

## RELAÇÃO ENTRE ANTICORPOS ANTI-PGL-1 E PRESENÇA DE DNA DE *MYCOBACTERIUM LEPRAE* NA MUCOSA NASAL DE PACIENTES COM HANSENÍASE E CONTATOS

### RELATIONSHIP BETWEEN ANTI-PGL-1 ANTIBODIES AND PRESENCE OF DNA AND *MYCOBACTERIUM LEPRAE* IN THE NASAL MUCOSA OF LEPROSY PATIENTS AND CONTACTS

Luana Nepomuceno Gondim Costa Lima

#### RESUMO:

A transmissão da hanseníase é mais intensa em áreas hiperendêmicas onde o número de indivíduos infectados com *Mycobacterium leprae*, mas clinicamente sadios é elevado. A infecção pode ser identificada pela detecção de DNA bacteriano e de anticorpos IgM contra PGL-I de *M. leprae*. O estudo avaliou a relação entre anticorpos IgM anti-PGL-I e o DNA de *M. leprae*, na mucosa nasal em indivíduos, em área endêmica. Foram selecionados 337 indivíduos classificados em 6 grupos: a) 71 contatos consanguíneos intradomiciliares – CCOSI, b) 50 contatos consanguíneos extradomiciliares – CCOSE, c) 23 contatos não consanguíneos intradomiciliares – CNCOSI, d) 170 contatos não consanguíneos extradomiciliares – CNCOSE, e) 19 pacientes com hanseníase multibacilar – MB e f) 20 pacientes com hanseníase paucibacilar – PB. Dos 71 CCOSI, 19 foram positivos para PCR (26.76%-19/71) e 34 positivos para PGL-I (47.88% - 34/71); de 50 CCOSE, 7 foram positivos para PCR (14.00 - 7/50) e 11 positivos para PGL-I (22.00%, 11/50); de 23 CNCOSI, 4 positivos para PCR (17.39%- 4/23) e 3 positivos para PGL-I (13.04%-3/23); de 170 CNCOSE, 28 positivos para PCR (16.47% - 28/170) e 35 positivos para PGL-I (20.58% -35/170); de 19 pacientes MB, 6 positivos para PCR (31.57%- 6/19) e 11 positivos para PGL-I (57.89% - 11/19) e de 20 pacientes PB, 3 positivos para PCR (15.00% - 3/20) e 4 positivos para PGL-I (20.00%- 4/20). A PCR de swab nasal foi inversamente proporcional ao PGL-I ( $p = 0.02$ ,  $\chi^2 = 5.27$ ). Embora ambos os métodos sejam importantes para a vigilância epidemiológica, eles não possuem correlação positiva.

**Palavras-chave:** Hanseníase; Epidemiologia; Transmissão; Imunoensaio.

#### ABSTRACT:

The transmission of leprosy is more intense in hyperendemic areas where the number of clinically healthy individuals infected with *Mycobacterium leprae* is high and can be identified by detecting the presence of bacterial DNA in the nasal mucosa and serological testing with IgM antibodies against *M. leprae* specific PGL-I. The aim of this study was to evaluate the relationship between the presence of anti-PGL-I IgM antibodies and the presence of *M. leprae* DNA in the nasal mucosa in individuals in an endemic area. A total of 337 individuals were selected, classified into 6 groups: a) 71 intradomestic contacts - CCOSI, b) 50 extradomestic contacts - CCOSE, c) 23 intradomestic non-consanguineous contacts - CNCOSI, d) 170 extradomestic non-consanguineous contacts - CNCOSE e) 19 patients with multibacillary leprosy - MB and f) 20 patients with paucibacillary leprosy - PB. Of the 71 CCOSI, 19 were PCR positive (26.76% -19 / 71) and 34 PGL-I positive (47.88% - 34/71); of 50 CCOSE, 7 were PCR positive (14.00 - 7/50) and 11 PGL-I positive (22.00%, 11/50); 23 CNCOSI, 4 PCR positive (17.39% - 4/23) and 3 PGL-I positive (13.04% -3 / 23); 170 CNCOSE, 28 PCR positive (16.47% - 28/170) and 35 PGL-I positive (20.58% -35/170); of 19 MB patients, 6 PCR positive (31.57% - 6/19) and 11 PGL-I positive (57.89% - 11/19) and 20 PB patients, 3 PCR positive (15.00% - 3/20) and 4 positive for PGL-I (20.00% - 4/20). Nasal swab PCR was inversely proportional to PGL-I ( $p = 0.02$ ,  $\chi^2 = 5.27$ ), although both methods are important for epidemiological surveillance, they have no positive correlation.

**Keywords:** Leprosy; Epidemiology; Transmission; Immunoassay.

<sup>1</sup> Instituto Evandro Chagas, Belém, Pará

## 1. INTRODUÇÃO

Embora a OMS desde 1991 tenha estabelecido metas para a eliminação ou redução de novos casos da hanseníase no mundo e principalmente nos países endêmicos, o Brasil é o segundo país no mundo em número de casos e entre os anos de 2003 e 2018, foram registrados um total de 586.112 casos novos. Neste mesmo período, foram notificados 43.479 casos novos em menores de 15 anos e 37.790 casos novos com grau 2 de incapacidade física no diagnóstico<sup>15</sup>.

Instrumentos diagnósticos que envolvem técnicas imunológicas, bacteriológicas, genéticas, histológicas, imunocromatográficas, entre outras, têm sido aplicados não somente para ampliar o conhecimento dos mecanismos de transmissão do *M. leprae* nos países endêmicos, mas também para a realização da vigilância epidemiológica com objetivo de otimizar o diagnóstico precoce e reduzir o risco de adoecimento por formas graves da hanseníase<sup>18</sup>.

A detecção de DNA de *Mycobacterium leprae* na secreção nasal de contatos de pacientes com hanseníase não é essencial para considerar esses indivíduos como pessoas com risco elevado para desenvolver a doença, já que uma alta porcentagem de resultados negativos para presença de DNA de *Mycobacterium leprae* foi encontrada entre indivíduos soropositivos para PGL-1, em contrapartida, a combinação dos testes séricos IgG/IgM e salivares IgA/IgM anti-PGL-1 em contatos intradomiciliares de pacientes com hanseníase pode identificar grupos de risco para desenvolver a doença<sup>3,11</sup>.

No entanto, a transmissão da hanseníase é mais intensa em áreas hiperendêmicas nas quais o número de indivíduos clinicamente sadios infectados com *M. leprae* é elevado e pode ser identificado por meio da detecção da presença do DNA bacteriano na mucosa nasal e teste sorológico com pesquisa de anticorpos IgM contra PGL-I específico do *M. leprae*<sup>4,8,11</sup>.

Instrumentos que avaliam a presença do DNA bacteriano na mucosa nasal por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) e o contato com o *M. leprae* por meio da positividade ao antígeno PGL-I específico desta micobactéria têm sido proveitosos para esclarecer mecanismos de transmissão e a intensidade do problema nas comunidades, os quais podem identificar grupos e áreas prioritárias para intervenções e realização de vigilância epidemiológica<sup>4,7,16</sup>.

Estudo realizado por Penna<sup>11</sup> et al (2009), demonstrou grupos de transmissão ativa da hanseníase presentes na Amazônia legal através do percentual elevado de positividade ao anti-PGL-1 e/ou presença de DNA do *Mycobacterium leprae* na mucosa nasal<sup>4</sup>. Evidências de que indivíduos sadios colonizados e/ou infectados com *M. leprae* possam ser transmissores temporários desta micobactéria têm sido demonstradas, inclusive com a emergência de casos novos da doença detectados em grupos soronegativos para PGL-I<sup>6,7,11</sup>. Pacientes com hanseníase em estágio subclínico ou que evoluíram para cura espontânea podem ser fontes de disseminação bacilar, apresentando um período transitório de excreção dos bacilos pela via nasal e / ou bucal<sup>5</sup>.

Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar a relação entre presença de anticorpos IgM anti-PGL-I e a presença DNA do *M. leprae* na mucosa nasal em indivíduos em área endêmica

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo transversal foi realizado no município de Curianópolis, hiperendêmico para hanseníase, localizado ao sudeste do estado do Pará, o qual faz parte da Amazônia Legal. A seleção dos pacientes foi realizada pelos profissionais de saúde do Hospital Municipal de Curianópolis por meio da base de dados SINAM. Os pacientes recém-diagnosticados com até três meses de tratamento específico e seus familiares foram visitados pelos agentes comunitários de saúde e convidados a participar da pesquisa.

Foram selecionados 337 indivíduos em junho de 2015 classificados em 6 grupos: a) 71 contatos consanguíneos intradomiciliares (CCOSI)- indivíduos que possuíam parentesco biológico com pelo menos um caso de hanseníase e

que residiam no mesmo domicílio com essa pessoa há 5 anos ou mais, b) 50 contatos consanguíneos extradomiciliares (CCOSE) - indivíduos que possuíam parentesco biológico com caso de hanseníase, porém não moravam no mesmo domicílio com essa pessoa, c) 23 contatos não consanguíneos intradomiciliares (CNCOSI) - indivíduos que não possuíam caso de hanseníase entre parentes biológicos, porém, residiam no mesmo domicílio com algum indivíduo portador de hanseníase há pelo menos 5 anos, d) 170 contatos não consanguíneos extradomiciliares (CNCOSE) - indivíduos que não possuíam caso de hanseníase entre parentes biológicos e não residiam com nenhum paciente diagnosticado com hanseníase; e) 19 pacientes multibacilares (MB) indivíduo diagnosticado clínica e bacteriológica como hanseníase MB, forma Dimorfa ou Virchowiana e f) 20 pacientes com hanseníase paucibacilar (PB) - indivíduo diagnosticado clínica e bacteriológica como hanseníase PB, forma Indeterminada ou Tuberculóide.

Após a explicação da pesquisa e assinatura do Termo de Consentimento livre e esclarecido, os indivíduos selecionados foram entrevistados, realizado o exame clínico dermatoneurológico e realizada a coleta do material biológico.

Os indivíduos que apresentaram manchas hipocrômicas hipostésicas ou anestésicas e lesões eritematosas, infiltradas, edemaciadas, violáceas, tricoftóides ou ferruginosas ou, ainda, somente áreas cutâneas hipostésicas, anidróicas e com alopecia, e teste sorológico positivo para hanseníase foram imediatamente encaminhados para avaliação médica e início do tratamento específico poliquimioterápico de acordo com a classificação clínica realizada.

De todos os indivíduos foram coletadas amostras de sangue para o teste sorológico e secreção nasal para o teste de biologia molecular. Coletou-se 10 mL de sangue de veia superficial após realização e antisepsia no local da coleta com álcool a 70% cujo conteúdo foi adicionado a tubo vacutainer com gel (5 mL). A secreção nasal foi coletada através de swab de algodão, por rotação no anteposto externo do orifício nasal, e em seguida estocada à  $-20^{\circ}\text{C}$  para posterior extração de DNA para detecção do *M. leprae*.

## 2.1 Ensaio imunoenzimático

A sorologia foi realizada no Instituto Evandro Chagas, Departamento de Bacteriologia, Laboratório de Hanseníase.

Realizou-se Imunoensaio enzimático (ELISA) de acordo com Bühner<sup>2</sup> et al, (1998) para pesquisa de anticorpos da classe IgM dirigidos para o PGL-1 específico do *Mycobacterium leprae*. Foram utilizados antígenos específicos sintéticos representados pela porção terminal trissacáride da estrutura química do PGL-1, chamado NT-P-BSA, liofilizado na concentração de 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  e eluído com 100  $\mu\text{L}$  de água milli-Q, estéril. Depois de diluído, o antígeno foi usado na concentração 1:10.000 (Concentração total do antígeno foi 0,01  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de açúcar – 10ng) e posteriormente diluído na solução tampão Carbonato,  $(\text{NH}_3) \text{HCO}_3$  – 15,812 g em 2 litros de água tamponada e ajustado o pH para exatamente 8.0.

Placas NUNC, com 96 poços, foram sensibilizadas com 50  $\mu\text{L}$  da solução tampão, contendo o antígeno trissacáride nas linhas A, C, E e G e 50  $\mu\text{L}$  de solução tampão carbonato nas linhas B, D, F e H. Foi feita a leitura da Densidade Ótica por espectrofotômetro com filtro de 450 a 492 nm. A média dos níveis de anticorpos anti-PGL-1 das linhas com antígeno foi diminuída da média dos níveis de anticorpos anti-PGL-1 das linhas sem antígeno para obtenção da densidade ótica das amostras dos pacientes. Foi considerado como resultado positivo amostras que atingiram densidade ótica maior ou igual a 0,2<sup>2</sup>.

## 2.2 Extração do DNA da secreção nasal

As extrações de DNA foram realizadas no Instituto Evandro Chagas, Departamento de Bacteriologia, Laboratório de Biologia Molecular utilizando o “kit” para extração de DNA genômico DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN, Valencia, Calif.), seguindo as orientações do fabricante.

### 2.3 Amplificação de DNA de amostras de secreção nasal

As amostras de DNA extraídas foram submetidas à reação da cadeia em polimerase (PCR), realizadas no Instituto Evandro Chagas, Seção de Bacteriologia, Laboratório de Biologia Molecular.

Dois iniciadores foram desenhados pelos pesquisadores com o programa Primer3 v.0.4.0 a partir da região genômica do *M. leprae* ML0006 (Subunidade A da DNA gyrase), sendo as seguintes sequências:

- gyrAF 5' – CCCGGACCGTAGCCACGCTAAGTC – 3'
- gyrAR 5' – CATCGCTGCCGGTGGGTCATTA – 3'

As amostras foram levadas ao termociclador e as reações se processaram no seguinte esquema: aquecimento inicial a 94°C por 5 minutos, seguido de 40 ciclos de: 74°C por 30 segundos para a desnaturação, 59,5°C por 30 segundos para o anelamento e 72°C por 1 minuto para a extensão. Após os 40 ciclos houve um período de extensão final que ocorreu a 72°C por 14 minutos e depois as amostras foram mantidas a 4°C até serem retiradas do termociclador e armazenadas a -20°C. O produto gerado na PCR foi de 187 pb.

Os produtos amplificados foram analisados por eletroforese em gel de UltraPure™ Agarose-1000 a 3% a 80V em TBE 1X. Após a corrida, o DNA foi corado com SYBR® Safe DNA Gel Stain e visualizados sob luz ultravioleta em transluminador.

### 3. RESULTADOS

Os indivíduos do sexo feminino, 33% (71/215) foram positivos para o antígeno PGL-1 e 20% (43/215) foram positivos para o DNA do *M. leprae* na secreção nasal. O maior número de mulheres com sorologia positiva foi entre 11 e 20 anos (15/71) e com PCR positiva foi na faixa etária de 21 a 30 anos. Os indivíduos do sexo masculino tiveram uma menor positividade em comparação com as mulheres em ambos os testes, 19,6% (27/138) para o antígeno PGL-1 e 16,21% (24/138) para o DNA do *M. leprae*. A maior positividade na sorologia foi em homens com idade entre 51 e 60 anos e 61 a 70 anos. Na PCR, a maior positividade masculina foi na faixa etária de 51 a 60 anos (Tabela 1).

**Tabela 1** - Soropositividade ao antígeno PGL-I do *Mycobacterium leprae* e presença do DNA bacteriano em amostras de swab nasal de acordo com a faixa etária e sexo na população estudada.

Soropositividade e PCR / gênero e faixa etária	PGL-1				PCR			
	Feminino		Masculino		Feminino		Masculino	
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
0 a 10	3	2	1	3	-	5	-	4
11 a 20	15	8	3	8	4	19	2	9
21 a 30	13	25	3	11	10	28	3	11
31 a 40	12	27	5	17	8	31	5	17
41 a 50	10	29	-	13	7	32	1	12
51 a 60	13	32	7	29	9	36	6	30
61 a 70	2	14	7	21	3	13	5	23
71 a 80	3	7	-	9	2	8	2	7
>81	-	-	1	-	-	-	-	1
<b>Total</b>	<b>71</b>	<b>144</b>	<b>27</b>	<b>111</b>	<b>43</b>	<b>172</b>	<b>24</b>	<b>114</b>

McNemar test -  $\chi^2$  (B/C) = 4.2,  $p=0.04$ ; McNemar test -  $\chi^2$  (B/C) = (feminino) = 5.66,  $p = 0.01$ ; -  $\chi^2$  (B/C) = (masculino) = 0.059,  $p = 0.807$ . (+) Positivo, (-) Negativo

Dos 71 indivíduos do grupo CCOSI, 19 foram positivos para PCR (26,8%) e 34 foram positivos para PGL-1 (47,8%); de 50 indivíduos CCOSE, 7 foram positivos para PCR (14%) e 11 positivos para PGL-1 (22%); de 23 indivíduos CNCOSI, 4 foram positivos para PCR (17,4%) e 3 foram positivos para PGL-1 (13,04%); de 170 CNCOSE, 28 foram positivos para PCR (16,5%) e 35 foram positivos para PGL-1 (20,6%); de 19 pacientes MB, 6 foram positivos para PCR (31,6%) e 11 foram positivos para PGL-1 (57,9%) ; nos 20 PB, 3 foram positivos para PCR (15%) e 4 positivos para PGL-1 (20%) (Tabela 2).

**Tabela 2** - Soropositividade ao antígeno PGL-I do *Mycobacterium leprae* e presença do DNA bacteriano em amostras de swab nasal de acordo com a classificação da população estudada.

Soropositividade e PCR/ Classificação	PCR		PGL-1	
	(+)	(-)	(+)	(-)
CCOSI	19	52	34	37
CCOSE	7	43	11	39
CNCOSI	4	19	3	20
CNCOSE	28	142	35	135
MB	6	13	11	8
PB	3	17	4	16
<b>Total</b>	<b>67</b>	<b>286</b>	<b>98</b>	<b>255</b>

McNemar test -  $\chi^2$  (B/C) = 5.27, p= 0.02.

(+) Positivo, (-) Negativo

Na análise comparativa entre o desempenho do teste IgM-ELISA-PGL-1 e PCR de secreção nasal entre os grupos, a razão de chances (OR) de doentes serem mais positivos ao PGL-1 do que ao PCR comparados aos Contatos é baixa (OR=1.64), no entanto a OR entre MB CNCOSE é 7.43 e *p-valor*= 0.0001 e a OR entre CCOSE e CNCOSE é 6,27 e *p-valor*= 0.0003, o que representa razões de chances consideradas forte e um *p-valor* significativo (Tabela 3).

**Tabela 3**– Análise comparativa entre o desempenho do teste IgM-ELISA-PGL-1 e PCR de secreção nasal entre pacientes com hanseníase e contatos de pacientes, indivíduos com hanseníase Multibacilar (MB) e CNCOSE, CCOSE e CNCOSE

Classificação	PGL-1		PCR		OR	<i>p-valor</i>
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo		
Doentes e contatos	98	255	67	286	1,64	0,003
MB	11	8	6	13		
CNCOSE	35	135	28	142	7,43	0,0001
CCOSE	11	39	7	43		
CNCOSE	35	135	28	142	6,37	0,0003

OR: Razão de chances

A análise da correlação de Pearson entre a positividade ao antígeno PGL-1 do *M. leprae* em relação à positividade do DNA do *M. leprae* mostrou: a) entre CCOSI, Pearson  $r = -0,128$ ,  $p = 0,569$ ; B) CCOSE, Pearson  $r = -0,239$ ,  $p = 1,83$ ; C) No CNCOSE, Pearson  $r = 0,263$ ,  $p = 0,236$  e, apenas no CNCOSI, a correlação é positiva,

Pearson  $r = 0,083$ , mas não há significância estatística, com  $p = 0,7124$  (Tabela 4).

**Tabela 4:** Análise de correlação da positividade do antígeno PGL-1 em comparação aos valores de PCR no swab nasal, Pará, Brazil, 2016

Order	CHC		ECC		NCHC		ENCC	
	PGL-1	PCR	PGL-1	PCR	PGL-1	PCR	PGL-1	PCR
1	1	0	0	1	1	0	0	0
2	0	0	1	0	0	0	0	1
3	1	0	1	0	0	0	1	0
4	1	1	0	0	0	0	0	0
5	0	0	1	0	1	0	1	0
6	0	0	0	0	0	0	1	0
7	0	0	0	0	0	0	1	0
8	0	0	0	0	0	0	1	0
9	1	1	0	1	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	1	0
11	0	1	0	0	0	1	0	0
12	1	0	0	0	0	0	0	0
13	0	1	0	0	0	0	0	0
14	1	0	1	0	0	0	0	0
15	1	1	0	0	0	0	0	0
16	0	0	1	0	0	1	0	0
17	0	0	1	0	0	0	1	0
18	1	0	0	0	0	0	0	0
19	0	1	1	0	0	0	1	0
20	0	0	0	0	0	1	0	0
21	1	0	1	0	1	1	0	1
22	0	1	0	0	0	0	1	0

NOTE: CHC PGL-1 x CHC PCR - *Pearson*  $r = - 0.128$ ,  $p = 0569$ ; ECC PGL-1 x ECC PCR - *Pearson*  $r = - 0.239$ ,  $p = 1.83$ .

ENCC PGL-1 x ENCC PCR - *Pearson*  $r = - 0.263$ ,  $P = 0.2367$ ; NCHC PGL-1 x NCHC PCR - - *Pearson*  $r = 0.083$ ,  $P = 0.7124$ .

0 = negative, 1 = positive.

#### 4. DISCUSSÃO:

Os instrumentos e as técnicas imunológicas e moleculares têm sido empregados com objetivo de entender a dinâmica da transmissão do *Mycobacterium leprae* nas comunidades nas quais essa doença é endêmica, assim como os mecanismos utilizados por essa bactéria para manter-se no interior das células de Schwann e interferir na resposta imunológica do hospedeiro, a qual determinará adoecimento por formas graves ou o direcionamento para formas consideradas benignas. As formas consideradas benignas apresentam raríssimos bacilos, anticorpos anti-PGL-1 indetectáveis e podem evoluir para cura espontânea<sup>1,10,12,17</sup>.

A porta de entrada e saída da bactéria são as vias aéreas superiores, sendo demonstrado que a presença do DNA do *M. leprae* na mucosa nasal do indivíduo pode ser transitória ou indicar uma possível infecção subclínica. Devido à técnica de PCR não diferenciar o DNA de bactérias vivas ou mortas, a presença do DNA do bacilo na mucosa nasal não determina que o indivíduo esteja doente ou que vá adoecer, porém, indica um contato prévio com a bactéria e infecção da mucosa nasal com possível estabelecimento imediato de uma imunidade inata local<sup>7,14,19</sup>. Amaral et al (2008)<sup>1</sup> demonstram que o DNA do *M. leprae* pode ser encontrado precocemente em pacientes com perfil genético para o desenvolvimento da forma virchowiana, o que sugere que a PCR aliada a outras técnicas imunológicas e bacteriológicas representa instrumento auxiliar para o diagnóstico precoce das formas transmissíveis de hanseníase<sup>9,13</sup>.

Quando analisadas as positivities nos resultados dos testes de PCR e Elisa anti-PGL-I entre os indivíduos agrupados por gênero e faixa etária, observamos uma diferença significativa entre os testes ( $\chi^2$  (B/C) = 4.2, p= 0.04). Esses resultados indicam que a presença do DNA do bacilo na secreção nasal é inversamente proporcional à detecção de anticorpos anti-PGL-I. Isso sugere que quando o *M. leprae* ultrapassa a primeira barreira do hospedeiro (imunidade inata local), por via sanguínea e/ou linfática, se instala em macrófagos e os indivíduos com perfil potencial para o desenvolvimento de formas graves da doença desenvolverão um perfil de resposta imunológica TH2 com a formação de anticorpos anti-PGL-1<sup>14,19</sup>.

Quando os resultados foram analisados por sexo (Tabela 1), essa diferença entre os testes foi observada entre os indivíduos do sexo feminino (p = 0,01), enquanto não houve diferença entre os resultados nos indivíduos do sexo masculino (p = 0,807). O que sugere que o sexo masculino está em contato mais constante com a bactéria do que o sexo feminino, pois mesmo a bactéria ultrapassando a barreira da mucosa nasal e estimulando a produção de anti-PGL-I, os indivíduos do sexo masculino continuam positivo na PCR por provavelmente novo contato com outros bacilos.

Com os resultados da presença do DNA do *M. leprae* na secreção nasal, observou-se que nas mulheres a circulação das bactérias nas vias aéreas foi maior que nos homens, principalmente na faixa etária de 21 a 30 anos. As mulheres também mostraram maior potencial para desenvolver uma resposta humoral do que os homens, uma vez que as mulheres tiveram uma taxa de positividade maior para o anti-PGL1 (Tabela 1).

Quando os resultados foram analisados por grupos nos quais os indivíduos do estudo foram classificados, também foi observado que os resultados da técnica de PCR com amostras de secreção nasal e os resultados na pesquisa de anticorpos anti-PGL-1 do *M. leprae* foram inversamente proporcionais (p= 0.04, Tabela 2). De forma semelhante, o trabalho de Pontes et al (2008)<sup>18</sup>, encontrou correlação inversa entre o resultado da PCR de amostras de secreção nasal e a técnica de baciloscopia do esfregaço dérmico. Esse achado corrobora com os nossos resultados, pois o exame de baciloscopia representa a carga bacilar e, consequentemente, correlaciona-se com o nível de anticorpo anti-PGL-1 de *Mycobacterium leprae*.

Na comparação dos resultados dos métodos PCR e Elisa anti-PGL-1 entre MBs e CNCOSE foi observado OR= 7.43 e p-valor= 0.0001, semelhante ao obtido na comparação entre CCOSE e CNCOSE com OR= 6.37 e p-valor= 0.0003 (Tabela 3). Assim, foi observado que a razão de chances (OR) dos indivíduos do grupo MB serem mais positivos ao Elisa anti-PGL-1 do que ao PCR é 7.43 vezes maior quando comparados aos CNCOSE. O mesmo ocorreu quando comparados os grupos CCOSE e CNCOSE. Assim, ressalva-se uma semelhança entre os grupos MB e CCOSE, o que pode demonstrar um possível fator genético no perfil de resposta imunológica dos MBs e dos CCOSE quando comparados aos que não possuem nenhum vínculo sanguíneo com pacientes.

Análise da Correlação de Pearson entre a positividade ao antígeno PGL-1 comparada à positividade à PCR do swab nasal (Tabela 4) demonstrou correlação negativa em mais de 90% da amostra e nas análises de pares de grupos, a correlação foi fraca entre os CCOSI, CCOSE, CNCOSE e somente entre os CNCOSI, a correlação foi positiva, r de Pearson = 0.083, porém sem significância estatística ( p = 0.7124). Esses resultados sugerem não haver correlação positiva entre os dois métodos, demonstrando que expressam momentos evolutivos de infecção diferentes, pois o PGL-1 expressa resposta imunológica humoral estabelecida, enquanto a presença do DNA

bacteriano na mucosa nasal pode sugerir infecção da mucosa com o bacilo ainda viável e ativação da imunidade inata com destruição ou não do bacilo<sup>1,5,10,19</sup>.

## 5. CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou que a técnica de PCR em amostras de secreção nasal não apresenta correlação positiva com os dados de positividade ao antígeno PGL-1 do *M. leprae*. Ambos os métodos são úteis para o auxílio no diagnóstico e, principalmente, para ações de vigilância da hanseníase em contatos clinicamente sadios de doentes, porém, esses métodos expressam momentos evolutivos diferentes da doença e precisam ser interpretados com o máximo de informações clínicas e epidemiológicas.

## REFERÊNCIAS:

1. Amaral LC, et al. Aplicação da PCR para investigação da infecção pelo *Mycobacterium leprae* em amostras de sangue de pacientes e seus contatos domiciliares. *Horizonte Cient* 2008;2(1):1-35.
2. Bühler SS, et al. A simple dipstick assay for the detection of antibodies to phenolic glycolipid-I of *Mycobacterium leprae*. *Am J Trop Med Hyg* 1998, 58(2): 133-136.
3. Cabral PBE. Perfil de Marcadores Sorológicos, salivares e Moleculares de *Mycobacterium leprae* entre contatos intradomiciliares de pacientes com hanseníase [dissertação mestrado]. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará; 2012.
4. Carvalho RS, Foschiani IM, Costa MRSN *et al.* Early detection of *M. leprae* by qPCR in untreated patients and their contacts: results for nasal swab and palate mucosa scraping. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2018; 37(10): 1863-1867.
5. Cree I, Smith W. Leprosy transmission and mucosal immunity: towards eradication? *Lepr Rev* 1998; 69(2): 112–121.
6. Douglas JT, et al. Prospective study of serological conversion as a risk factor for development of leprosy among household contacts. *Clin Diag Lab Immunol* 2004; 11(5): 897-900.
7. Lima LNC, et al. Genotyping comparison of *Mycobacterium leprae* isolates by VNTR analysis from nasal samples in a Brazilian endemic region. *Pathogens Global Health*. 2018;112(2):79-85.
8. Lima LNGC, et al. Widespread nasal carriage of *Mycobacterium leprae* among a healthy population in a hyperendemic region of northeastern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015; 110(70): 898-905.
9. Martinez TS, et al. Oral mucosa as a source of *Mycobacterium leprae* infection and transmission, and implications of bacterial DNA detection and the immunological status. *Clin Microbiol Infect* 2011;17(11):1653-1658.
10. Martins ACC, et al. Nasal mucosa study of leprosy contacts with positive serology for the Phenolic Glycolipid 1 antigen. *Braz J Otorrinol* 2010;76 (5):579 – 87.
11. Penna MLF, Oliveira MLW e Penna GP. Spatial Distribution of Leprosy in the Amazon Region of Brasil. *Emerg Infect Dis* 2009;5(4):650-652.
12. Pinto TGT, et al. Sting-dependent 2'-5' Oligoadenylate Synthetase-like Production Is required for intracellular *Mycobacterium leprae* Survival. *J Infect Dis* 2016: 214-311.
13. Pontes ARB, et al. Detecção de DNA de *Mycobacterium leprae* em secreção nasal. *Rev Bras Enferm* 2008; 61:784-787.

14. Ramaprasad P, et al. Transmission and protection in leprosy: Indications of the role of mucosal immunity. *Leprosy Rev* 1997; 68(4): 301-315.
15. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico, Vigilância em Saúde no Brasil 2003/2019. 2019;1:1-154.
16. Silvestre MPA, et al. Sensitivity of Anti-PGL-1 Elisa test using mixed antigens (disaccharide plus trisaccharide) for the diagnosis and epidemiological surveillance of leprosy. *Leprosy Rev* 2018; 89(4 ): 376-386.
17. Silvestre MPSA. Análise preliminar do uso mesclado de neoglicolípídeos derivados do PGL-1 do *Mycobacterium leprae*: antígeno dissacarídeo (ND-O-BSA) e trissacarídeo (NT-P-BSA) como forma de aumentar a sensibilidade do teste ELISA anti-PGL-1. *Rev Panamaz Saude* 2012; 3(3):33-39.
18. Souza UNB. Desafios para o diagnóstico laboratorial da hanseníase. Editorial, *Hansen Int.* 2011; 36 (2):7 – 8.
19. Van Beers SM, et al. An Epidemiological Study of leprosy infection by Serology and Polymerase Chain Reaction. *Int J Leprosy* 1994; 62(1): 1-9.