI in critical stages of CKD and routine hemodialysis. Mtb-specific CXCL-10/IP-10 responses were associated with a positive IGRA and could provide an useful adjuvant LTBI biomarker in this population.

Keywords: chronic kidney disease, hemodialysis, latent tuberculosis, tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, and renal failure.

BACKGROUND

Tuberculosis (TB), a disease caused by the bacillus *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), is still an important global public health problem, requiring effective strategies for its control. According to the World Health Organization (WHO), in 2022, approximately 7.5 million people were diagnosed with TB, and it is estimated that around 10.6 million individuals became ill worldwide. Although about a quarter of the world's population is infected with Mtb, some individuals develop a partial immunity, with no signs or symptoms, and unable to spread the infection but in high risk to develop active disease (1,2). In these cases, the bacilli remain in a histological organization called *granuloma*, in small quiescent foci – a condition known as *Latent Tuberculosis Infection* (LTBI) (3–5).

Several conditions can contribute to the activation of this quiescent infectious focus and its progression to active TB, being the weakening or interference in the immune system the most significant factor. It is known that cellular immunity is the main effective defense mechanism against TB, which is mainly represented by CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes (Th1 response) producing interferon-gamma (IFN- γ) – a key cytokine involved in classical macrophage activation and, consequently, Mtb killing. Other cytokines such as IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-12, tumor necrosis factor (TNF), and chemokines such as CXCL10/interferon- γ -inducible protein-10 (IP-10) are also essential for containing the bacillus (2,4). However, when the pathogen is not completely eradicated, it persists in a state of latency (4–6) and the evolution of LTBI to active TB can occur depending on a complex and intricate relation between Mtb and host factors (3).

Since the immune system is significant in containing the bacillus, a direct attention to populations at risk for TB is mandatory, such as Diabetes mellitus (DM), rheumatoid arthritis, inflammatory bowel diseases (IBD) and chronic kidney disease (CKD), among others non-communicable diseases (7–9). For instance, CKD patients present 8 to 25 times higher

increased risk of developing active TB compared to general population (6,10). Also, mortality rates associated with TB are even higher, especially among those on renal replacement therapy (RRT) (11,12). The uremic state in CKD, characterized by the retention of toxins, disrupts the immune system and results in a decrease of B7-2 co-stimulatory molecule expression in antigen-presenting cells, interfering with the function of polymorphonuclear cells and monocytes/macrophages by altering their phagocytic capacity, low efficiency of chemotactic migration and a decrease in cellular response in the control of intracellular microorganisms (13,14). Screening and prophylactic treatment of LTBI in this population may reduce the risk of developing the active disease, and could reduce the spread of TB.

There is not a gold standard test for diagnosing LTBI. Currently, there are two immunological standardized tests in the diagnostic routine: i) the tuberculin skin test (TST) and ii) interferon-gamma release assay (IGRA), such as QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) and T. SPOT-TB (15). Both different diagnostic methods depend on the cellular immune response against *Mtb*, reflecting an indirect measurement of the infection, and have been used to detect LTBI among CKD patients (11,15,16). A recent systematic review and meta-analysis has found a high pooled prevalence of LTBI in CKD patient, however showing a heterogeneity regarding severity status of renal failure, laboratorial method used to detect LTBI, and TB burden areas (17). Therefore, despite the recognized relevance of the association between LTBI and CKD, robust investigations are lacking. In this work, we aimed to determine the prevalence of LTBI in CKD patients at different stages of the disease (3b to 5) or on hemodialysis (HD) using QFT-Plus – the fourth and last generation of this IGRA, and identify LTBI predictors.

METHODS

Participant enrollment and ethical approval

This prospective cross-sectional study was conducted in a tertiary referral medical center in Rio de Janeiro, RJ, Brazil, under the approval of the Research Ethics Committee from the Hospital Universitario Pedro Ernesto (HUPE), Rio de Janeiro State University (UERJ), number 4.624.686. All the enrolled participants provided signed informed-consent forms.

Between August 2021 and September 2023, adult patients (age ≥ 18 years) with chronic kidney disease (CKD group) in stages 3b (estimated glomerular filtration rate [eGFR] 44-30 mL/min/1.73 m²), 4 (eGFR 30-15 mL/min), or 5 (eGFR < 15 mL/min/1.73 m²) from the nephrology outpatient clinic, and patients who received long-term (> 3 months) hemodialysis (HD group), both from HUPE/UERJ, were diagnosed and recruited based on Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) guidelines (10). The eGFR was calculated for the CKD group using the CKD-EPI 2021 equation (10). Patients with previous TB, pregnant women, and those using immunosuppressants were excluded from the study.

Data collection

Demographic and clinical data (including age, sex, residence, etiology of CKD, underlying comorbidities, history of TB, history of close contact with an index TB case, history of BCG vaccination, smoking status, and alcoholic drink status) were collected from medical records and/or case report forms, previously approved by Ethics Committee from HUPE/UERJ. Laboratory tests such as hemogram (total blood leucocyte and differential counts) and biochemical analysis (glycated hemoglobin percentage, C-reactive protein, serum albumin concentration, blood urea nitrogen concentration, and creatinine concentration) were carried out by the HUPE/UERJ central laboratory and recovered from hospital's electronic system.

Interferon-gamma release assay (IGRA)

LTBI status was determined by interferon-gamma release assay (IGRA) QuantiFERON TB Gold-Plus Kit (QFT-Plus; QIAGEN) according to the manufacturer's instructions (15). Briefly, peripheral blood samples were collected by venipuncture using lithium heparin tubes (BD Vacutainer) and transferred for each QFT-Plus tubes: i) negative control (Nil); ii) TB1 Mtb-specific antigens (Mtb-specific antigens to stimulate mainly CD4⁺ T cells); iii) TB2 (Mtb-specific antigens to stimulate both CD4⁺ and CD8⁺ T cells); and, iv) positive control (Mitogen). After overnight incubation at 37 °C, tubes were centrifuged at 3,000 x g, 25 °C for 15 minutes, plasma supernatants were collected from each tube stored in 150 µL aliquots at -80 °C. Samples were then subjected to specific QFT-Plus enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) to measure IFN- γ levels. Results were expressed in IU/mL and categorized as positive when IFN- γ in response to Mtb-specific antigens (TB1 or TB2 minus negative [Nil] control) were ≥ 0.35 IU/mL. Indeterminate results were defined as IFN- γ from Nil tube > 8.0 IU/mL or Mitogen < 0.5 IU/mL. Results were calculated using the QuantiFERON-TB Gold Plus Analysis Software 2.71. The range QFT-Plus ELISA assay was 0.065 IU/mL to 10.0 IU/mL.

CXCL-10/IP-10 release assay

CXCL-10/IP-10 Mtb-specific responses were measured using plasma supernatants from QFT-Plus, following the manufacturer's instruction. CXCL-10/IP-10 levels were assessed by ELISA sandwich using human CXCL-10/IP-10 DuoSet ELISA (R&D Systems Inc, MN, USA). The ELISA plate was read using a microplate reader (Thermo Scientific Multiskan™ FC) and the results were analyzed using Skanit 6.0.1 software. The range of these assays was 31.3-10,000 pg/mL. We previously determined the area under the curve (AUC) and cutoff values, in which significant results from AUC analysis were obtained [AUC, 0.8750; 95% confidence interval (CI), 0.744-1.006, $p < 0.0001$] for the CXCL-10/IP-10 responses to Mtb-antigens into

QFT-Plus tubes. For scoring, a cutoff point was chosen to maximize the sum of sensitivity and specificity. A positive result was defined as (Mtb antigens [TB 1 or TB2]-stimulated CXCL-10/IP-10 levels) subtracted by (Nil-stimulated CXCL-10/IP-10 levels) ≥ 535.9 pg/mL, as previously reported (18).

Statistical analysis

For continuous numerical variables, non-parametric Mann-Whitney U tests were used in the comparison of baseline demographic and clinical variables, while for categorical nominal variables, Pearson χ -squared tests were used in the assessment of frequency independence between these variables and the groups of chronic kidney disease (CKD) patients. The comparison between the log-transformed (base 10) production levels of QFT-Plus (Nil, Mitogen, specific TB antigens, and other measures obtained by subtracting the above) and others used the expected/mean marginal values and their 95% confidence intervals obtained from fixed-effects multiple linear (log-linear) regression models with the inclusion of main effects, chronic kidney disease groups and confounding variables (e.g., age, race, hypertension, and diabetes mellitus). Graphical analyses of residuals were carried out for the adjusted models to confirm their randomness. In pairwise comparisons between expected/average marginal values obtained from multiple linear regression models (Student's T-test), confidence level adjustments were made using the Sidak method, and p-value adjustments for multiple comparisons using the Tukey method; the latter only in cases where the main exposure variable had more than 2 levels. To estimate risk factors associated with LTBI or QFT-Plus positivity among CKD patients, multiple fixed-effect binomial models (multivariate logistic analysis) were used, including as main effects variables possibly associated with the QFT-Plus result and confounding variables (variables with at least suggestive levels, p-value < 0.1 (e.g., age, sex, and history of BCG vaccination), in the simple/univariate analyses. The results were presented

as OR (Odds-ratio) and aOR (Adjusted Odds-ratio) and their 95% confidence intervals. Whenever necessary, we categorized continuous numerical variables using as cut-offs the round whole number closest to their medians or tertiles (i.e., at 33% and 66%). Two-tailed significance levels less than or equal to 0.01, 0.05, and 0.1 were considered ‘highly significant’, ‘significant,’ and ‘suggestive’, respectively. All statistical analyses were conducted using R version 4.1.2 (R Core Team, 2021), packages ‘lme4’, ‘emmeans”, and their dependencies.

RESULTS

Overview of the study population

A total of 125 patients attended in nephrology outpatient and at the dialysis-unit from Pedro Ernesto University Hospital, Rio de Janeiro, Brazil, were prospectively enrolled in this study. All individuals met the eligibility criteria initially proposed. However, two patients were excluded due to insufficient blood sample collection to perform cytokine release assays. Therefore, the final study population was composed by two groups, as follow: i) CKD group: patients with CKD with eGFR < 45ml/min, classified in stages 3b to 5 (n = 111); and, ii) HD group: patients requiring renal replacement therapy by hemodialysis (n = 12), as depicted in **Figure 1**.

A baseline analysis of the clinical and sociodemographic characteristics of the study population is shown in **Table 1**. We observed that 51 (45.9%) and 7 (58.3%) were male (p = 0.608), with a mean age of 66 years and 54 years (p = 0.015), in the CKD and HD groups respectively. The predominant CKD stage in this study was: stage 4 with 63 (56.8%) subjects, followed by stage 3 with 29 (26.1%) and stage 5 with 19 (17.1%) (p ≤ 0.001). The commonest causes of CKD were diabetes mellitus, showing 50 (45%) cases in CKD and 2 (16%) in HD, followed by arterial hypertension with 24 (21.6%) CKD and 4 (33.3%) in HD. Among the study population, 21 (18.9%) in the CKD group and 3 (25%) in the HD one had contact with an index

TB case. Regarding the history of BCG vaccination in childhood, 95 (85.6%) in the CKD group and 12 (100%) in the HD group showed the vaccination scar.

Table 2 shows the laboratory characteristics, where it was possible to observe significantly lower counts of hemoglobin ($p = 0.032$), total leukocytes ($p = 0.023$), and lymphocytes ($p = 0.017$) in the HD group compared to CKD. Furthermore, an higher monocyte blood count was seen in HD group ($p = 0.044$).

Table 1: Baseline characteristics of the study population

Characteristics	CKD (n=111)	HD (n=12)	P-value
Age, years (IQR)	66 (12.5)	54 (11.25)	0.015
Male gender	51 (45.9)	7 (58.3)	0.608
BCG vaccination	95 (85.6)	12 (100)	0.338
Contact with TB	21 (18.9)	3 (25)	0.903
Current smoking	13 (11.9)	2 (16.7)	0.991
Current alcohol drinking	20 (18.3)	3 (25)	0.865
Locality residence			0.057
Rio de Janeiro	74 (66.7)	12 (100)	
Metropolitan region	34 (30.6)	0	
Others	3 (2.7)	0	
Cause of CKD			0.308
Diabetes mellitus	50 (45)	2 (16.7)	
Hypertension	24 (21.6)	4 (33.3)	
Glomerulonephritis	7 (6.3)	1 (8.3)	
Others	30 (27)	5 (41.7)	
CKD stage			< 0.001
3b	29 (26.1)	NA	
4	63 (56.8)	NA	
5	19 (17.1)	NA	

Data are expressed as number (%) or interquartile range (IQR). Pearson χ^2 -squared tests were used in the assessment of frequency independence between variables and the CKD and HD patients' groups. Abbreviations: CKD: chronic kidney disease; HD: hemodialysis; BCG: bacillus Calmette–Guérin; TB: tuberculosis; NA: not applicable. P-value ≤ 0.05 was considered significant.

Table 2: Laboratory characteristics of the study population

Characteristics	CKD (n=111)	HD (n=12)	P-value
Hemoglobin, g/dL	12.06 [11.42 - 12.70]	10.81 [9.59 - 12.03]	0.032
Total leukocytes, cells/mm ³	6627.76 [5806.74 - 7448.79]	4936.54 [3372.32 - 6500.75]	0.023
Neutrophils, cells/mm ³	4106.49 [3464.12 - 4748.86]	3299.75 [2073.60 - 4525.91]	0.164
Monocytes, cells/mm ³	604.64 [447.20 - 762.08]	891.89 [591.37 - 1192.42]	0.044
Lymphocytes, cells/mm ³	1742.54 [1508.11 - 1976.97]	1233.24 [785.76 - 1680.71]	0.017
Glycated hemoglobin, %			
Diabetics	6.96 [6.72 - 7.20]	5.23 [4.19 - 6.28]	0.009
Others	5.41 [5.13 - 5.68]	5.14 [4.51 - 5.77]	0.872
C-reactive protein, mg/dL			
Diabetics	5.42 [3.15 - 7.68]	5.80 [-0.85 - 12.45]	0.999
Others	2.38 [-0.48 - 5.25]	7.17 [3.23 - 11.10]	0.208
Albumin, g/dL	4.12 [4.01 - 4.24]	3.87 [3.27 - 4.47]	0.388
eGFR, mL/min/1.73 m ²			< 0.001
3b stage	36.58 [34.47 - 38.69]	NA	
4 stage	22.78 [21.24 - 24.31]	NA	
5 stage	13.73 [11.40 - 16.05]	NA	

Data are expressed as marginal mean marginal values [95% confidence interval]. Mean marginal values and their 95% confidence intervals were obtained from fixed-effects multiple linear (log-linear) regression models with the inclusion of main effects, chronic kidney disease groups and confounding variables (e.g., age and race). Abbreviations: CKD: chronic kidney disease; HD: hemodialysis; BCG: bacillus Calmette–Guérin; TB: tuberculosis; eGFR: estimated glomerular filtration rate; NA: not applicable. P value ≤ 0.05 was considered significant.

Latent tuberculosis infection prevalence in CKD and HD patients

Almost one-third (31.7%; 39/123) of the overall population showed positive results for IGRA, being 36/111 (32.4%) in the CKD and 3/12 (25%) in the HD group. Indeterminate results were found in 4 (3.3%) subjects, one of them from the HD group. Evaluating the IGRA results among the CKD subgroups, we observed 37.9% (11/29) positive and 58.6% (17/29) negative in stage 3b. Meanwhile, in stage 4 we observed 31.7% (20/63) positive and 65.1% (41/63) negative, and in stage 5, 26.3% (5/19) were considered positive and 73.3% (14/19) negative (**Figure 2**). All patients showed satisfactory responses to positive control (mitogen; data not shown).

Since IGRA QFT-Plus provides *in vitro* IFN- γ blood levels produced mainly by CD4⁺ (TB1 QFT-tube) or both CD4⁺ and CD8⁺ T cells (TB2 QFT-tube) in response to Mtb-specific antigens, we also evaluate the LTBI status regarding the responsiveness by each QFT-tube between CKD and HD groups. Most CKD patient responders, as well as all HD patients, have shown TB1 and TB2 concomitant positivity (**Table 3**).

Table 3: Responses to QFT-TB1 and QFT-TB2 Mtb-specific antigens

N (%) of QFT-Plus responders	CKD (n = 36)	HD (n = 3)
TB1 <i>only</i>	4 (11.1)	0
TB2 <i>only</i>	8 (22.2)	0
TB1, TB2 <i>concomitant</i>	24 (66.6)	3 (100)
TB1 <i>or</i> TB2	12 (33.3)	0

Abbreviations: QFT-Plus, Quanti-FERON-TB Gold Plus; CKD, chronic kidney disease; HD, hemodialysis; TB1-TB2, Mtb-specific antigens in QFT-Plus tubes.

CXCL-10/IP-10 Mtb-specific responses between CKD and HD patients

We identified a predominance in the percentage of CXCL-10/IP-10 assay positivity in stage 3b with 48.5% (14/29) and 51.7% (15/29) negative, in stage 4 38.1% (24/63) positive and 61.9% (39/63) negative, while in stage 5 we observed 36.8% (7/19) positive and 63.2% (12/19) negative. Furthermore, 33.3% (4/12) were positive in the HD group (**Figure 3**).

Interestingly, positive responses to IGRA *or* CXCL-10/IP-10 assays were found in 52.3% (58/111) CKD and 41.7% (5/12) in HD patients (data not shown).

Risk factors associated with LTBI status in CKD and HD patients

In the multivariable logistic (binomial family) regression analysis, it was possible to evaluate the independent risk factors associated with LTBI by IGRA QFT-Plus positivity (**Table 4**). We have identified that non-vaccination of BCG in childhood (aOR 7.41 [CI 2.15-25.48]; $p = 0.0014$) and CXCL-10/IP-10 assay positivity (aOR: 4.48 [1.87-10.76]; $p \leq 0.001$) were independent risk factors for test positivity. Although not significant, it is worth of note the tendencies of associations with lower counting of monocytes in the blood ($p = 0.075$) and the family history of CKD ($p = 0.07$).

Table 4: Independent risk factor associated with LTBI in the study population

Risk factors	Negative QFT (n=80)	Positive QFT (n= 39)	OR [CI95%]	P-value	aOR [CI95%]	P-value
CKD	72 (90%)	36 (92.31%)	0.75 [0.19-3]	0.68	0.96 [0.23-3.96]	0.95
HD	8 (10%)	3 (7.69%)				
Gender						
Male	33 (41.25%)	22 (56.41%)	1.84 [0.85-4]	0.12	1.82 [0.8-4.13]	0.15
Female	47 (58.75%)	17 (43.59%)				
Family history of DRC	32 (40%)	7 (17.95%)	0.33 [0.13-0.83]	0.012	0.41 [0.15-1.07]	0.07
Non-vaccination with BCG	4 (5%)	11 (28.21%)	7.46 [2.2-25.38]	0.001	7.41 [2.15-25.48]	0.0014
Contact with index TB case	13 (16.25%)	8 (20.51%)	1.33 [0.5-3.54]	0.56	1.76 [0.61-5.09]	0.3
Current smoking	9 (11.39%)	6 (15.79%)	1.46 [0.48-4.44]	0.50	1.35 [0.4-4.54]	0.62
Current alcohol drinking	13 (16.46%)	9 (23.68%)	1.58 [0.61-4.1]	0.35	1.4 [0.5-3.95]	0.52
CXCL-10/IP-10 assay						
Negative	57 (71.25%)	14 (35.9%)				
Positive	23 (28.75%)	25 (64.1%)	4.43 [1.96-9.99]	<0.001	4.48 [1.87-10.76]	<0.001
Monocytes blood counting	NA	NA	2.22 [0.99-4.98]	0.054	2.23 [0.92-5.39]	0.075

Data are expressed as OR (Odds-ratio) and aOR (Adjusted Odds-ratio) and their 95% confidence intervals. Risk factors associated with LTBI or QFT-Plus positivity among CKD patients were estimated by multiple fixed-effect binomial models (multivariate logistic analysis) including as main effects variables possibly associated with the QFT-Plus result and confounding variables (variables with at least suggestive levels, p-value < 0.1 (e.g., age, sex, and history of BCG vaccination), in the simple/univariate analyses. Abbreviations: IFN- γ : interferon-gamma; IP-10: interferon-gamma inducible protein of 10-kD. CKD: chronic kidney disease; HD: hemodialysis; BCG: bacillus Calmette–Guérin; TB: tuberculosis; NA: not applicable odds ratio; CI, confidence interval; aOR, adjusted odds ratio.

DISCUSSION

Although CKD is recognized as a risk factor for the development of active tuberculosis (1,7), the literature evidence on its association with LTBI is still limited, especially based on the diverse cohort study design, the severity of the renal failure (progression stages), and diagnostic methods. To our knowledge, herein we report for the first time, the use of the fourth generation of IGRA QFT-Plus, which is designed to evaluate of Mtb-specific response by both CD4⁺ and CD8⁺ T cells, to estimate the prevalence of LTBI in different statuses of CKD and long-term hemodialysis patients in a tertiary reference center from a high TB burden area. We found that one-third of our study population had LTBI, being 32.4% in CKD and 25% in hemodialysis patients – which is higher than the estimated prevalence in the general population, where is considered that around one-fourth of the worldwide is latent infected by Mtb, as reported by WHO (2). Also, a positive CXCL-10/IP-10 assay and lack of BCG vaccination in childhood were associated to LTBI as important independent risk factors.

Considering that the screening of vulnerable populations and prophylactic treatment of LTBI are priority strategies to prevent the progression to active disease, its worth of note that patients with CKD are more susceptible to infections in general due to their compromised immune system (19). CKD progression is correlated with a reduction in CD4⁺ and CD8⁺ T cells (20), which are essential for cellular immune defense against Mtb (3). *In vitro* studies have demonstrated that the capacity of T cell proliferation is reduced in the uremic environment (20,21). Additionally, clinical data analysis of our cohort has revealed that 52% of participants had DM as their underlying disease, an important aspect recognized as a factor associated with both LTBI and the development of active tuberculosis (1,9). Its well-recognized that hyperglycemic condition in DM is also associated with an interfering in both innate and adaptative immune system (9). Interestingly, in our cohort, we observed LTBI in 37.9% of patients in stage 3b, followed by 31.7% in stage 4, 26.3% in stage 5, and 25% in the HD group.

Based on these findings, we could speculate that, although non-statistically significant, this percentage decrease in IGRA results among the status of severity in CKD patients could be explained by a set of clinical conditions associated with the renal dysfunction and, consequently reduced capacity to build a robust or pronounced *in vitro* cellular immune response.

Previous studies report that high C-reactive protein (CRP) levels are attributed to the degree of pre-existing inflammation in patients with renal dysfunction (13,22,23). In our cohort, it was no different, the mean CRP levels were 6.96 mg/dL in the CKD group and 5.23 mg/dL in the HD group. From this, it is important to highlight that indeterminate results were associated with high levels of basal IFN- γ (Nil tube, data not shown), once all patients were responsive to positive control (mitogen). There were 2.7% and 8.3% indeterminate results in the CKD and HD groups, respectively. Consequently, the underlying inflammation and elevated non-specific IFN- γ levels led to indeterminate diagnostic test results.

The interaction between CKD and compromised immune response demonstrates the need for more advanced diagnostic methods to identify LTBI early. The current methods available measure the cellular memory response to the bacillus antigens, as follow: the tuberculin skin test (TST) used for more than a century (1,24) and the newest IGRA (QuantiFERON TB and T-SPOT-TB) (7,15). Studies indicate that QFT-Plus, in its 4th generation, has greater sensitivity compared to QFT-Gold In Tube (QFT-GIT), this finding can be attributed to the addition of the TB2 tube sensitized to CD8⁺ T cells responses (15,24). In agreement, our study observed 22.2% positive results for the TB2 tube alone, reinforcing the importance of the CD8⁺ T cell response in detecting latent Mtb infection.

A study conducted in Taiwan, China, using the QFT-GIT to diagnose LTBI, recorded 25% positive results among hemodialysis patients and 11% in individuals with severe CKD with eGFR < 30 mL/min/1.73 (stages 4 and 5) (25). Another study conducted in Taiwan in 2020, carried out on pre-kidney transplant individuals, observed a 20% positivity rate for the QFT-

GIT (16). In Thailand, a study using the IGRA T. SPOT-TB, revealed a prevalence of 22.5% in its CKD study population, being: 25% in stage 1, 12.5% in stage 2, 25, 0% in stage 3a, 25.0% in stage 3b and 24.2% in the dialysis group (hemodialysis and peritoneal dialysis) (11). An observational-analytical study conducted in Indonesia, using the QFT-GIT, observed a positivity of 39.2% in individuals on hemodialysis (26). In Brazil, the only study conducted on this thematic, evaluated only patient on hemodialysis and identified a prevalence of LTBI in 8.5% of patients, using the tuberculin skin test as a LTBI diagnostic method (27). It is important to highlight that, Taiwan, Thailand, Indonesia, and Brazil are among the 30 countries with the highest incidence of TB in the world (2).

Using multivariate logistic regression analysis (28,29), it was possible to demonstrate the independent risk factors associated with QFT-Plus positivity in our study population. Our results revealed that the lack of BCG vaccination in childhood (adjusted OR: 7.41 [95% CI: 2.15-25.48]; $p = 0.0014$) was an independent risk factor for a positive result in the diagnostic test. In a meta-analysis evaluating BCG-vaccinated and unvaccinated children who were exposed to tuberculosis, using QFT-GIT test, it was shown that BCG protects against Mtb infection and prevents progression to active disease (28,29). A systematic review demonstrated that BCG vaccination offers protection against pulmonary and extrapulmonary tuberculosis for up to 10 years. However, most of these studies did not follow participants long enough or had a low number of cases after 15 years. These results should not be interpreted as indicating no effect (30). In agreement with our work, a study that investigated the incidence of LTBI in pre-transplant kidney patients found that non-vaccination with BCG was strongly associated as an independent risk factor for the development of LTBI (24).

We also found that the positivity in the CXCL-10/IP-10 assay was also considered an independent risk factor for the diagnosis of LTBI (aOR: 4.48 [1.87-10.76]; $p = < 0.001$). Based on our data, we can observe that high levels of CXCL-10/IP-10 in CKD and HD patients were

associated with a significant increase in the probability of developing LTBI, estimated at 4.48 times. IFN- γ -inducible protein 10 (IP-10), a member of CXC chemokine family (XCXC-10), acts recruiting immune cells to the site of infection. This process occurs in synergy with IFN- γ , in response to the recognition of Mtb-specific antigens by specific T cells (31–33). In a recent study, increased levels of IFN- γ and CXCL-10/IP-10 were highlighted in patients with active TB compared to healthy individuals (33). While IFN- γ is produced mainly by T lymphocytes, CXCL-10/IP-10 is produced by numerous cells including the innate immune system such as monocytes and antigen-presenting cells (APCs) (31,33,34). These data point out this chemokine as a potential adjuvant biomarker, in association with IFN- γ for the detection and monitoring of LTBI, which might improve diagnostic accuracy and early intervention. A recent study from our research group reported that individuals with pulmonary TB who had both positive IFN- γ and CXCL-10/IP-10 had increased CD64 expression compared to individuals with LTBI (18).

As limitations of this study, we could point out: i) a comparison between QFT-Plus and TST was not analyzed due to instability in the distribution of the test in Brazil in the period of participant recruitment; ii) relatively small number of individuals in the study population due to the criteria of eligibility and infrastructure capacity by the hospital, especially for HD group; iii) because the study was conducted in a reference center and tertiary health unit of health (high complexity), we could not exclude this bias; iv) we did not carried out comparisons with health control group. Despite these observations, our study can be considered a pioneer in Brazil when using the QFT-Plus test to evaluate LTBI infection in this cohort population, which could be well characterized by clinical and laboratory aspects and followed for a long period at HUPE/UERJ.

In conclusion, approximately 32% of patients with CKD and 25% of those undergoing HD were diagnosed with LTBI. Our study population demonstrated a positivity rate of 39.1% in the CXCL-10/IP-10 assay, with rates of 40.5% in the CKD group and 33.3% in the HD group,

highlighting its potential as a relevant biomarker for LTBI in CKD patients. The absence of BCG vaccination during childhood and elevated levels of the CXCL-10/IP-10 biomarker were identified as higher risk factors for LTBI. Furthermore, our data show that QFT-Plus is a useful tool in LTBI detection among CKD patients in late and terminal stages. Finally, these findings reinforce and base to the need of preventive strategies and continuous surveillance for LTBI, emphasizing the relevance of innovative diagnostic approaches which may contribute to a significant TB control in high-risk populations.

ABBREVIATIONS

BCG: bacillus Calmette–Guérin; CKD: chronic kidney disease; CXCL10/IP-10: interferon-g-inducible protein-10; HD: hemodialysis; HUPE: Pedro Ernesto University Hospital; IFN- γ : interferon-gamma; LTBI: Latent tuberculosis infection; QFT-Plus: QuantiFERON-TB Gold Plus.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to acknowledge all the participants and staff from the Nephrology and Pulmonology Divisions at Pedro Ernesto University Hospital (HUPE/UERJ), such as nurses, physicians, technicians, and multidisciplinary teams.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

JCBS, NBV, RSAR, and CLRG contributed to patient recruitment, sample collection, and laboratory routine for the study. RSAR, JCBS, and NBV performed experiments. APS, RM, CCSL, CLRG, JHS, and RB followed the patients. MRA, JCBS, NBV, RB, and LSR were involved in statistical analysis and data interpretation. MRA, JCBS, NBV, APS, RSRA, RB, and LSR wrote, edited, and reviewed the manuscript. RB and LSR conceived the study. LSR

was responsible for coordinating the study. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

FUNDING

The authors declare financial support was received for the research, authorship, and/or publication of this article. This study was funded in part by the Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) and JCBS was supported by a scholarship from the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

AVAILABILITY OF DATA AND MATERIALS

Clinical and qualitative data from service providers are not publicly available due to privacy and ethical concerns. However, the data used and analyzed in this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

ETHICS APPROVAL AND CONSENT TO PARTICIPATE

All procedures and protocols of this study were previously approved by the Research Ethics Committee of the Pedro Ernesto University Hospital (HUPE), of the Rio de Janeiro State University (UERJ), under opinion number 4.624.686. During recruitment, individuals were presented with the objectives and potential contributions of the study, and upon voluntarily accepting to participate. All the enrolled participants provided signed informed-consent forms.

CONSENT FOR PUBLICATION

Not applicable.

COMPETING INTERESTS

The authors declare no potential conflicts of interest.

5. REFERENCES

1. Ministry of Health, 2019. Manual of recommendations for tuberculosis control in Brazil [Internet]. Available from: www.saude.gov.br/.
2. Global tuberculosis report 2023 [Internet]. 2023. Available from: <https://iris.who.int/>.
3. Ehlers S, Schaible UE. The granuloma in tuberculosis: Dynamics of a host-pathogen collusion. Vol. 3, *Frontiers in Immunology*. 2012.
4. Campaniço A, Harjivan SG, Warner DF, Moreira R, Lopes F. Addressing latent tuberculosis: New advances in mimicking the disease, discovering key targets, and designing hit compounds. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020. p. 1–25.
5. Cavalcante-Silva LHA, Almeida FS, Andrade AG de Comberlang FC, Cardoso LL, Vanderley SER, et al. Mycobacterium tuberculosis in a Trap: The Role of Neutrophil Extracellular Traps in Tuberculosis. Vol. 24, *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.
6. Domingo-Gonzalez R, Prince O, Cooper A, Khader SA. Cytokines and Chemokines in Mycobacterium tuberculosis Infection. *Microbiol Spectr*. 2016 Oct 14;4(5).
7. Protocol for latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in Brazil. Ministry of Health, 2022 [Internet]. Available from: www.saude.gov.br/svs.
8. Amorim RF, Viegas ERC, Carneiro AJ V., Esberard BC, Chinem ES, Correa RS, et al. Superiority of Interferon Gamma Assay Over Tuberculin Skin Test for Latent Tuberculosis in Inflammatory Bowel Disease Patients in Brazil. *Dig Dis Sci*. 2019 Jul 15;64(7):1916–22.

9. Torres AV, Corrêa R da S, Bevilacqua M de F, do Prado LCF, Bandeira FMG de C, Rodrigues LS, et al. Screening of latent tuberculosis infection among patients with diabetes mellitus from a high-burden area in Brazil. *Frontiers in Clinical Diabetes and Healthcare*. 2022;3.
10. Ugarte-Gil C, Carrillo-Larco RM, Kirwan DE. Latent tuberculosis infection and non-infectious co-morbidities: Diabetes mellitus type 2, chronic kidney disease and rheumatoid arthritis. *International Journal of Infectious Diseases*. 2019 Mar 1;80:S29–31.
11. Hayuk P, Boongird S, Pornsuriyasak P, Bruminhent J. Interferon-gamma release assays for diagnosis of latent TB infection in chronic kidney diseases and dialysis patients. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022 Nov 14;12.
12. Myall K, Milburn HJ. An update on the management of latent tuberculosis infection and active disease in patients with chronic kidney disease. Vol. 127, *Polish Archives of Internal Medicine*. Medycyna Praktyczna; 2017. p. 681–6.
13. Syed-Ahmed M, Narayanan M. Immune Dysfunction and Risk of Infection in Chronic Kidney Disease. Vol. 26, *Advances in Chronic Kidney Disease*. W.B. Saunders; 2019. p.8–15.
14. Girndt M, Sester M, Sester U, Kaul H, Köhler H. Defective expression of B7-2 (CD86) on monocytes of dialysis patients correlates to the uremia-associated immune defect. *Kidney Int*. 2001;59(4):1382–9
15. Pourakbari B, Mamishi S, Benvari S, Mahmoudi S. Comparison of the QuantiFERON-TB Gold Plus and QuantiFERON-TB Gold In-Tube interferon- γ release assays: A systematic review and meta-analysis. Vol. 64, *Advances in Medical Sciences*. Medical University of Bialystok; 2019. p. 437–43.
16. Shu CC, Tsai MK, Lin SW, Wang JY, Yu CJ, Lee CY. Latent tuberculosis infection increases in kidney transplantation recipients compared with transplantation candidates: A neglected perspective in tuberculosis control. *Clinical Infectious Diseases*. 2020 Aug 15;71(4):914–23.

17. Alemu A, Bitew ZW, Diriba G, Seid G, Moga S, Abdella S, et al. The prevalence of latent tuberculosis infection in patients with chronic kidney disease: A systematic review and meta-analysis. *Heliyon*. 2023 Jun 1;9 (6).
18. Corrêa RDS, Rodrigues LS, Pereira LHL, Nogueira OC, Leung J, Sousa MDS, et al. Neutrophil CD64 expression levels in IGRA-positive individuals distinguish latent tuberculosis from active disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2019 Feb 1;114 (2).
19. Luczynski P, Holmes T, Romanowski K, Arbiv OA, Cook VJ, Clark EG, et al. Risk of Tuberculosis Disease in People with Chronic Kidney Disease Without Kidney Failure: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clinical Infectious Diseases*. 2023 Oct 15;77(8):1194–200.
20. Brinkkoetter PT, Marinaki S, Gottmann U, Fleckenstein S, Stump C, Van Der Woude FJ, et al. Altered CD46-mediated T cell co-stimulation in haemodialysis patients. *Clin Exp Immunol*. 2005 Mar;139(3):534–41.
21. Meuer SC, Hauer M, Kurz P, Meyer zum Buschenfelde KH, Kohler H. Selective blockade of the antigen-receptor-mediated pathway of T cell activation in patients with impaired primary immune responses. *Journal of Clinical Investigation*. 1987;80(3):743–9.
22. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: Update on toll-like receptors. Vol. 11, *Nature Immunology*. 2010. p. 373–84.
23. Li J, Chen J, Lan HY, Tang Y. Role of C-Reactive Protein in Kidney Diseases. Vol. 9, *kidney diseases*. S. Karger AG; 2023. p. 73–81.
24. Gong W, Wu X. Differential Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection and Active Tuberculosis: A Key to a Successful Tuberculosis Control Strategy. Vol. 12, *Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media S.A.; 2021.
25. Shu CC, Hsu CL, Lee CY, Wang JY, Wu VC, Yang FJ, et al. Comparison of the prevalence of latent tuberculosis infection among non-dialysis patients with severe chronic kidney disease,

patients receiving dialysis, and the dialysis-unit staff a cross-sectional study. *PLoS One*. 2015 Apr 28;10(4).

26. Bandiara R, Indrasari A, Dewi Rengganis A, Sukesi L, Afiatin A, Santoso P. Risk factors of latent tuberculosis among chronic kidney disease with routine haemodialysis patients. *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis*. 2022 May 1;27.

27. Ferreira V, Da Fonseca CD, Bollela VR, Romão EA, Da Costa JAC, De Sousa AFL, et al. Prevalence of latent tuberculosis and associated factors in patients with chronic kidney disease on hemodialysis. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2021;29.

28. Roy A, Eisenhut M, Harris RJ, Rodrigues LC, Sridhar S, Habermann S, et al. Effect of BCG vaccination against *Mycobacterium tuberculosis* infection in children: Systematic review and meta-analysis. *BMJ* (Online). 2014 Aug 5;349.

29. Syggelou A, Spyridis N, Benetatou K, Kourkouni E, Kourlaba G, Tsagaraki M, et al. BCG vaccine protection against TB infection among children older than 5 years in close contact with an infectious adult TB case. *J Clin Med*. 2020 Oct 1;9(10):1–10.

30. Abubakar I, Pimpin L, Ariti C, Beynon R, Mangtani P, Sterne J, et al. Systematic review, and meta-analysis of the current evidence on the duration of protection by bacillus Calmette-Guérin vaccination against tuberculosis. Vol. 17, *Health Technology Assessment*. 2013. p. 1–4.

31. Santos AP, da Silva Corrêa R, Ribeiro-Alves M, da Silva ACOS, Mafort TT, Leung J, et al. Application of Venn's diagram in the diagnosis of pleural tuberculosis using IFN- γ , IP-10 and adenosine deaminase. *PLoS One*. 2018 Aug 1;13(8).

32. Friedrich R, Rappold E, Bogdan C, Held J. Comparative analysis of the wako B-glucan test and the fungitell assay for diagnosis of candidemia and *Pneumocystis jirovecii* pneumonia. *J Clin Microbiol*. 2018 Sep 1;56(9).

33. Ruhwald M, Dominguez J, Latorre I, Losi M, Richeldi L, Pasticci MB, et al. A multicentre evaluation of the accuracy and performance of IP-10 for the diagnosis of infection with *M. tuberculosis*. *Tuberculosis*. 2011 May;91(3):260–7.

34. Okamoto M, Kawabe T, Iwasaki Y, Hara T, Hashimoto N, Imaizumi K, et al. Evaluation of interferon- γ , interferon- γ -inducing cytokines, and interferon- γ -inducible chemokines in tuberculous pleural effusions. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 2005;145(2):88–93.

FIGURES

Figure 1

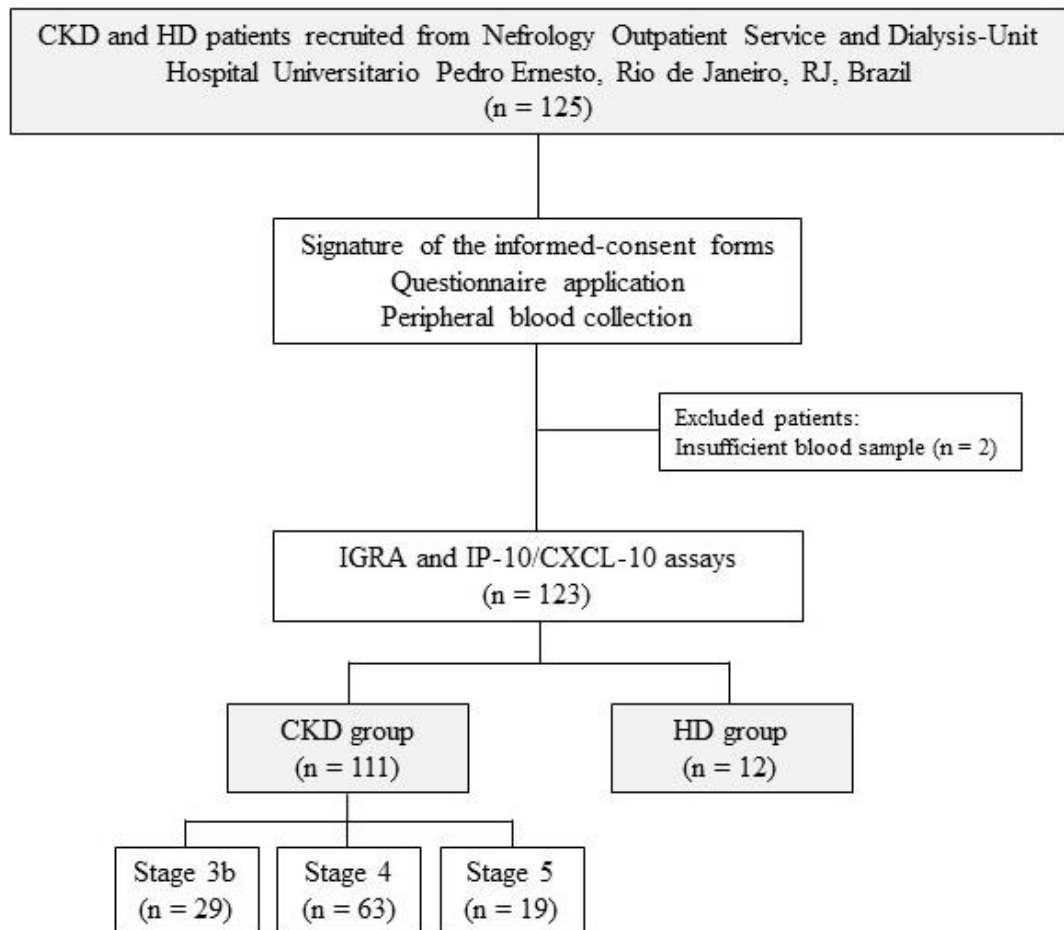


Figure 2

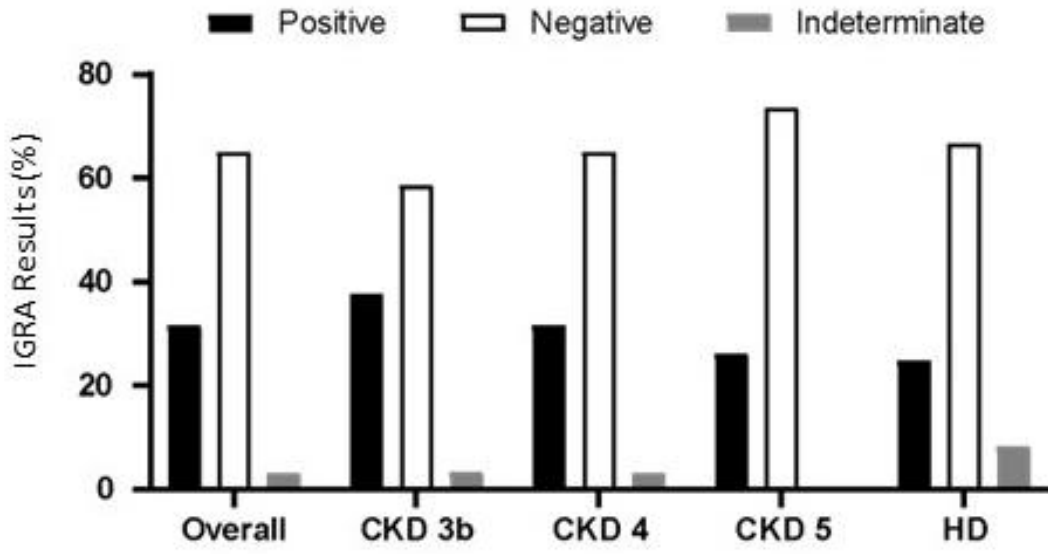


Figure 3

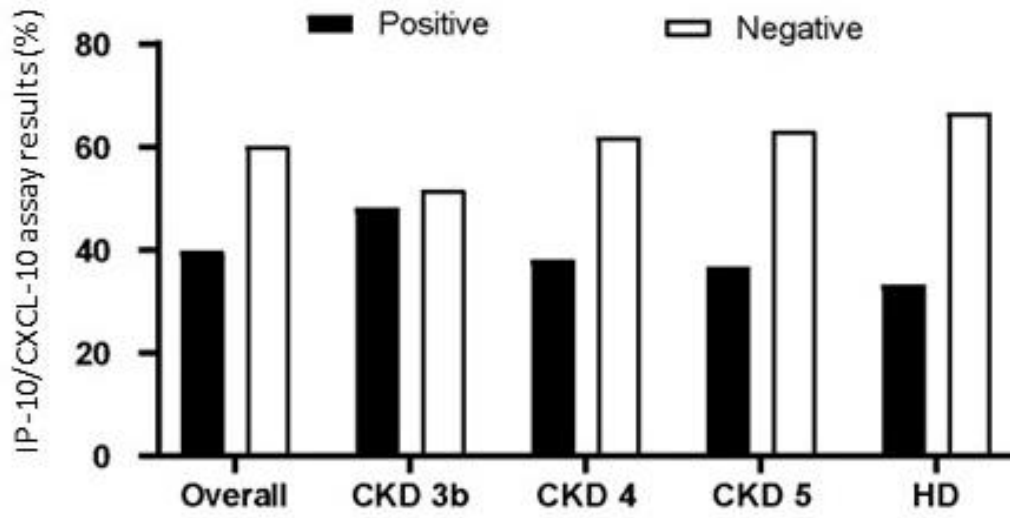


FIGURE LEGENDS

Figure 1: Flowchart of the study population: Study design to identify the prevalence of LTBI in patients with chronic kidney disease (CKD) and hemodialysis (HD). QFT-Plus: QuantiFERON-TB Gold Plus; IP-10: interferon-gamma inducible protein 10-kD.

Figure 2: Prevalence of LTBI obtained by the results of interferon-gamma release assay (IGRA) in patients with chronic kidney disease (CKD), and patients undergoing long-term hemodialysis. LTBI was determined by QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus). The results were grouped as positive (black), negative (light gray), and indeterminate (gray) cases.

Figure 3: CXCL-10/IP-10 assay results in response to Mtb-specific antigens between chronic kidney disease (CKD), and long-term hemodialysis patients. Results of the IP-10/CXCL-10 cytokine measurement in plasma supernatants from QFT-Plus. The results were grouped in positive (black) and negative (light gray) cases.