



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS
CURSO DE FARMÁCIA**

FERNANDO HENRIQUE DE CASTRO PEDROZA

**SEGUIMENTO SOROEPIDEMIOLÓGICO DE CRIANÇAS E JOVENS CONTATOS
DE PACIENTES COM HANSENÍASE NO MUNICÍPIO DE SANTANA DO IPANEMA,
AL**

FORTALEZA

2018

FERNANDO HENRIQUE DE CASTRO PEDROZA

SEGUIMENTO SOROEPIDEMIOLÓGICO DE CRIANÇAS E JOVENS CONTATOS DE
PACIENTES COM HANSENÍASE NO MUNICÍPIO DE SANTANA DO IPANEMA, AL

Monografia apresentada ao Curso de
Graduação em Farmácia da Universidade
Federal do Ceará, como requisito parcial à
obtenção do título de Farmacêutico.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Aparecida Tiemi
Nagao-Dias.

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- P413s Pedroza, Fernando Henrique de Castro.
Seguimento soroepidemiológico de crianças e jovens contatos de pacientes com hanseníase no município de Santana do Ipanema, AL / Fernando Henrique de Castro Pedroza. – 2018.
58 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Curso de Farmácia, Fortaleza, 2018.
Orientação: Prof. Dr. Aparecida Tiemi Nagao-Dias.
1. Hanseníase. 2. Sorologia. 3. IgM. 4. IgG. 5. IgA. I. Título.

CDD 615

FERNANDO HENRIQUE DE CASTRO PEDROZA

SEGUIMENTO SOROEPIDEMIOLÓGICO DE CRIANÇAS E JOVENS CONTATOS DE
PACIENTES COM HANSENÍASE NO MUNICÍPIO DE SANTANA DO IPANEMA, AL

Monografia apresentada ao Curso de
Graduação em Farmácia da Universidade
Federal do Ceará, como requisito parcial à
obtenção do título de Farmacêutico.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Aparecida Tiemi Nagao-Dias (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Paula Sacha Frota Nogueira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Farmacêutica Greyce Luri Sasahara
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais, Oziel e Lileuda.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e a minha irmã Camila por todo o apoio, antes e durante a graduação.

À professora Aparecida Tiemi pela orientação, ensinamentos e paciência.

Aos participantes da banca examinadora pela disponibilidade e considerações.

Ao pessoal do Laboratório de Imunologia da UFC pelo aprendizado.

Aos colegas de turma pela ajuda nas dificuldades acadêmicas, em especial Ana Cláudia, Eduardo, Jéssica e Pedro Igor.

À minha namorada Érina por todo o apoio.

À Universidade Federal do Ceará pelo compromisso com os seus discentes.

A todos os professores que contribuíram para a minha formação acadêmica.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPQ) pelo apoio financeiro ao projeto.

RESUMO

O Brasil é o segundo país com o maior número de casos novos de hanseníase, tendo sido diagnosticados 26.875 casos novos em 2017, com uma taxa de detecção de 12,73 por 100 mil habitantes. Em virtude disso, com o objetivo de conhecer o perfil soroepidemiológico de contatos, foi realizado um estudo prospectivo, de janeiro 2015 a dezembro 2017, no município Santana do Ipanema, Alagoas, com 69 crianças e jovens na faixa etária de 4 a 15 anos, contatos de pacientes com hanseníase. Foram coletadas amostras de sangue para dosar os anticorpos séricos IgM, IgG e IgA contra antígeno glicolipídico fenólico-1, antígeno específico de *Mycobacterium leprae*, agente etiológico da hanseníase, através do método imunoenzimático indireto em fase sólida. Dentre os contatos, 25 foram classificados como contatos de pacientes paucibacilares (PB) e 42 como contatos de pacientes multibacilares (MB). Trinta e dois participantes eram contatos intradomiciliares (ID) e 37, contatos peridomiciliares (PD). As análises foram realizadas utilizando os programas GraphPad Prism versão 6.01 e o nível de significância estatística considerado foi $\leq 0,05$. Foi observada uma alta frequência de positividade para IgM anti-PGL-1 tanto em contatos PB como em contatos MB. Em relação aos níveis de anticorpos, durante o seguimento, houve uma diminuição da IgM entre os contatos MB e queda nos títulos de IgG e IgA em ambos os tipos de contatos. Houveram correlações significativas entre IgM e IgA em 2016 nos contatos PB e entre IgM e IgG em 2015 e entre IgG e IgA em 2017 nos contatos MB. Os contatos ID apresentaram títulos mais elevados de anti-PGL-1 do que os contatos PD. Durante o estudo, 23 participantes apresentaram lesões (33,3%) e 45 não apresentaram lesões suspeitas (66,7%), tendo sido observada uma alta positividade de IgM, em ambos os grupos. Entretanto, no que se refere ao isotipo IgG, constatou-se um risco relativo de 3,25 vezes de o indivíduo apresentar soropositividade para IgG anti-PGL-1 e ter lesões. No último ano de seguimento, os contatos com lesões suspeitas foram encaminhados para um dermatologista, tendo sido diagnosticados 8 casos, sendo que 5 eram soropositivos para anti-PGL-1 e um caso apresentou soropositividade para os três isotipos no decorrer dos anos. O isotipo IgG anti-PGL-1 foi considerado o melhor marcador, pois o risco relativo do indivíduo ser soropositivo para esse marcador e ter o diagnóstico de hanseníase foi de 8,5 (IC₉₅= 4,0 – 18,0). Os demais parâmetros de validação para o referido teste foram: sensibilidade diagnóstica: 25,0% (3,2 – 65,0%); especificidade diagnóstica: 100,0% (92,1 -100,0%); valor preditivo positivo: 100,0% (15,8 – 100,0%); valor preditivo negativo: 88,2% (76,1 – 95,6%). Não houve associação significativa entre o isotipo IgM e a doença, tampouco entre IgA e a doença.

Palavras-chave: Hanseníase. Sorologia. Anti-PGL-1. IgG. IgM. IgA

ABSTRACT

Brazil is the second country with the highest number of new cases of leprosy, with 26,875 new cases diagnosed in 2017, with a detection rate of 12.73 per 100,000 inhabitants. As a result, in order to know the seroepidemiological profile of contacts, a prospective study was carried out, from January 2015 to December 2017, in Santana do Ipanema, Alagoas, with 69 contacts in the age group 4 to 15 years of leprosy cases. Blood samples were taken in order to evaluate IgM, IgG and IgA serum antibodies against glycopeptidic lipid antigen-1, a specific antigen *Mycobacterium leprae*, etiological agent of leprosy, through indirect immune enzyme linked-immunosorbent assay. Among the contacts, 25 were classified as paucibacillary contacts (PB) and 42 as multibacillary (MB) contacts. Thirty-two participants were household contacts (ID) and 37 as peridomiciliary contacts (PD). Analyses were performed using GraphPad Prism software version 6.01 and the level of statistical significance considered was $\leq 0,05$. A higher frequency of positive anti-PGL-1 IgM was observed in PB and MB contacts. Regarding antibody levels, during follow-up evaluation, it was observed a decrease in IgM among the MB contacts and a decrease in IgG and IgA titers in both types of contacts. It was verified significant correlations between IgM and IgA in 2016 in the PB contacts and between IgM and IgG in 2015 and also between IgG and IgA in 2017 in the MB contacts. ID contacts presented higher anti-PGL-1 titers than PD contacts. Twenty-three participants (33.3%) presented lesions and 45 (66.7%) did not, being observed a high IgM positivity in both groups. Nonetheless, regarding the IgG isotype, a relative risk of 3.25 for the person presenting IgG seropositivity and lesions. In 2017, the contacts that presented suspicious lesions were consulted by a dermatologist. Eight cases got diagnosis of leprosy, being five seropositive to anti-PGL-1 and one seropositive for all three isotypes over the years. The anti-PGL-1 IgG was considered to be the best marker, since relative risk regarding its seropositivity and leprosy diagnosis was 8.5 (IC₉₅ = 4.0 - 18.0). The other validation parameters for the IgG test were: diagnostic sensitivity: 25.0% (3.2 - 65.0%); diagnostic specificity: 100.0% (92.1 - 100.0%); positive predictive value: 100.0% (15.8 - 100.0%); negative predictive value: 88.2% (76.1 - 95.6%). There was found no significant association between IgM isotype and disease, nor between IgA and disease.

Keywords: Leprosy. Serology. Anti-PGL-1. IgG. IgM. IgA.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Distribuição geográfica dos casos novos de hanseníase, 2017	18
Figura 2	– Taxa média de detecção de casos novos de hanseníase (por 100 mil habitantes) segundo gênero e faixa etária, Brasil, 2012 a 2016	19
Figura 3	– Evolução lenta e progressiva da hanseníase em uma criança	21
Figura 4	– Classificação operacional da hanseníase segundo Madri e segundo a Organização Mundial de Saúde	23
Figura 5	– Tratamento da hanseníase através de poliquimioterapia, de acordo com a classificação operacional da doença	24
Figura 6	– Estrutura química do PGL-1	25
Figura 7	– Percentual de contatos soropositivos e soronegativos para anti-PGL-1 entre os grupos com e sem lesões suspeitas	42
Figura 8	– Parâmetros de validação dos testes sorológicos anti-PGL-1 e risco relativo em crianças e jovens, contatos ID e PD no município de Santana do Ipanema, AL, que foram no final do estudo de seguimento (2015-2017) diagnosticados com hanseníase	44

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	– Níveis de anticorpos anti-PGL-1 de contatos PB, nos anos de 2015, 2016 e 2017	31
Gráfico 2	– Níveis de anticorpos anti-PGL-1 de contatos MB, nos anos de 2015, 2016 e 2017	32
Gráfico 3	– Níveis de IgM sérica anti-PGL-1 de acordo com a classificação do caso, nos anos de 2015, 2016 e 2017	33
Gráfico 4	– Níveis de IgG sérica anti-PGL-1 de acordo com a classificação do caso, nos anos de 2015, 2016 e 2017	34
Gráfico 5	– Níveis de IgA sérica anti-PGL-1 de acordo com a classificação do caso, nos anos de 2015, 2016 e 2017	35
Gráfico 6	– Correlação entre os níveis de IgM e IgG séricas anti-PGL-1 de contatos MB, 2015	37
Gráfico 7	– Correlação entre os níveis de IgM e IgA séricas anti-PGL-1 de contatos PB, 2016	37
Gráfico 8	– Correlação entre os níveis de IgG e IgA séricas anti-PGL-1 de contatos MB, 2017	38
Gráfico 9	– Níveis de IgM sérica anti-PGL-1 de acordo com o tipo de contato, nos anos de 2015, 2016 e 2017	39
Gráfico 10	– Níveis de IgG sérica anti-PGL-1 de acordo com o tipo de contato, nos anos de 2015, 2016 e 2017	40
Gráfico 11	– Níveis de IgA sérica anti-PGL-1 de acordo com o tipo de contato, nos anos de 2015, 2016 e 2017	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Correlações entre os níveis de anticorpos anti-PGL-1 dos contatos de acordo com a classificação do caso, por ano	36
Tabela 2	– Percentual de contatos soropositivos para anti-PGL-1	41
Tabela 3	– Perfil sorológico dos contatos, cujo diagnóstico de hanseníase foi realizado em 2017	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AL	Alagoas
HD	Dimorfa
HI	Indeterminada
HT	Tuberculóide
HV	Virchowiana
IFN-γ	Interferon-gama
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL	Interleucina
MB	Multibacilar
MDT	Terapia Multidrogas
<i>M. leprae</i>	<i>Mycobacterium leprae</i>
PB	Paucibacilar
PGL-1	Glicolípídeo fenólico 1
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF-β	Fator de Crescimento beta
Th	T helper
TNF	Fator de Necrose Tumoral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	Epidemiologia da hanseníase	17
3.2	Hanseníase	21
3.3	Sorologia	25
4	MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1	Tipo de estudo	28
4.2	Local de estudo	28
4.3	Participantes	28
4.4	Critérios de inclusão	28
4.5	Critérios de exclusão	29
4.6	Amostras	29
4.7	Aspectos éticos	29
4.8	Determinação dos títulos de anticorpos séricos pelo método ELISA	29
4.9	Análise estatística	30
5	RESULTADOS	31
6	DISCUSSÃO	45
7	CONCLUSÕES	47
	REFERÊNCIAS	48
	ANEXO A – PARECER DO CEP	52
	ANEXO B – TCLE	55
	ANEXO C – TERMO DE ASSENTIMENTO	57

1 INTRODUÇÃO

O *Mycobacterium leprae* é o agente etiológico da hanseníase, doença infecciosa crônica com alto poder incapacitante, tornando-a um grave problema de saúde pública (BRASIL, 2018a). Segundo a Organização Mundial da Saúde, um total de 150 países reportaram 210.671 casos novos de Hanseníase em 2017. No Brasil, foram reportados 26.875 casos novos, colocando-o como o segundo país com o maior número de casos novos registrados no mundo (WHO, 2018a). No estado de AL, foram diagnosticados 334 casos novos, sendo 19 no município de Santana do Ipanema (BRASIL, 2018b). Dessa forma, nesse ano, a taxa de incidência por 100 mil habitantes foi de 12,73 no Brasil, 8,75 em Alagoas e 29,15 em Santana do Ipanema (BRASIL, 2018b).

A transmissão da bactéria ocorre pelas vias respiratórias através da fala, espirro, tosse, sendo necessário um contato próximo e prolongado com um paciente apresentando a classificação multibacilar da doença e que não esteja ainda realizando o tratamento farmacoterapêutico. Desse modo, indivíduos com casos de hanseníase na família podem ser mais suscetíveis à infecção por *M. leprae*. No entanto, estima-se que uma grande parte da população possui imunidade natural contra o bacilo (BRASIL, 2017a).

A hanseníase apresenta-se como uma doença espectral, variando de uma resposta imune celular que leva à morte efetiva de *M. leprae* a uma resposta imune predominantemente humoral, incapaz de matar os bacilos (HOOIJ *et al.*, 2017). O tratamento da doença é realizado através de uma combinação de fármacos conhecidos como terapia multidrogas (MDT), visto que se o tratamento for efetuado somente com um fármaco (monoterapia), pode resultar no desenvolvimento de resistência ao medicamento (WHO, 2018b).

O diagnóstico é realizado com base em dados clínicos e epidemiológicos do paciente, sendo os exames laboratoriais como os de baciloscopia de raspado dérmico e de lesões e análise histopatológica, usados de forma complementar, quando disponíveis (BRASIL, 2017b). A sorologia, apesar de não ser utilizada na rotina, passou a ser bastante empregada em pesquisas em virtude da descoberta de uma molécula específica do *Mycobacterium leprae* na década de 80, o glicolípido fenólico 1, ou PGL-1 (SPENCER; BRENNAN, 2011). A detecção de anticorpos contra o PGL-1, do ponto de vista hipotético, poderia auxiliar na classificação da forma clínica da doença, no acompanhamento da terapêutica, na identificação de recidiva e no seguimento de contatos com risco de desenvolvimento da doença (BARRETO *et al.*, 2015). De fato, o único aspecto que continua a ser utilizado como possível aplicação é o seguimento de contatos com risco de

desenvolvimento da hanseníase (FEENSTRA *et al.*, 2012, BARRETO *et al.*, 2014)

Nesse contexto, decidiu-se no presente projeto realizar o seguimento de contatos de pacientes com hanseníase no período de 2015 a 2017. Tratava-se de crianças e jovens na faixa etária de 4 a 15 anos de idade, residentes na moradia do caso índice ou próximos, dentro do município de Santana do Ipanema, AL. Durante o seguimento, foram dosados os títulos de anticorpos séricos anti-PGL-1, paralelamente à avaliação dermatoneurológica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Conhecer o perfil soroepidemiológico de crianças e jovens de 4 a 15 anos de idade, contatos de casos de hanseníase no município de Santana do Ipanema, AL, nos anos de 2015 a 2017.

2.2 Objetivos Específicos

- Descrever o perfil soroepidemiológico através de dosagem sérica anual de IgM, IgG e IgA, anti-antígeno glicofenólico 1;
- Avaliar os níveis séricos dos anticorpos de acordo com a classificação operacional do caso índice;
- Analisar o perfil sorológico, de acordo com o tipo de classificação de contato;
- Associar os títulos de anticorpos séricos com a presença ou ausência de lesões;
- Verificar correlações entre os isotipos de anticorpos séricos;
- Associar os títulos de anticorpos séricos com as classificações dos novos casos de hanseníase diagnosticados ao final do estudo.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

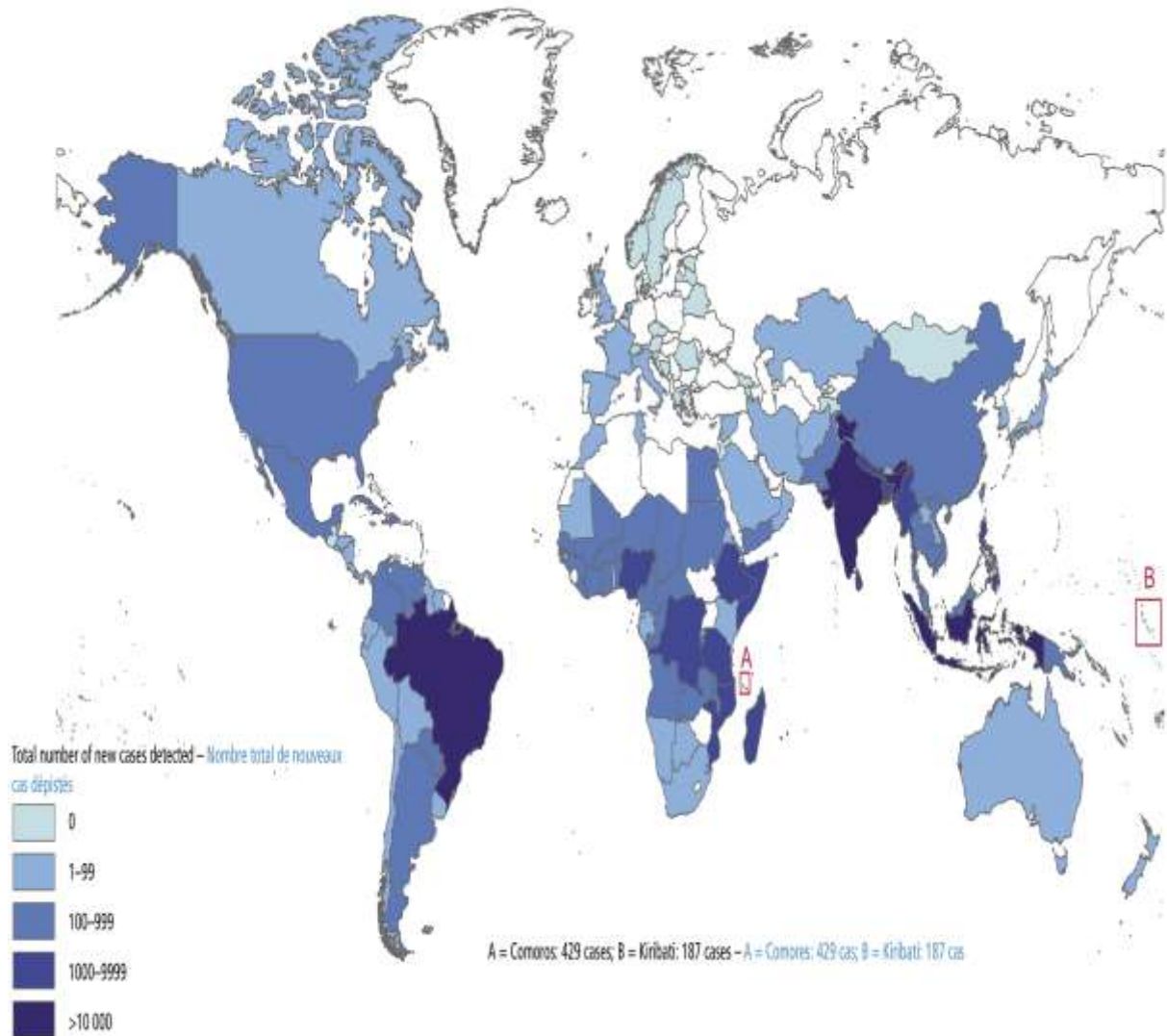
3.1 Epidemiologia da hanseníase

Hanseníase é um problema de saúde pública desde a década de 80, onde existiam em torno de 5 milhões de casos registrados entre 122 países. Ainda na década de 80, foi implantado o esquema de tratamento poliquimioterápico, o que permitiu a eliminação da doença em 113 países, levando a uma prevalência menor que 1 caso por 10 mil habitantes. Todavia, a hanseníase ainda é endêmica em alguns países, como o Brasil, a Indonésia e principalmente a Índia, que, juntos, reportam mais de 75% dos casos novos no mundo (SENA, 2014).

Em 2017, foram registrados um total de 150 países com hanseníase dentre as regiões de saúde da OMS, sendo 41 Africanos, 33 Americanos, 17 da Região do Mediterrâneo Oriental, 25 Europeus, 10 do Sudeste da Ásia e 24 da Região do Pacífico Ocidental. No total, foram reportados 210.671 casos novos, com uma taxa de detecção de 2,77 casos por 100 mil habitantes. Desse total, 20.416 são africanos (9,70%), 29.101 americanos (13,81%), 3.550 da Região do Mediterrâneo Oriental (1,68%), 153.487 do Sudeste da Ásia (72,85%), 4.084 da Região do Pacífico Ocidental (1,94%) e 33 da Europa (0,02%) (WHO, 2018a).

A Organização Mundial da Saúde (2018a), com base nos parâmetros de prevalência, detecção de casos novos e proporções dos casos em mulheres, crianças e grau 2 de incapacidade, identificou 22 “países com prioridade global” para hanseníase, dentre eles o Brasil. Esses países diagnosticaram conjuntamente 199.713 casos novos, o que representa 94,80% do total global. Entre os 150 países que reportaram casos novos de hanseníase, 33 países relataram zero casos novos, 38 reportaram entre 1 e 9 casos novos, 64 países notificaram entre 100 e 999 casos novos, 12 países reportaram entre 1.000 e 9.999 casos novos e 3 países, Brasil, Índia e Indonésia, notificaram mais de 10.000 casos novos (Figura 1, WHO, 2018a).

Figura 1 – Distribuição geográfica dos casos novos de hanseníase, 2017.



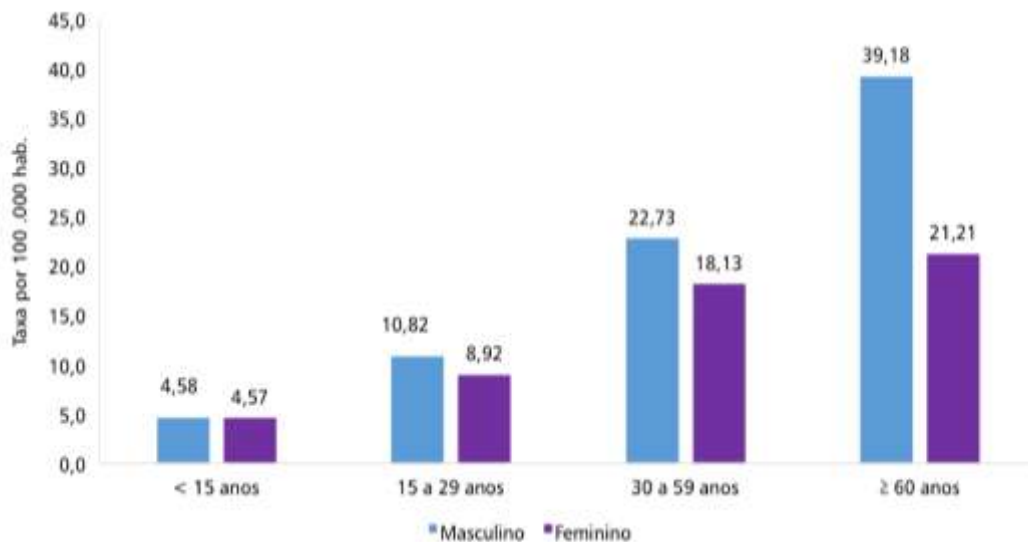
Fonte: World Health Organization (2018a).

No ano de 2017, o Brasil continuou ocupando a segunda posição no ranking dos países com maior quantidade de casos novos com 26.875 casos diagnosticados, sendo a primeira posição pertencente à Índia, com 126.164, e a Indonésia na terceira posição com 15.910 casos novos (WHO, 2018a). As taxas de detecção no país foram de 12,73 e 3,53, por 100 mil habitantes, na população geral e em menores de 15 anos, respectivamente. Alagoas diagnosticou 334 casos, com uma taxa de detecção geral de 8,75 e 2,76 em menores de 15 anos por 100.000 nessa população. Em Santana do Ipanema, foram diagnosticados 19 casos, e as taxas de detecção, por 100 mil habitantes, foram de 29,15 na população geral e 41,57 nos menores de 15 anos (BRASIL, 2018b).

No período de 2012 a 2016, foram realizados 151.764 diagnósticos de hanseníase no Brasil, tendo sido observada uma taxa média de detecção de 14,97 por 100 mil habitantes.

A taxa de detecção foi maior no gênero masculino do que no feminino e, em ambos os gêneros, foi diretamente proporcional à faixa etária. Além disso, a taxa média de detecção na população masculina de 60 anos foi bastante elevada, o que reflete diagnóstico tardio (Figura 2, BRASIL, 2018a).

Figura 2 – Taxa média de detecção de casos novos de hanseníase (por 100 mil habitantes) segundo gênero e faixa etária, Brasil, 2012 a 2016.



Fonte: Brasil – Ministério da Saúde (2018a).

A análise por região no período de 2012 a 2016, mostrou que as regiões Centro-Oeste e Norte apresentaram as maiores taxas médias de detecção de casos novos, sendo 37,27 e 34,26 por 100 mil habitantes, respectivamente. Em seguida, a região Nordeste apresentou a taxa de 23,42 por 100 mil habitantes e as regiões Sudeste e Sul, 5,31 e 3,75 por 100 mil habitantes, respectivamente. Os três Estados brasileiros com as maiores taxas foram Mato Grosso, Tocantins e Maranhão com 88,9, 69,13 e 53,91 por 100 mil habitantes, respectivamente, e, com exceção do Rio Grande do Norte, em todos os demais estados a taxa de detecção foi maior na população masculina (BRASIL, 2018a).

O Estado de Alagoas apresentou 2.373 casos novos, de 2012 a 2016, com uma taxa média de detecção de 10,8 casos novos por 100 mil habitantes na população geral (ALAGOAS, 2017) e 2,42 em menores de 15 anos (BRASIL, 2018c). No mesmo período, o município de Santana do Ipanema apresentou 116 casos novos (ALAGOAS, 2017), com uma taxa média de 48,91 casos por 100 mil habitantes na população geral e, no ano de 2015, uma taxa de detecção de 34,64 em menores de 15 anos (BRASIL, 2018c). A alta incidência da

doença entre crianças significa que uma transmissão ativa está ocorrendo na comunidade (SALGADO *et al.*, 2016), o que justifica a escolha da faixa etária de 4 a 15 anos no estudo.

Em abril de 2016, a Organização Mundial da Saúde lançou uma estratégia global de 5 anos, ou seja, de 2016 a 2020, para eliminar a hanseníase no mundo como problema de saúde pública. Em virtude disso, foi publicado um guia intitulado *Estratégia Global para Hanseníase 2016-2020: Aceleração rumo a um mundo sem hanseníase*, para orientar o controle e reduzir a carga da doença. A estratégia foi construída com base em três pilares: i) Fortalecimento do controle, da coordenação e da parceria do governo; ii) Combate à hanseníase e suas complicações; iii) Combate à discriminação e promoção da inclusão (OMS, 2016). Além disso, países endêmicos como o Brasil, deveriam incluir outras intervenções estratégicas em seus planos nacionais para atender às novas metas, isto é, triagem de todos os contatos próximos de pessoas afetadas pela hanseníase, promoção de um regime de tratamento mais curto e uniforme e incorporação de intervenções específicas contra a estigmatização e discriminação (WHO, 2018b).

3.2 Hanseníase

Em 1873, o médico norueguês Gerhard Armauer Hansen identificou o agente etiológico da hanseníase, o *Mycobacterium leprae* (EIDT, 2004). O bacilo, considerado álcool-ácido-resistente, pode apresentar medidas que podem variar de 1 a 8 μm de comprimento e 0,3 a 0,4 μm de largura com extremidades retas ou encurvadas (SENA, 2014). A formação de globias, que são aglomerados de bactérias, é uma característica do *M. leprae*, não observada em outras micobactérias (NOBRE, 2016). A técnica de Ziehl-Neelsen é utilizada para corar o bacilo, não sendo possível cultivá-lo em laboratório (ALVES, 2014).

A transmissão ocorre quando um indivíduo com hanseníase multibacilar (MB) não tratada elimina os bacilos, através de gotículas provenientes das vias áreas superiores (mucosa nasal e orofaríngea), para um contato residente no mesmo domicílio ou que seja próximo, como um colega de escola, vizinho, entre outros. Os portadores da doença classificados como paucibacilar (PB) possuem poucos bacilos; dessa forma, não são consideradas fontes importantes de transmissão. Quando o indivíduo inicia o tratamento, a transmissão deixa de acontecer, uma vez que a grande maioria das micobactérias rapidamente morrem, levando à ruptura da cadeia epidemiológica de transmissão da doença (BRASIL, 2017b).

Estima-se que 90% da população possuem imunidade natural contra o *M. leprae* e que pessoas com casos de hanseníase na família apresentam maior probabilidade de adoecer, pois a vulnerabilidade é influenciada pela genética, mas também pelo ambiente. A incubação dura em média de 2 a 7 anos, contudo, há relatos de períodos mais curtos e também mais longos, de 7 meses e de 10 anos, respectivamente (BRASIL, 2017b).

Figura 3 – Evolução lenta e progressiva da hanseníase em uma criança.



Fonte: Brasil – Ministério da Saúde (2017a).

A forma indeterminada (HI) é, geralmente, a manifestação inicial da hanseníase, ocorrendo resposta imune do indivíduo infectado contra o *M. leprae* e manifestações clínicas indiferenciadas, dificultando o diagnóstico ou o prognóstico de evolução da doença (SAMPAIO, 2011). Os portadores da forma tuberculóide (HT) possuem uma resposta imune celular eficaz, o que torna a doença mais limitada, com poucas lesões de pele e de nervos. Os portadores da forma virchowiana (HV) apresentam supressão de resposta imune celular, havendo ocorrência de muitas lesões e infiltrações na pele e nervos (MENDONÇA *et al.*, 2008).

Os linfócitos TCD4⁺ podem se diferenciar em T helper 1 (Th1) ou T helper 2 (Th2), gerando duas respostas imunes opostas (ALVES; FERREIRA; FERREIRA, 2014). A polarização da resposta imunológica ao *M. leprae* é crucial na imunopatogenia da hanseníase, bem como nas manifestações clínicas. O perfil Th1 está relacionado com a forma HT, onde há produção de interferon-gama (IFN- γ), interleucina (IL) -2, IL-15 e fator de necrose tumoral (TNF), levando a uma eficiente contenção do bacilo em granulomas. O perfil Th2 está relacionado com a forma HV da doença, com produção de IL-4, IL-5. Há também ativação de linfócitos T reg, com a produção de IL-10 e TGF- β , levando a uma produção de anticorpos, não restringindo a disseminação de *M. leprae* (FONSECA *et al.*, 2017).

Diante da falta de especialistas em muitos locais, foi criada a “Classificação Operacional da Hanseníase” pela Organização Mundial da Saúde (NOBRE, 2016). A classificação é baseada no aspecto das lesões cutâneas e comprometimento de nervos. Assim sendo, o indivíduo é classificado como paucibacilar (PB) quando a doença está localizada apenas em uma região do corpo e/ou há acometimento de um tronco nervoso, correspondendo à forma clínica indeterminada ou à forma tuberculóide. A classificação multibacilar (MB) ocorre quando há disseminação em vários locais do corpo e/ou dois ou mais troncos nervosos acometidos, correspondendo à forma dimorfa ou a virchowiana (Figura 4, BRASIL, 2017a).

Figura 4 – Classificação operacional da hanseníase segundo Madri e segundo a Organização Mundial de Saúde.

Características			
Clinicas	Baciloscópicas	Formas clínicas	Classificação operacional
Áreas de hipo ou anestesia, parestesias, manchas hipocrômicas e/ou eritemo-hipocrômicas, com ou sem diminuição da sudorese e rarefação de pelos	Negativa	Indeterminada (HI)	Paucibacilar (PB)
Placas eritematosas, eritemato-hipocrômicas, até 5 lesões de pele bem delimitadas, hipo ou anestésicas, podendo ocorrer comprometimento de nervos	Negativa	Tuberculoide (HT)	
Lesões pré-faveolares (eritematosas planas com o centro claro). Lesões faveolares (eritematopigmentares de tonalidade ferruginosa ou pardacenta), apresentando alterações de sensibilidade	Positiva (bacilos e globias ou com raros bacilos) ou negativa	Dimorfa (HD)	Multibacilar (MB)
Eritema e infiltração difusos, placas eritematosas de pele infiltradas e de bordas mal definidas, tubérculos e nódulos, madarose, lesões das mucosas, com alteração de sensibilidade	Positiva (bacilos abundantes e globias)	Virchowiana (HV)	

Fonte: Brasil – Ministério da Saúde (2017b).

O diagnóstico precoce dos casos é uma das principais medidas para o controle, uma vez que é possível iniciar de imediato o tratamento específico e realizar busca ativa nos contatos intradomiciliares (ALENCAR *et al.*, 2012).

O diagnóstico da hanseníase é realizado com base em avaliações epidemiológicas e dermatoneurológicas, com o intuito de identificar lesões de pele, alteração de sensibilidade e comprometimento de nervos. Além disso, se o exame baciloscópico e histopatológico estiverem disponíveis podem ser utilizados de forma complementar (BRASIL, 2017b).

A hanseníase pode ser tratada com a terapia multidrogas (MDT), uma associação de fármacos, visto que a monoterapia pode facilmente levar à resistência medicamentosa. A associação de medicamentos varia de acordo com a classificação da doença, PB ou MB, sendo a rifampicina o fármaco mais importante e, portanto, incluído no tratamento de ambas as classificações. Para os pacientes hansenícos classificados como multibacilar, recomenda-se rifampicina + clofazimina + dapsona e para os pacientes classificados como paucibacilar, recomenda-se rifampicina + dapsona (Figura 5, WHO, 2018b).

Figura 5 – Tratamento da hanseníase através de poliquimioterapia, de acordo com a classificação operacional da doença.

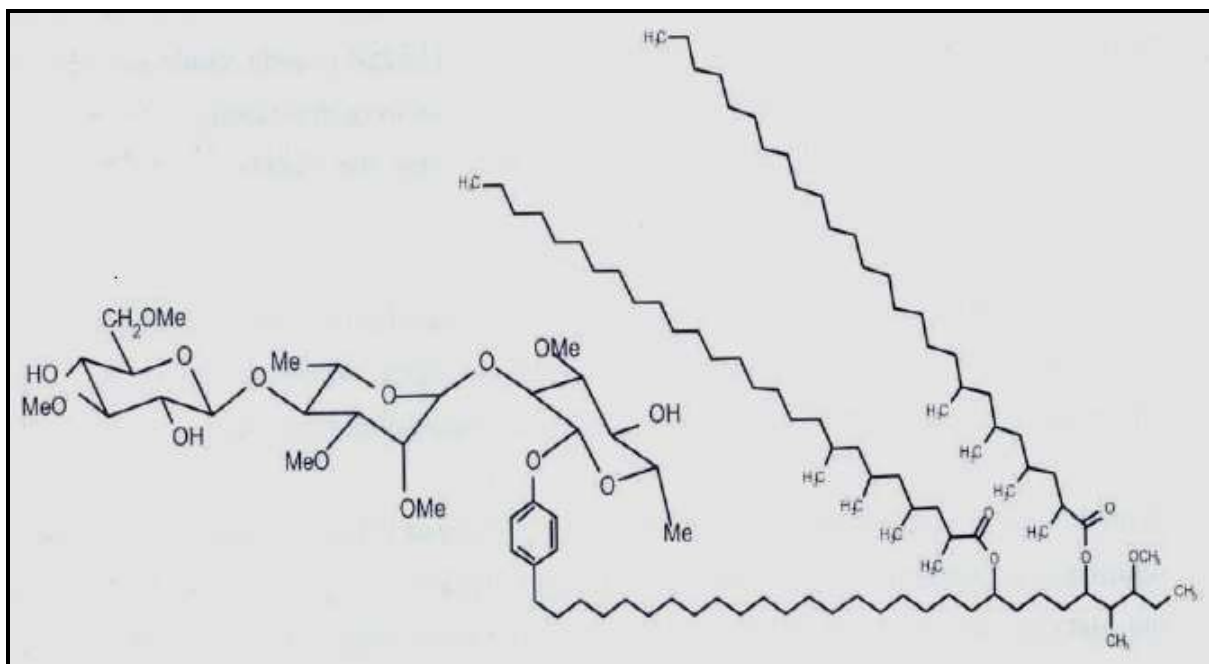


Fonte: Brasil – Ministério da Saúde (2017a).

3.3 Sorologia

A identificação do glicolípido específico do *Mycobacterium leprae* com a determinação da sua estrutura química em 1981, bem como sua comprovação de que se tratava de uma molécula antigênica, levou a grandes avanços na pesquisa em hanseníase (MOURA *et al.*, 2008). O glicolípido fenólico 1 ou PGL-1 é o principal antígeno do *M. leprae*. Ele é composto por um único trissacarídeo de 3,6-di-O-metila- β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-O-metila- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)-3-O-metila- α -L-ramnopiranosil. A região de di- e trissacarídeo da molécula é a principal responsável pela atividade antigênica do PGL-1 (Figura 6, SÉKULA, 2008).

Figura 6 – Estrutura química do PGL-1.



Fonte: CUNHA (2012).

A sorologia está relacionada com a pesquisa de anticorpos ou antígenos e contribui muito para o diagnóstico de diversas doenças infecciosas e não infecciosas. Todavia, ela é empregada na hanseníase somente como ferramentas em trabalhos de pesquisa (ALVES, 2014).

A técnica que melhor demonstra a presença de anticorpos contra o PGL-1 é o teste de ELISA indireto (Ensaio Imunoenzimático em fase sólida), que utiliza amostras de soro ou saliva, conjugado de anti-imunoglobulinas marcados com enzimas, substrato e cromógeno.

Quando a enzima entra em contato com o substrato, produz uma reação, onde o produto reage com um cromógeno. Após a redução ou oxidação desta molécula, há formação de uma solução colorida. A intensidade da coloração é diretamente proporcional à quantidade de ligações formadas entre anticorpos e antígenos. O teste anti-PGL-1, empregando-se o ELISA como método, pode ser utilizado do ponto de vista semi-quantitativo, através de títulos ou índices de absorvância, assim como do ponto de vista qualitativo, neste caso, necessitando de um soro *cut-off* ou de um parâmetro numérico para separar o que seria considerado positivo ou negativo (CUNHA, 2012).

Como não há um ponto de corte entre os indivíduos saudáveis e os pacientes, que permita o discernimento entre a infecção subclínica e a doença propriamente dita, o teste sorológico anti-PGL-1 não pode ser usado como ferramenta diagnóstica (MOURA *et al.*, 2008).

A persistência do antígeno PGL-1 no hospedeiro, visto que se trata de uma molécula hidrofóbica, se dá pela sua conseqüente insolubilidade em meio aquoso ou pela incapacidade do macrófago de eliminá-lo (MILLER; GORDER; HARNISCH, 1987). Devido a essa persistência, anticorpos IgM estão elevados no soro desses organismos. O aumento dos títulos de IgM anti-PGL-1 no sangue periférico é um reflexo da resposta imune humoral ativada e da elevada carga bacteriana nos indivíduos, principalmente nos pacientes multibacilares (KLAUSTER; CHO; BRENNAN, 1996).

A especificidade diagnóstica do teste está em torno de 98% (CUNHA, 2012), no entanto, a sorologia anti-PGL-1 reflete o espectro da hanseníase, pois a sua sensibilidade diagnóstica é bastante variável de acordo com a forma clínica da doença (STEFANI *et al.*, 2012).

No polo virchowiano, os pacientes apresentam altos títulos de IgM anti-PGL-1, onde a sensibilidade diagnóstica varia de 80% a 100%. Pacientes paucibacilares possuem baixos títulos de anticorpos, uma vez que a resposta imune celular é a que predomina. Dessa forma, o teste, nessas condições apresenta uma sensibilidade variável, de 30% a 60% (CUNHA, 2012).

O anticorpo IgM contra o PGL-1 é o isotipo mais pesquisado nas amostras de soro de pacientes e contatos, pois o antígeno glicolípido fenólico 1 é um antígeno T independente. Entretanto, há relatos da presença de outros isotipos, como IgG e IgA (MACEDO *et al.*, 2017). O teste para IgG sérica anti-PGL-1, apesar de apresentar alta especificidade, falta sensibilidade diagnóstica. Sobre a IgA anti-PGL-1, há poucos relatos em relação a esse isotipo. Tem havido um crescente interesse no mesmo em diagnóstico de algumas doenças

infeciosas. Dessa forma, MACEDO *et al* (2017) procuraram investigar sua correlação com IgM em pacientes com hanseníase, tendo sido verificado uma boa correlação.

A detecção e a quantificação de anticorpos anti-PGL-1, apesar da aplicação limitada para diagnóstico de todas as formas clínicas da hanseníase, pode ser uma ferramenta adjuvante no seguimento de contatos com risco de desenvolvimento da doença (DUTHIE *et al.*, 2014).

Em situações de exposição ambiental ao microrganismo, observa-se elevada frequência de resultados positivos para os anticorpos, entre contatos de pacientes com hanseníase. Estudos mostram positividade de até 18,4% entre contatos, sendo observado que quem convive com pacientes MB possui valores mais elevados do que aquele que convive com pacientes PB (ALVES, 2014). A soropositividade é um marcador de infecção subclínica em indivíduos saudáveis e há uma boa correlação entre os níveis de anticorpos e a carga bacteriana, visto que uma entre dez pessoas, com teste positivo para IgM anti-PGL-1, possui uma probabilidade muito alta de desenvolver a doença no período de dois anos. Os títulos de anticorpos tendem a aumentar significativamente na grande maioria dos infectados, antes do diagnóstico da doença (BARRETO *et al.*, 2015).

É importante ressaltar que o diagnóstico da hanseníase depende, em grande parte, dos sinais e sintomas clínicos. Os testes sorológicos oferecem novas possibilidades para um diagnóstico mais precoce, identificando pacientes com hanseníase em estágios iniciais da doença ou até mesmo indivíduos infectados pelo *M. leprae* sem quaisquer sintomas. Esses testes provavelmente contribuirão para a redução do atraso no diagnóstico em áreas endêmicas e também auxiliarão na classificação da doença, permitindo um tratamento mais adequado (RICHARDUS *et al.*, 2017), uma vez que a vigilância direcionada a indivíduos que vivem em áreas de alta endemicidade e o seguimento de pessoas com altos títulos de anti-PGL-1 é uma estratégia que deve ser implementada para a detecção precoce, prevenção de incapacidades e rompimento da cadeia de transmissão (BARRETO *et al.*, 2014).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Tipo de estudo

Estudo prospectivo, no qual os indivíduos são observados a partir de um dado momento, prosseguindo-se ao longo do tempo previamente fixado. As crianças e jovens foram acompanhadas durante 3 anos consecutivos, de janeiro de 2015 a dezembro 2017. Elas eram submetidas a avaliação dermatoneurológica por profissionais da Enfermagem e à realização de coleta de sangue uma vez ao ano. Caso apresentassem lesões suspeitas, eram encaminhadas para avaliação por dermatologista.

4.2 Local de estudo

O município Santana do Ipanema está localizado no estado de Alagoas, Brasil, com área territorial de 437,875 km², 47.486 habitantes e 0,591 de índice de desenvolvimento humano municipal.

4.3 Participantes

Contatos de pacientes com hanseníase (n=69), residentes no município de Santana do Ipanema, AL, e com idades variando entre 4 a 15 anos que residiam na moradia do caso índice (contato intradomiciliar) ou próximo (contato peridomiciliar). Contatos peridomiciliares eram aqueles que residiam próximo à moradia do caso índice (até 5 casas à direita ou à esquerda). As identificações dos casos e contatos eram realizadas por meio dos agentes comunitários de saúde do município e, além disso, esses profissionais guiavam as visitas as residências, apresentando os pesquisadores e explicando o projeto para os participantes.

4.4 Critérios de inclusão

Contatos intradomiciliares e peridomiciliares (na faixa etária de 4 a 15 anos de idade) de casos índices de hanseníase notificados no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2015.

4.5 Critérios de exclusão

Contatos, cujas amostras não puderam ser coletadas em algum dos anos de seguimento (2015-2017). Contatos, cujo diagnóstico de hanseníase ocorreu ao ingressarem no projeto.

4.6 Amostras

Amostras de sangue (4 mL) foram coletadas em tubos ativadores de coágulos contendo gel separador. Após 30 minutos, as amostras eram centrifugadas a 1500 rpm durante 10 minutos, o soro era separado e armazenado em alíquotas a -20°C.

4.7 Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Ceará (processo 532.850, 18/02/2014, ANEXO A) e os responsáveis legais dos participantes da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO B) e o termo de assentimento pelo jovem com idade entre 8 e 15 anos (ANEXO C).

4.8 Determinação dos títulos de anticorpos séricos pelo método ELISA

As análises sorológicas para anticorpos anti-PGL-1 foram realizadas de acordo com o protocolo descrito por MACEDO *et al.* (2017). Microplacas de fundo plano com 96 poços (código 3590, Costar, EUA) foram revestidas com 5 mg/L de PGL-1 nativo (gentilmente doado pela BEI Resources/ATCC (Manassas, EUA) em álcool etílico absoluto (50 µL por poço). As placas foram deixadas descobertas durante 2 horas a 37° C. Posteriormente, foram incubadas com soro bovino fetal inativado a 1% (FBS; LGC Bio, Brasil) em solução salina tamponada com fosfato (PBS, pH 7.4) por 2 horas a 37° C em câmara úmida. Após cinco lavagens com PBS-FBS a 0,05%, as amostras de soro previamente diluídas (1: 200 para IgG e IgM e 1:50 para IgA) em PBS-FBS a 1% foram adicionadas às placas (50 µL por poço, em duplicata). As placas foram então incubadas durante 2 horas a 37° C. Após as lavagens, anti-IgG (A0170, Sigma, EUA), anti-IgM (SAB3701404, Sigma, EUA) ou anti-IgA (A0295, Sigma, EUA) marcados com peroxidase, previamente diluídos a 1: 2500,

1: 9000, 1: 1000, respectivamente, foram adicionados às placas, incubando-se durante 1 hora e 30 minutos a 37° C. Após lavagens, as placas foram deixadas por 30 minutos com a solução de substrato (100 µL por poço) contendo 0,4 mg de ortofenilenodiamina (Sigma, USA)/mL de tampão citrato-fosfato 0,01 mol L⁻¹, pH 5.0, e H₂O₂ na concentração final de 0,01%. A reação foi interrompida pela adição de 25 µL de ácido sulfúrico 2,5 N. A análise foi realizada a 492 nm, utilizando um leitor de placas ELISA (ASYS Expert Plus, Biochrom, UK). Cinquenta amostras de soro de doadores de sangue foram reunidas e empregadas como soro *cut-off* em todos os testes. Controles positivos e negativos foram incluídos em cada teste. A amostra *cut-off* e os controles foram testados em quadruplicata. O limiar de reatividade ou *cut-off* foi de 1,2 para IgM e IgG e 1,1 para IgA.

Os resultados foram expressos em índices de acordo com a seguinte fórmula: média da densidade óptica (DO) da amostra de teste, menos o branco, dividida pela média da DO do *pool* de soro humano normal, menos o branco. Os doadores de sangue eram soronegativos para HIV, Chagas, hepatites B e C, HTLV, sífilis e não apresentavam hanseníase no momento da coleta da amostra.

4.9 Análise estatística

Os dados foram analisados por meio de testes não paramétricos, uma vez que não seguiram uma distribuição gaussiana (teste de Kolgomorov-Smirnov). Foram utilizados os testes de Friedman para comparar três grupos de amostras pareadas e o teste de Dunn para avaliar diferenças estatísticas entre os grupos. O teste de Mann-Whitney foi empregado para comparar dois grupos de amostras não pareadas. O teste de Spearman foi utilizado para analisar o índice de correlação entre dois grupos de amostras pareadas. O teste de Fisher foi utilizado para verificar associação entre a frequência de positividade dos anticorpos séricos e presença de lesões e, posteriormente do diagnóstico de hanseníase. Além disso, como foi realizado um estudo de seguimento, foi possível o emprego do parâmetro de risco relativo, com intervalo de confiança de 95% e os seguintes parâmetros de validação também foram calculados: sensibilidade e especificidade diagnósticas e parâmetros preditivos negativos e positivos. As análises foram realizadas utilizando o programa GraphPad Prism versão 6.01. O nível de significância estatística considerado foi $\leq 0,05$.

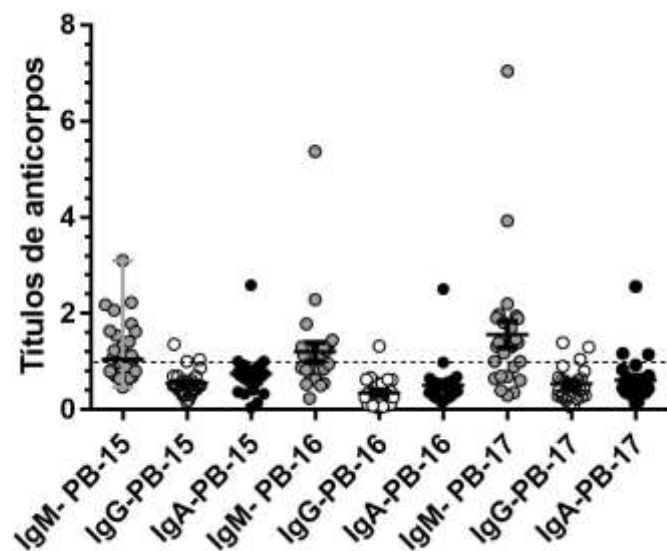
5 RESULTADOS

Sessenta e nove contatos foram acompanhados durante 3 anos, sendo 38 do gênero masculino e 31 do gênero feminino, com a média de idade de 9,5 anos. Os participantes foram classificados em contatos de casos paucibacilares (contatos PB, n = 25) e contatos de casos multibacilares (contatos MB, n = 42), de acordo com a classificação do caso índice. Dois jovens não foram classificados devido à ausência de informações nos prontuários. Os participantes também foram classificados de acordo com o tipo de contato, intradomiciliar (contatos ID, n = 32) e peridomiciliar (contatos PD, n = 37).

O Gráfico 1 apresenta os títulos de anticorpos das crianças e jovens contatos PB nos anos de 2015, 2016 e 2017. A linha tracejada representa o limiar de reatividade. Como mostra o gráfico, podemos verificar que a maior frequência de valores positivos estava relacionada com o isotipo IgM.

Gráfico 1 – Níveis de anticorpos anti-PGL-1 de contatos PB, nos anos de 2015, 2016 e 2017.

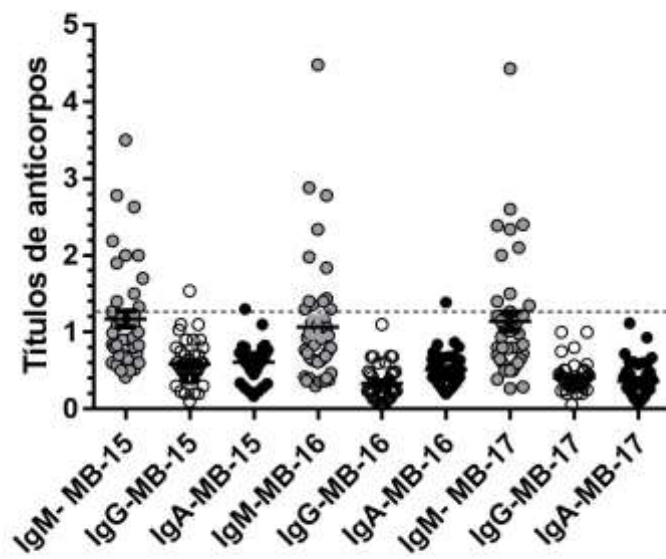
IgM, IgG, IgA séricas anti-PGL-1 de contatos PB



O Gráfico 2 apresenta os títulos de anticorpos das crianças e jovens contatos MB nos anos de 2015, 2016 e 2017. A linha tracejada representa o limiar de reatividade. Como mostra o gráfico, podemos verificar que a maior frequência de valores positivos estava relacionada com o isotipo IgM.

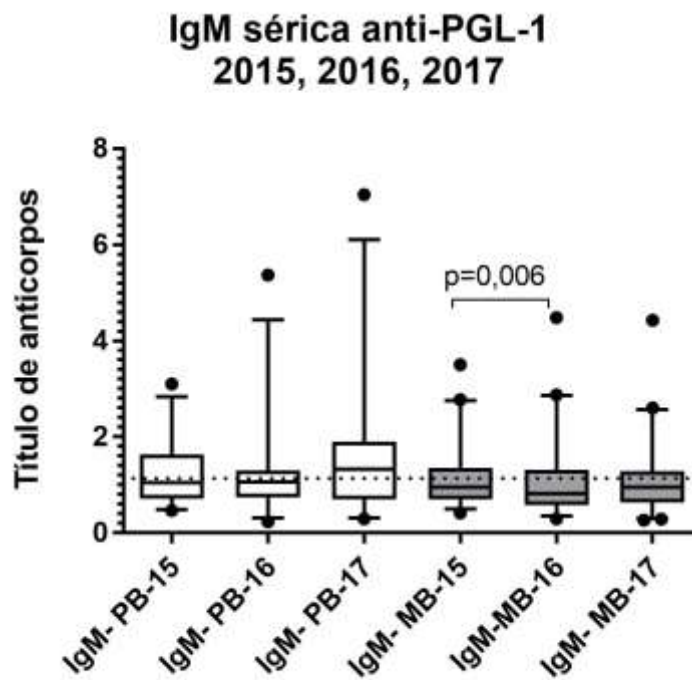
Gráfico 2 – Níveis de anticorpos anti-PGL-1 de contatos MB, nos anos de 2015, 2016 e 2017.

IgM,IgG, IgA séricas anti-PGL-1 de contatos MB



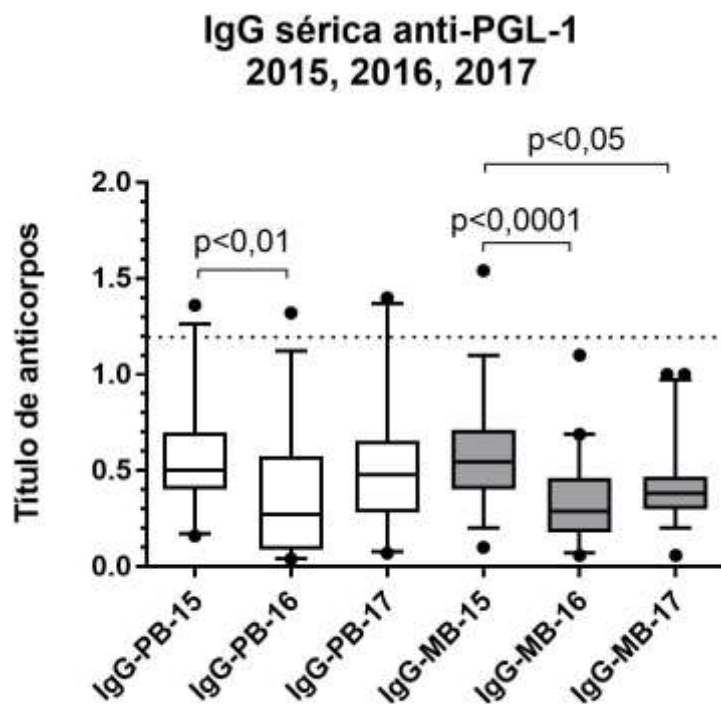
Quanto aos níveis do isotipo IgM (Gráfico 3), não foi observada diferença significativa entre os contatos PB. Entre os contatos MB, observa-se que houve uma diferença estatística ao se comparar os anos (teste de Friedman, $p = 0,006$), tendo sido observada uma pequena diminuição dos níveis de anticorpos em 2016 comparativamente ao ano de 2015 (teste de Dunn, $p < 0,01$).

Gráfico 3 – Níveis de IgM sérica anti-PGL-1 de acordo com a classificação do caso, nos anos de 2015, 2016 e 2017.



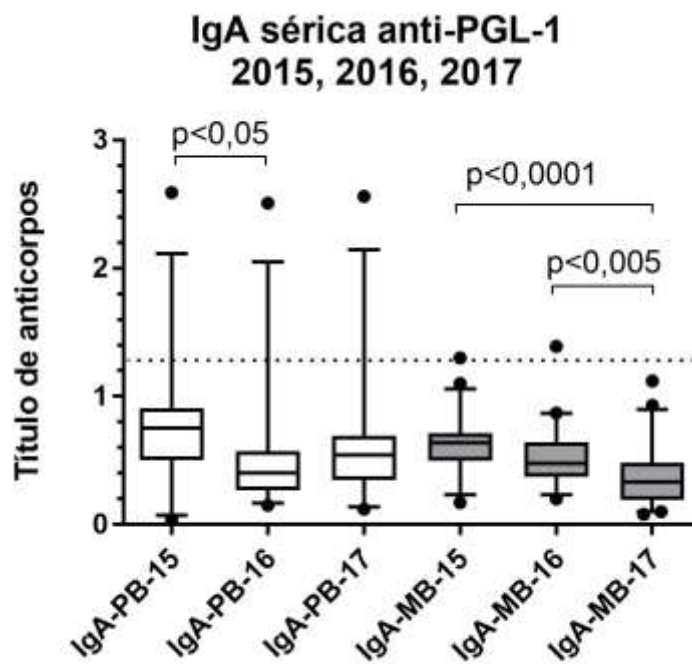
Quanto aos níveis de IgG (Gráfico 4), houve uma variação comparando-se os anos, tanto para os contatos PB (teste de Friedman, $p < 0,01$), como para os contatos MB ($p=0,0001$). Entre os contatos PB, houve uma queda dos títulos, ao se comparar os anos de 2015 e 2016 (teste de Dunn, $p < 0,01$). Entre os contatos MB, níveis mais elevados de anticorpos foram observados em 2015 comparativamente a 2016 (teste de Dunn, $p < 0,0001$) e a 2017 ($p < 0,05$).

Gráfico 4 – Níveis de IgG sérica anti-PGL-1 de acordo com a classificação do caso, nos anos de 2015, 2016 e 2017.



Quanto ao isotipo IgA (Gráfico 5), observa-se uma diferença estatisticamente significativa tanto entre os contatos PB (teste de Friedman, $p < 0,005$), como entre os contatos MB ($p < 0,0001$). Entre os contatos PB, houve uma pequena queda dos títulos em 2016 comparativamente a 2015 (teste de Dunn, $p < 0,005$). Em relação aos contatos de casos MB, os títulos mais elevados foram encontrados em 2015 e 2016, comparativamente a 2017 (teste de Dunn, $p < 0,0001$ e $p < 0,005$, respectivamente).

Gráfico 5 – Níveis de IgA sérica anti-PGL-1 de acordo com a classificação do caso, nos anos de 2015, 2016 e 2017.



Com objetivo de se avaliar a correlação entre os isotipos, classificação operacional dos casos índices e ano de coleta, empregou-se o teste de correlação de Spearman (Tabela 1). Algumas análises foram consideradas estatisticamente significantes.

Tabela 1 – Correlações entre os níveis de anticorpos anti-PGL-1 dos contatos de acordo com a classificação do caso, por ano.

Ano	Análise	Classificação do caso do contato	Teste de Spearman	
			r	p
2015	IgM x IgG	PB	0,19	0,36
2015	IgM x IgA	PB	-0,06	0,76
2015	IgG x IgA	PB	-0,02	0,92
2016	IgM x IgG	PB	0,28	0,17
2016	IgM x IgA	PB	0,45	0,02*
2016	IgG x IgA	PB	0,34	0,09
2017	IgM x IgG	PB	0,31	0,13
2017	IgM x IgA	PB	-0,06	0,75
2017	IgG x IgA	PB	0,14	0,48
2015	IgM x IgG	MB	0,56	0,001*
2015	IgM x IgA	MB	-0,12	0,42
2015	IgG x IgA	MB	-0,43	0,004
2016	IgM x IgG	MB	0,05	0,74
2016	IgM x IgA	MB	0,15	0,36
2016	IgG x IgA	MB	0,21	0,18
2017	IgM x IgG	MB	0,19	0,23
2017	IgM x IgA	MB	0,20	0,20
2017	IgG x IgA	MB	0,37	0,02*

* $p \leq 0.05$

Observou-se correlações significativas entre os níveis de IgM e IgG anti-PGL-1 em contatos MB, ano de 2015 ($r = 0,56$ e $p = 0,001$) (Gráfico 6); assim como entre os níveis de IgM e IgA anti-PGL-1 em contatos PB, ano de 2016 ($r = 0,45$ e $p = 0,02$) (Gráfico 7), e entre os níveis de IgG e IgA anti-PGL-1 em contatos MB, ano de 2017 ($r = 0,37$ e $p = 0,02$) (Gráfico 8).

Gráfico 6 – Correlação entre os níveis de IgM e IgG séricas anti-PGL-1 de contatos MB, 2015.

Correlação entre IgM e IgG anti-PGL-1 de contatos MB - 2015

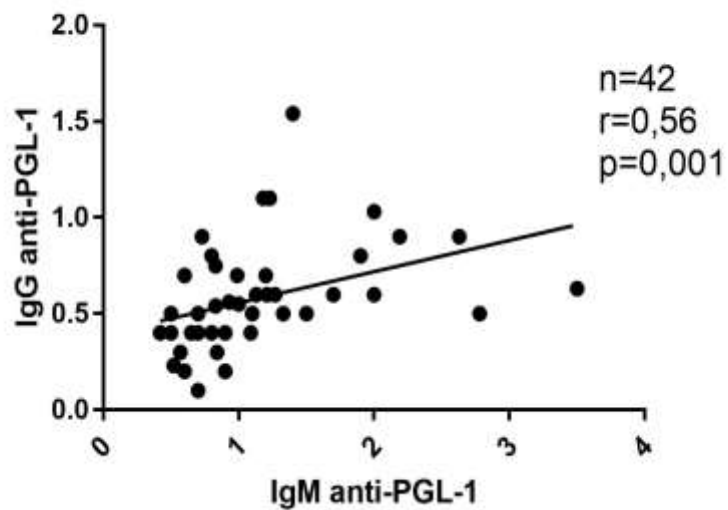


Gráfico 7 – Correlação entre os níveis de IgM e IgA séricas anti-PGL-1 de contatos PB, 2016.

Correlação entre IgM e IgA anti-PGL-1 de contatos PB - 2016

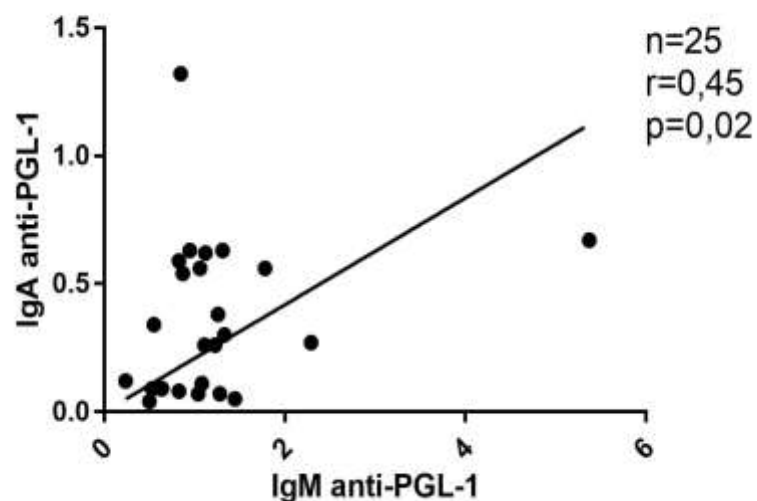
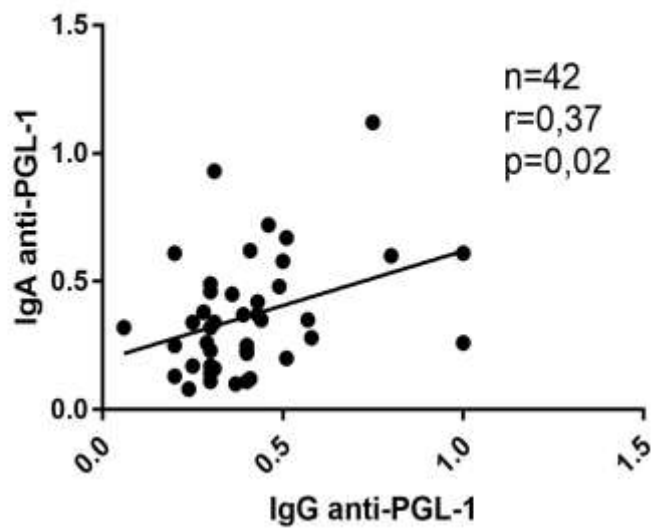


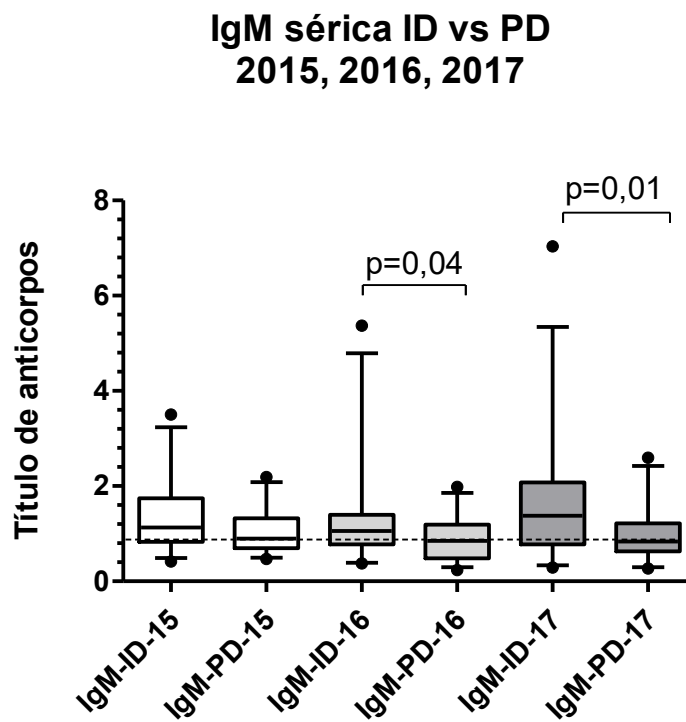
Gráfico 8 – Correlação entre os níveis de IgG e IgA séricas anti-PGL-1 de contatos MB, 2017.

Correlação entre IgG e IgA anti-PGL-1 de contatos MB - 2017



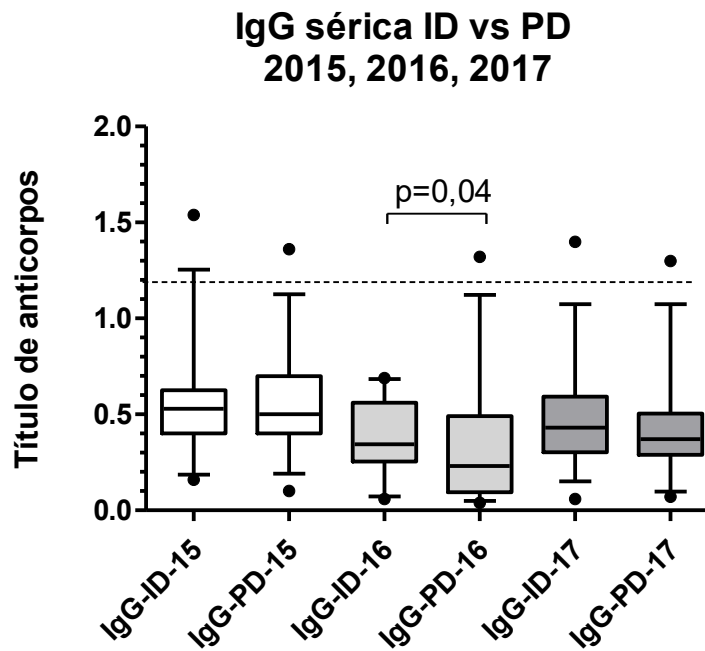
A seguir, foram comparados os níveis de cada isotipo anti-PGL-1, levando em consideração a classificação do tipo de contato, intradomiciliar (ID) e peridomiciliar (PD), por ano. Os contatos ID apresentaram níveis mais elevados de anticorpos séricos do que os contatos PD para todos os isotipos. Essa diferença foi considerada estatisticamente significativa nos anos de 2016 (teste de Mann-Whitney, $p=0,04$) e 2017 ($p=0,01$) para IgM anti-PGL-1 (Gráfico 9); no ano de 2016 para IgG anti-PGL-1 ($p=0,04$) (Gráfico 10) e para IgA anti-PGL-1 ($p=0,03$) (Gráfico 11).

Gráfico 9 – Níveis de IgM sérica anti-PGL-1 de acordo com o tipo de contato, nos anos de 2015, 2016 e 2017.



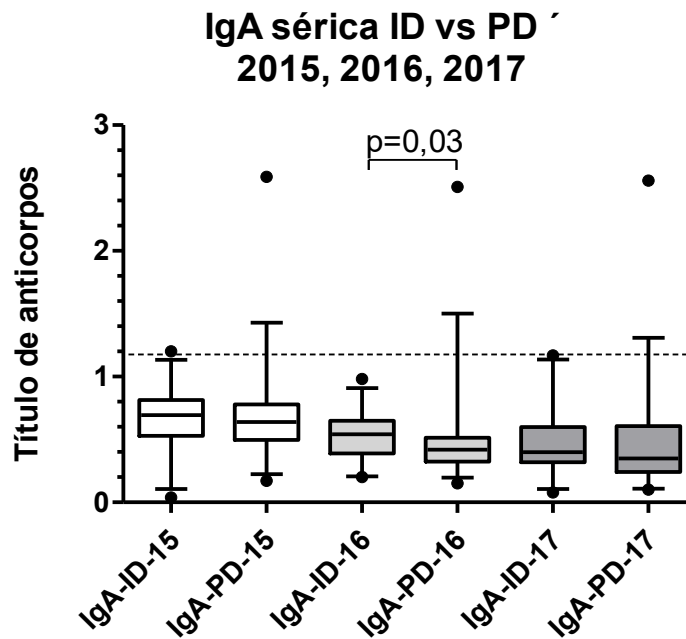
ID=contato intradomiciliar; PD=contato peridomiciliar

Gráfico 10 – Níveis de IgG sérica anti-PGL-1 de acordo com o tipo de contato, nos anos de 2015, 2016 e 2017.



ID=contato intradomiciliar; PD=contato peridomiciliar

Gráfico 11 – Níveis de IgA sérica anti-PGL-1 de acordo com o tipo de contato, nos anos de 2015, 2016 e 2017.



ID=contato intradomiciliar; PD=contato peridomiciliar

A tabela 2 mostra quantos participantes apresentaram soropositividade para IgM, IgG e IgA anti-PGL-1, de acordo com a classificação do caso de contato, por ano, sendo a porcentagem em relação ao n de cada grupo (25 contatos PB e 42 contatos MB). Verifica-se que a maior taxa de positividade observada estava relacionada com o isotipo IgM, independentemente da classificação operacional dos casos índices.

Tabela 2 – Percentual de contatos soropositivos para anti-PGL-1.

Ano	isotipo	Classificação do caso do contato	N	Resultado	
				Positivos	%
2015	IgM	PB	25	11	44,0
2016		PB	25	14	56,0
2017		PB	25	15	60,0
2015	IgG	PB	25	1	4,0
2016		PB	25	1	4,0
2017		PB	25	3	12,0
2015	IgA	PB	25	1	4,0
2016		PB	25	1	4,0
2017		PB	25	3	12,0
2015	IgM	MB	42	16	38,1
2016		MB	42	13	30,9
2017		MB	42	15	35,7
2015	IgG	MB	42	1	2,4
2016		MB	42	0	0,0
2017		MB	42	0	0,0
2015	IgA	MB	42	2	4,8
2016		MB	42	1	2,4
2017		MB	42	1	2,4

A figura 7 mostra quantos participantes estavam com lesões de pele suspeitas de hanseníase (n = 23) e quantos não estavam (n = 45) em 2017 e o percentual de positividade entre eles para cada isotipo durante os três anos, sendo que um contato não foi avaliado quanto as lesões. Pode se observar que com relação ao isotipo IgM, não há grande variação de porcentagem de soropositividade com relação à presença ou ausência de lesões. Observa-se que há uma elevada frequência de soropositividade mesmo na ausência de lesões (40 a 46%). Com relação ao isotipo IgA, observa-se uma baixa frequência de positividade na ausência de lesões, bem como na presença das mesmas. Com relação ao isotipo IgG, observa-se também uma baixa frequência de positividade na presença de lesões. Em 2016 e 2017, na ausência de lesões não há soropositividade, no entanto, no ano de 2017, embora a presença de lesões e

soropositividade de IgG tenha sido baixa, a análise estatística através do teste de Fisher mostrou significância estatística ($p=0,035$), sendo que o risco relativo de o indivíduo apresentar soropositividade para IgG anti-PGL-1 e presença de lesões foi de 3,25, com intervalo de confiança 95% de 2,26 a 4,68.

Figura 7 – Percentual de contatos soropositivos e soronegativos para anti-PGL-1 entre os grupos com e sem lesões suspeitas.

a) IgM anti-PGL-1

Ano	Com lesões (n=23)				Sem lesões (n=45)				Teste de Fisher p	Risco Relativo (IC ₉₅)
	IgM anti-PGL-1				IgM anti-PGL-1					
	positivo		negativo		positivo		negativo			
n	%	n	%	N	%	n	%			
2015	6	26,1	17	73,9	21	46,7	24	53,3	0,12	n.d.
2016	10	43,5	13	56,5	18	40,0	27	60,0	0,60	n.d.
2017	10	43,5	13	56,5	21	46,7	24	53,3	1,0	n.d.

n.d.= não determinado

b) IgG anti-PGL-1

Ano	Com lesões (n=23)				Sem lesões (n=45)				Teste de Fisher p	Risco Relativo (IC ₉₅)
	IgG anti-PGL-1				IgG anti-PGL-1					
	positivo		negativo		positivo		negativo			
n	%	n	%	N	%	n	%			
2015	1	4,3	22	95,7	1	2,2	44	97,8	1,0	n.d.
2016	1	4,3	22	95,7	0	0,0	45	100,0	0,34	n.d.
2017	3	13,0	20	87,0	0	0,0	45	100,0	0,035*	3,25 (2,26 -4,68)

IC₉₅= Intervalo de confiança de 95%; * $p<0.05$; n.d.= não determinado

c) IgA anti-PGL-1

Ano	Com lesões (n=23)				Sem lesões (n=45)				Teste de Fisher p	Risco Relativo (IC ₉₅)
	IgA anti-PGL-1				IgA anti-PGL-1					
	positivo		negativo		positivo		negativo			
n	%	n	%	N	%	n	%			
2015	2	8,6	21	91,4	2	4,4	43	95,6	0,599	n.d.
2016	2	8,6	21	91,4	0	0,0	45	100,0	0,11	n.d.
2017	2	8,6	21	91,4	3	6,6	42	93,4	1,0	n.d.

n.d.= não determinado

Em 2017, os contatos que apresentavam lesões suspeitas foram avaliados por uma dermatologista. Foram diagnosticados 8 casos de hanseníase entre os 69 participantes (11,6%). Um deles foi diagnosticado com a forma virchowiana, 1 com a forma dimorfa, 6 com a forma indeterminada. Quanto ao tipo de proximidade com o caso índice, quatro eram contatos intradomiciliares e quatro eram contatos peridomiciliares. Quanto a classificação operacional do caso índice, 2 eram contatos MB e 6 eram contatos PB. Cinco dos oito contatos diagnosticados com hanseníase (62,5%) apresentaram soropositividade para anti-PGL-1. Um dos contatos, #4 começou com sorologia positiva apenas para IgA em 2015; em seguida, apresentou sorologia positiva também para IgG em 2016. Em 2017, apresentou positividade para os três isotipos (Tabela 3). No último ano (2017) foi diagnosticado com a forma indeterminada da doença.

Tabela 3 – Perfil sorológico dos contatos, cujo diagnóstico de hanseníase foi realizado em 2017.

ID	Idade	Tipo de contato	Forma do caso índice	Lesões de pele	Forma diagnosticada	Ano	Sorologia		
							IgM	IgG	IgA
#1	11	ID	MB	4	HV	2015	0,70	0,40	0,71
						2016	4,48	0,19	0,64
						2017	4,43	0,44	0,35
#2	7	ID	PB	1	HI	2015	0,86	0,60	0,82
						2016	1,38	0,50	0,56
						2017	1,07	0,38	1,17
#3	9	PD	PB	1	HI	2015	0,69	0,50	0,74
						2016	0,87	0,54	0,40
						2017	0,89	1,05	0,93
#4	7	PD	PB	1	HI	2015	0,66	0,43	2,59
						2016	0,85	1,32	2,51
						2017	1,70	1,30	2,56
#5	9	PD	PB	2	HI	2015	1,05	0,70	1,00
						2016	0,63	0,09	0,36
						2017	1,30	0,40	0,67
#6	14	ID	PB	2	HD	2015	0,65	1,04	0,14
						2016	1,31	0,63	0,21
						2017	1,00	1,40	0,37
#7	10	ID	PB		HI	2015	0,80	0,50	0,33
						2016	0,83	0,08	0,61
						2017	0,70	0,20	0,17
#8	4	PD	MB	2	HI	2015	1,00	0,55	0,50
						2016	0,73	0,42	0,26
						2017	0,84	0,31	0,34

A figura 8 apresenta o desempenho dos testes sorológicos no diagnóstico da hanseníase. Como se pode observar, IgG anti-PGL-1 foi considerado o melhor marcador, visto que através do teste de Fisher, o risco relativo de sua presença e o indivíduo apresentar a doença foi de 8,5 (IC₉₅= 4,0 – 18,0). Os demais parâmetros de validação para o referido teste foram: sensibilidade diagnóstica: 25,0% (3,2 – 65,0%); especificidade diagnóstica: 100,0% (92,1 -100,0%); valor preditivo positivo: 100,0% (15,8 – 100,0%); valor preditivo negativo: 88,2% (76,1 – 95,6%). Não houve associação significativa entre o isotipo IgM e a doença (Teste de Fisher: p = 0,46), tampouco entre IgA e a doença (Teste de Fisher: p = 0,15).

Figura 8 – Parâmetros de validação dos testes sorológicos anti-PGL-1 e risco relativo em crianças e jovens, contatos ID e PD no município de Santana do Ipanema, AL, que foram no final do estudo de seguimento (2015-2017) diagnosticados com hanseníase.

IgG anti-PGL-1	Hanseníase	Ausência de hanseníase
soropositivo	2	0
soronegativo	6	45
Total	8	45

Teste de Fisher: p=0,02*; risco relativo:8,5 (IC₉₅= 4,0 – 18,0), *p<0,05
 Sensibilidade Diagnóstica: 25,0% (3,2 – 65,0%)
 Especificidade Diagnóstica: 100,0% (92,1 -100,0%)
 Valor Preditivo Positivo: 100,0% (15,8 – 100,0%)
 Valor Preditivo Negativo: 88,2% (76,1 – 95,6%)

IgA anti-PGL-1	Hanseníase	Ausência de hanseníase
soropositivo	2	3
soronegativo	6	42
Total	8	45

Teste de Fisher: p = 0,15

IgM anti-PGL-1	Hanseníase	Ausência de hanseníase
soropositivo	5	21
soronegativo	3	24
Total	8	45

Teste de Fisher: p = 0,46

6 DISCUSSÃO

O título de anticorpos IgM anti-PGL-1 está diretamente correlacionado com o índice bacilar, e que títulos muito altos para PGL-1 e certos antígenos proteicos, como o LID-1, indicam maior risco de desenvolver a doença hanseníase. O principal desafio é descobrir quais biomarcadores de infecção servem como os melhores preditores de quem irá sucumbir à doença (BARRETO *et al.*, 2014).

Em áreas endêmicas de hanseníase, testes laboratoriais, sensíveis e específicos, de diagnóstico seriam bastante úteis para detectar indivíduos doentes em estágios iniciais da doença, uma vez que em pacientes com hanseníase, a presença de anticorpos IgM circulantes, além da carga bacteriana, está correlacionada também com o espectro clínico da doença (LOBATO *et al.*, 2011). Nas análises dos níveis de anti-PGL-1, foi observado uma alta ocorrência de índices positivos para IgM anti-PGL-1 nos contatos, tanto de PB quanto de MB, refletindo a necessidade de maior vigilância e seguimento dos mesmos.

Cabral *et al* (2013) demonstraram a presença de IgG anti-PGL-1 em casos e contatos de hanseníase, sugerindo a sua utilização no seguimento dos contatos, assim como Chujor *et al* (1991) sugeriram a IgA como um biomarcador para a detecção precoce da doença. Entretanto, nas análises poucos participantes apresentaram sorologia positiva para IgG e IgA e também foi observado uma queda dos títulos desses isotipos, tanto de contatos PB quanto de contatos MB.

Macedo *et al* (2017) demonstraram que podem haver correlações entre os níveis de IgM, IgG e IgA, anti-PGL-1, entre casos PB e entre casos MB, sendo que o coeficiente de correlação é mais constante entre os casos PB e variando mais entre os casos MB. No estudo, foi possível verificar entre os contatos de casos MB, correlações significativas entre IgM e IgG em 2015 e entre IgG e IgA em 2017.

Na transmissão da hanseníase, é possível observar que há um padrão, sendo este inicialmente descrito para a tuberculose, chamado de "princípio da pedra na lagoa", onde em volta de um paciente há círculos concêntricos de transmissão e não somente os contatos domiciliares de um caso de hanseníase têm um risco aumentado de infecção, mas também os vizinhos e os vizinhos desses vizinhos têm maior risco, quando comparado à população geral, com risco inversamente proporcional à distância (BAKKER *et al.*, 2004; BARRETO *et al.*, 2014). Desse modo, espera-se que haja maiores títulos de anticorpos nos contatos intradomiciliares do que nos contatos peridomiciliares. Os resultados obtidos na análise dos

níveis de anticorpos, considerando o tipo de contato, apresentaram comportamento de acordo com o esperado.

A soropositividade anti-PGL-1, sendo um marcador de infecção subclínica em indivíduos saudáveis, indica o risco de desenvolvimento da doença, onde um teste positivo para IgM anti-PGL-1 está associado a um risco de hanseníase 8,6 vezes maior em contatos ID, 4,4 vezes maior em contatos PD e, de modo geral, 2,7 vezes maior em indivíduos soropositivos do que em soronegativos (BARRETO *et al.*, 2015). No estudo em Santana do Ipanema, AL, foi verificado uma alta porcentagem de positividade para IgM anti-PGL-1 nos contatos, demonstrando a susceptibilidade deles de serem acometidos pela doença. Por outro lado, questiona-se o fato de um grande número de contatos estarem soropositivos para esse isotipo, mesmo na ausência de lesões, fato esse já observado no presente trabalho.

O diagnóstico da hanseníase é realizado principalmente pelo exame dermatoneurológico, por meio do achado de lesões de pele com alteração de sensibilidade, sendo que, às vezes, a manifestação da doença pode ocorrer somente por lesões em nervos periféricos, sem lesão cutânea, sendo conhecida como neural pura. Todavia, esses sinais clínicos podem ser escassos inicialmente, podendo levar a um diagnóstico tardio e até mesmo equivocado (SAMPAIO, 2011).

Entre os contatos avaliados, nota-se que número de indivíduos do grupo sem lesões suspeitas, 45, foi quase o dobro do número de indivíduos do grupo com lesões suspeitas, 23. Contudo, apesar de apenas uma parte dos contatos apresentarem lesões suspeitas, em ambos os grupos houveram resultados positivos para anti-PGL-1, principalmente para IgM, confirmando a infecção subclínica nos indivíduos do grupo sem lesões suspeitas. Além disso, dentre os 8 casos diagnosticados, mais da metade, 5, apresentaram sorologia positiva, sendo novamente a IgM anti-PGL-1 o isotipo mais predominante nas dosagens, pois todos os cinco casos foram soropositivos para ele. Entretanto, quando os dados foram submetidos à análise estatística, observou-se que o isotipo IgG foi o melhor marcador, pois sua presença estava associada com a presença de lesões (risco relativo de 3,25), e ainda de forma mais surpreendente, foi o seu desempenho entre os casos de hanseníase diagnosticados entre os contatos, pois foi mostrado uma associação extremamente elevada entre a soropositividade de IgG anti-PGL-1 e hanseníase (risco relativo de 8,5). Estes dados definitivamente comprovam que há absoluta necessidade de se avaliar o isotipo IgG anti-PGL-1, quando se realiza seguimento de contatos, além dos demais isotipos, IgA e IgM, uma vez que, embora sua positividade seja baixa, quando ele está presente, deve-

se examinar cuidadosamente a criança ou jovem porque realmente podemos estar diante de um caso de hanseníase.

7 CONCLUSÕES

1. A IgM anti-PGL-1 foi isotipo de maior ocorrência soropositiva entre os contatos, independentemente da classificação operacional do caso índice e da presença ou ausência de lesões suspeitas nos mesmos, sendo observado um decréscimo, de modo geral, dos títulos dos três isotipos nas dosagens anuais.
2. Foram verificadas correlações significativas entre IgM e IgA anti-PGL-1 nos contatos PB em 2016 e nos contatos MB, entre IgM e IgG em 2015 e entre IgG e IgA em 2017.
3. Os contatos intradomiciliares apresentaram títulos de anticorpos mais altos que os contatos peridomiciliares, principalmente em 2016 para os três isotipos e em 2017 para IgM anti-PGL-1.
4. Dentre os 8 casos diagnosticados, 5 casos (62,5%) apresentaram sorologia positiva para anti-PGL-1, sendo todos eles soropositivos para IgM e um caso positivou para os três isotipos no decorrer dos três anos.
5. IgG anti-PGL-1 foi considerado o melhor marcador, visto que através do teste de Fisher, o risco relativo de sua presença e o indivíduo apresentar a doença foi de 8,5 (IC₉₅= 4,0 – 18,0). Apesar de uma baixa sensibilidade diagnóstica, o teste apresentou 100% de especificidade diagnóstica. Tais parâmetros influenciaram os valores preditivos negativo e positivo, respectivamente. Não houve associação significativa entre o isotipo IgM e a presença de hanseníase, tampouco para o isotipo IgA.

REFERÊNCIAS

ALAGOAS. Secretaria de Estado da Saúde de Alagoas. Indicadores. **Relatórios da Análise da Situação de Saúde 2017**. Disponível em: <<http://www.saude.al.gov.br/indicadores/>>. Acesso em: 24 jun. 2018.

ALENCAR, C. H. M. *et al.* Diagnóstico da hanseníase fora do município de residência: uma abordagem espacial, 2001 a 2009. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.28, n.9, p.1685-1698, set. 2012.

ALVES, A. R. **Deteção de anticorpos séricos e salivares anti-antígeno glicofenólico de *Mycobacterium leprae* em residentes de localidades do município de Itaitinga, CE**. 2014. 78f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

ALVES, E. D.; FERREIRA, T.L.; FERREIRA, I. N. **Hanseníase: Avanços e Desafios**. 1. ed. Brasília: Editora Coronário, 2014.

BAKKER, M. *et al.* Population survey to determine risk factors for *Mycobacterium leprae* transmission and infection. **International Journal of Epidemiology**, v.33, n.6, p.1329-1336, dez. 2004.

BARRETO, J. G. *et al.* Spatial Analysis Spotlighting Early Childhood Leprosy Transmission in a Hyperendemic Municipality of the Brazilian Amazon Region. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, Oxford, v.8, n.2, fev. 2014.

BARRETO, J. G. *et al.* Spatial epidemiology and serologic cohorts increase the early detection of leprosy. **BMC Infectious Diseases**, London, v.15, n.254, nov. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico Hanseníase: Caracterização da situação epidemiológica da hanseníase e diferenças por sexo, Brasil, 2012-2016**. Brasília, v.49, n.4, 2018a.

BRASIL. Departamento de Informática do SUS. Acesso à informação. Informações de Saúde (TABNET). **Epidemiológicas e Morbidade: Casos de Hanseníase (SINAN)**. 2018. Disponível em: <<http://datasus.saude.gov.br/informacoes-de-saude/tabnet/epidemiologicas-e-morbidade>>. Acesso em 20 jul. 2018b.

BRASIL. Sala de Apoio à Gestão Estratégica. **Indicadores de Morbidade: Hanseníase**. 2018. Disponível em: <<http://sage.saude.gov.br/#>>. Acesso em: 24 jun. 2018c.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia Prático Sobre a Hanseníase**. 1. ed. Brasília, 2017a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde**. 1. ed. v. 2. Brasília, 2017b.

CABRAL, P. B. *et al.* Anti-PGL-1 salivary IgA/IgM, serum IgG/IgM, and nasal *Mycobacterium leprae* DNA in individuals with household contact with leprosy. **International Journal of Infectious Disease**, v.17, n.11, p.1005-1010, mai. 2013.

CHUJOR, C.S. *et al.* Serum IgA1 and IgM antibodies against *Mycobacterium leprae*-derived phenolic glycolipid-I: a comparative study in leprosy patients and their contacts. **International Journal of Leprosy and other Mycobacterial Diseases**, Amsterdam, v.59, n.3, p.441-449, set. 1991.

CUNHA, M. H. C. M. **Perfil de anticorpos anti-PGL-1 em indivíduos sadios de áreas endêmicas em hanseníase do estado do Pará, método ELISA**. 2012. 102f. Tese de Doutorado – Universidade Federal do Pará, Belém, 2012.

DUTHIE, M. S. *et al.* A rapid ELISA for the diagnosis of MB leprosy based on complementary detection of antibodies against a novel protein-glycolipid conjugate. **Journal of Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, New York, v.79, n.2, p.233-239, fev. 2014.

EIDT, L. M. Breve história da hanseníase: sua expansão do mundo para as Américas, o Brasil e o Rio Grande do Sul e sua trajetória na saúde pública brasileira. **Revista Saúde e Sociedade**, São Paulo, v.13, n.2, p.76-88, mai./ago. 2004.

FEENSTRA, S. G. *et al.* Social contact patterns and leprosy disease: a case-control study in Bangladesh. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v.141, n.3, p.573–581, mai. 2012.

FONSECA, A. B. L. *et al.* The influence of innate and adaptative immune responses on the differential clinical outcomes of leprosy. **Journal of Infectious Diseases of Poverty**, v.6, n.5, China, fev. 2017.

HOOIJ, A. V. *et al.* Field-friendly serological tests for determination of *M. leprae*-specific antibodies. **International Journal of Science Nature**, v.7, n.8868, United Kingdom, ago. 2017.

KLASTER, P. R.; CHO, S.N.; BRENNAN, P.J. The contribution of serological tests to leprosy control. **International Journal of Leprosy and other Mycobacterial Diseases**, Amsterdam, v.64, n.4, p.63-66, dez. 1996.

LOBATO, J. *et al.* Comparison of three immunological tests for leprosy diagnosis and detection of subclinical infection. **Leprosy Review**, Colchester, v.82, n.4, p.389-401, set. 2011.

MACEDO, A. C. *et al.* Serum anti-phenolic glycolipid-1 IgA correlates to IgM isotype in leprosy patients: a possible candidate for seroepidemiological surveys? **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, New Jersey, v.32, n.3, jun.2017.

MENDONÇA, V. A. *et al.* Imunologia da hanseníase. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.83, n.4, p.343-350, jul./ago. 2008.

MILLER, R. A.; GORDER, D.; HARNISCH, J. P. Antibodies to phenolic glycolipid-I during long-term therapy: serial measurements in individual patients. **International Journal of Leprosy and other Mycobacterial Diseases**, Amsterdam, v.55, n.4, p.633-636, dez. 1987.

MOURA, S, L. *et al.* Sorologia da hanseníase utilizando PGL-I: revisão sistemática. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.41, n.2, p.11-18, 2008.

NOBRE, M. L. **Estratégias para bloquear a transmissão da hanseníase em município hiperendêmico – Mossoró/RN**. 2016. 255f. Tese de Doutorado – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Estratégia Global para Hanseníase 2016-2020: Aceleração rumo a um mundo sem hanseníase**. Genebra, 2016.

RICHARDUS, R. A. *et al.* Longitudinal assessment of anti-PGL-1 serology in contacts of leprosy patients in Bangladesh. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v.11, n.12, dez. 2017.

SALGADO, C.G. *et al.* What do we actually know about leprosy worldwide? **The Lancet Infectious Diseases**, v.16, n.7, p.778, jul. 2016.

SAMPAIO, L. H. F. **Avaliação da resposta imune celular a antígenos recombinantes do *Mycobacterium leprae* e potencial aplicação para o diagnóstico da hanseníase paucibacilar**. 2011. 125f. Tese de Doutorado – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

SÉKULA, S.B. Sorologia PGL-I na hanseníase. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.41, n.2, p.2-5, 2008.

SENA, R. F. **Incidência, diagnóstico e tratamento da hanseníase: Uma revisão geral**. 2014. 51f. Trabalho de Conclusão de Curso – Centro Universitário Luterano de Palmas, Palmas, 2014.

SPENCER, J. S.; BRENNAN, P. J. The Role of *Mycobacterium leprae* Phenolic Glycolipid I (PGL-I) in Serodiagnosis and in the Pathogenesis of Leprosy. **Leprosy Review**, Colchester, v.82, n.2, p.344-357, set. 2011.

STEFANI, M. M. A. *et al.* Comparison of two rapid tests for anti-phenolic glycolipid-I serology in Brazil and Nepal. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.107, n.01, p.124-131, ago.2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Department of Control of Neglected Tropical Diseases. **Global leprosy update, 2017: Reducing the disease burden due to leprosy**. Genebra, v.93, n.35, p. 445-456, ago. 2018a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Health topics: Leprosy**. 2018. Disponível em: <<http://www.who.int/lep/en/>>. Acesso em: 17 jun. 2018b.

ANEXO A – PARECER DO CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPESQ

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Detecção precoce de casos de hanseníase entre jovens abaixo de 15 anos de idade residentes em municípios de Alagoas e Itaitinga, CE.

Pesquisador: Aparecida Tiemi Nagao Dias

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 11709213.9.0000.5054

Instituição Proponente: Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 532.850

Data da Relatoria: 18/02/2014

Apresentação do Projeto:

o presente projeto visa realizar um estudo prospectivo a partir de contatos abaixo de 15 anos de idade, durante dois anos a partir do ingresso no projeto, com objetivo de se associar os parâmetros imunológicos e/ou moleculares com o risco de desenvolvimento da doença. A escolha dos municípios foi feita com base em apoio técnico e logístico oferecido pelos serviços de saúde locais.

Objetivo da Pesquisa:

Geral: Avaliar o risco de aquisição da doença entre contatos de portadores de hanseníase abaixo de 15 anos de idade através de parâmetros clínicos, imunológicos e moleculares diagnosticados nos últimos três anos em municípios de Alagoas e em Itaitinga, CE.

Específicos: Avaliar o perfil clínico e demográfico dos casos de hanseníase nos municípios diagnosticados nos últimos três anos nos municípios; Realizar exame dermatoneurológico nos contatos intradomiciliares abaixo de 15 anos de idade dos casos identificados; Avaliar a frequência de positividade de anticorpos séricos IgA, IgG e IgM anti-PGL1 entre os contatos e casos índices; Avaliar a frequência de positividade de anticorpos salivares IgA e IgM anti-PGL1 entre os contatos e casos índices; Avaliar a frequência de positividade de DNA de Mycobacterium leprae em amostras de swab nasal e de sangue dos contatos e casos índices; Avaliar a presença de

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-270

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

Fax: (85)3223-2903

E-mail: comepe@ufc.br

Continuação do Parecer: 532.850

positividade para *M. lepromatosis* nas amostras positivas de PCR; Realizar seguimento clinico-laboratorial anual dos contatos durante dois anos; Associar os parâmetros laboratoriais com o desenvolvimento da doença.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Risco: desconforto das coletas de sangue da mucosa nasal.

Benefício: Os testes realizados poderão avaliar o risco de aquisição da doença entre os contatos de portadores de hanseníase.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo prospectivo de coorte em um período de seguimento de dois anos após o ingresso no estudo com contatos de portadores de hanseníase com as formas clínicas paucibacilar ou multibacilar abaixo de 15 anos de idade notificados nos últimos três anos, cujos responsáveis consentam em que participem do estudo. Foram selecionados os municípios onde as equipes estarão devidamente capacitadas para realizar exames dermatoneurológico (com objetivo de se realizar busca ativa de hanseníase entre os contatos intradomiciliares abaixo de 15 anos de idade). Dentro desses critérios, foram eleitas quatro cidades em Alagoas, ou seja, Rio Largo, Santana de Ipanema, Arapiraca, onde o grau de endemicidade é considerado alto ou hiperendêmico e uma cidade no Ceará, Itaitinga (hiperendêmico).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados adequadamente: carta de encaminhamento, folha de rosto, currículo do pesquisador, anuência dos pesquisadores, cronograma, orçamento, anuência dos municípios, refer O TCLE e termo de assentimento.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não se aplica.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não.

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-270

UF: CE **Município:** FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

Fax: (85)3223-2903

E-mail: comepe@ufc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPEAQ



Continuação do Parecer: 532.850

FORTALEZA, 18 de Fevereiro de 2014

Assinador por:
FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA
(Coordenador)

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127
Bairro: Rodolfo Teófilo **CEP:** 60.430-270
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8344 **Fax:** (85)3223-2903 **E-mail:** comepe@ufc.br

ANEXO B – TCLE



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
 FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
 DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
 FACULDADE DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, _____, aceito que _____, sob minha responsabilidade, participe da pesquisa **Associação de parâmetros imunológicos e moleculares em sangue e secreções para detecção precoce de casos de hanseníase entre contatos abaixo de 15 anos de idade residentes em municípios de Alagoas e Itaitinga, CE**, sobre análise de anticorpos no sangue e na saliva contra a bactéria causadora da hanseníase e verificar se ela está presente nas narinas e no sangue. Esta análise será realizada uma vez por ano durante 3 anos. Este estudo é importante para quem mora com uma pessoa que tem hanseníase e vai ser importante para ver se ele (a) tem risco de desenvolver a doença. Aceito também responder a um questionário relacionado a ele (a), nossos familiares e ao paciente com quem moramos. Estou de acordo que no momento da coleta, ele (a) seja examinado (a) para se verificar se não tem nenhuma mancha suspeita. Serão coletados saliva (1 mL), sangue (2 tubos com 3 mL cada), e uma amostra das mucosas das narinas. A amostra das narinas será coletada com um cotonete e ele (a) poderá sentir um leve desconforto no momento da coleta. Na coleta de sangue, ele (a) poderá sentir uma leve dor por causa da picada da agulha. Todos os procedimentos serão realizados por pessoas capacitadas.

Caso algum resultado esteja alterado, ele (a) será encaminhado (a) para o posto de saúde.

I. Quais os benefícios e riscos que terei se eu aceitar que ele (a) participe do estudo?

Como benefício, ele (a) terá oportunidade de ser acompanhado (a) durante 3 anos clínica e laboratorialmente para avaliar se ele (a) adquiriu ou não a doença. Com isto, ele (a) poderá ajudar outras pessoas que se encontram nas mesmas condições do que ele (a). Durante o estudo, iremos provar se os testes laboratoriais ajudam ou não a detectar precocemente a doença.

Riscos da realização dos testes: Não há riscos, apenas o desconforto na hora da coleta do material.

II. Quando ele (a) não pode participar do estudo?

Não há contra-indicações para ele (a) participar do estudo

Nós, pesquisadores, garantimos que:

- ❖ Os resultados obtidos durante este estudo serão divulgados sob a forma de relatórios, resumos, publicações científicas e o grupo de pesquisa não divulgará a identidade dos participantes.
- ❖ Os dados dos participantes serão mantidos sob sigilo. No final da pesquisa ou mesmo durante a pesquisa, caso seja necessário, os participantes poderão ter acesso aos resultados individuais.
- ❖ É garantida a liberdade da retirada do consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento à Instituição.
- ❖ É garantido o direito de se manter atualizado sobre resultados parciais da pesquisa, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam de conhecimento dos pesquisadores.

❖ Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames laboratoriais. Não há compensação financeira relacionada à sua participação.

❖ Você é livre para decidir se participará ou não. Se você não quiser participar não vai ter nenhum problema e você continuará seu acompanhamento na sua Unidade de Saúde do mesmo modo. Se você aceitar participar, você poderá voltar atrás e desistir de realizar as coletas das amostras sequenciais a qualquer momento.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim sobre o estudo acima. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

COM QUEM DEVO FALAR SE EU TIVER DÚVIDAS?

Caso tenha perguntas ou dúvidas gerais sobre esta pesquisa ou quaisquer queixas relacionadas à pesquisa, você poderá falar com a coordenadora do projeto (Profª Aparecida Tiemi Nagao-Dias, telefone 85-3366.8270 ou 85-86733891, Universidade Federal do Ceará – Rua Capitão Francisco Pedro, 1210) ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC através do telefone 85-3366.8344.

Cidade		Data da assinatura do termo	
Nome do responsável			

		Impressão digital do responsável
Assinatura da pessoa que aplicou o termo	Assinatura de aceitação do responsável	

ANEXO C – TERMO DE ASSENTIMENTO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
 FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLÓGIA E ENFERMAGEM
 DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
 FACULDADE DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA



Termo de Assentimento para Sujeitos de 08 a 15 anos de idade completos

Título do estudo: Associação de parâmetros imunológicos e moleculares em sangue e secreções para detecção precoce de casos de hanseníase entre contatos abaixo de 15 anos de idade residentes em municípios de Alagoas e Itaitinga, CE.

Eu, _____, aceito participar da pesquisa sobre análise de anticorpos no sangue e na saliva contra a bactéria causadora da hanseníase e verificar se ela está presente nas narinas e no sangue. Esta análise será realizada uma vez por ano durante 3 anos. Este estudo é importante para quem mora com uma pessoa que tem hanseníase e vai ser importante para ver se tenho risco de desenvolver a doença. Meus responsáveis já estão informados sobre o conteúdo da pesquisa. Aceito também responder a um questionário relacionado a mim, meus familiares e ao paciente com quem moro. Estou de acordo que no momento da coleta, eu seja examinado para se verificar se não tenho nenhuma mancha suspeita. Serão coletados saliva (1 mL), sangue (2 tubos com 3 mL cada), e uma amostra das mucosas das narinas. A amostra das narinas será coletada com um cotonete e poderei sentir um leve desconforto no momento da coleta. Na coleta de sangue, poderei sentir uma leve dor por causa da picada da agulha. Todos os procedimentos serão realizados por pessoas capacitadas.

Caso algum resultado esteja alterado, você será encaminhado para o posto de saúde.

I. Quais os benefícios e riscos que terei se eu aceitar participar do estudo?

Como benefício, você terá oportunidade de ser acompanhado durante 3 anos clínica e laboratorialmente para avaliar se você adquiriu ou não a doença. Com isto, você poderá ajudar outras pessoas que se encontram nas mesmas condições do que você. Durante o estudo, iremos provar se os testes laboratoriais ajudam ou não a detectar precocemente a doença.

Riscos da realização dos testes: Não há riscos, apenas o desconforto na hora da coleta do material.

II. Quando não posso participar do estudo?

Não há contra-indicações para você participar do estudo

Nós, pesquisadores, garantimos que:

- ❖ Os resultados obtidos durante este estudo serão divulgados sob a forma de relatórios, resumos, publicações científicas e o grupo de pesquisa não divulgará a identidade dos participantes.
- ❖ Os dados dos participantes serão mantidos sob sigilo. No final da pesquisa ou mesmo durante a pesquisa, caso seja necessário, os participantes poderão ter acesso aos resultados individuais.
- ❖ É garantida a liberdade da retirada do consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento à Instituição.
- ❖ É garantido o direito de se manter atualizado sobre resultados parciais da pesquisa, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam de conhecimento dos pesquisadores.

❖ Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames laboratoriais. Não há compensação financeira relacionada à sua participação.

❖ Você é livre para decidir se participará ou não. Se você não quiser participar não vai ter nenhum problema e você continuará seu acompanhamento na sua Unidade de Saúde do mesmo modo. Se você aceitar participar, você poderá voltar atrás e desistir de realizar as coletas das amostras sequenciais a qualquer momento.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim sobre o estudo acima. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

COM QUEM DEVO FALAR SE EU TIVER DÚVIDAS?

Caso tenha perguntas ou dúvidas gerais sobre esta pesquisa ou quaisquer queixas relacionadas à pesquisa, você poderá falar com a coordenadora do projeto (Profª Aparecida Tiemi Nagao-Dias, telefone 85-3366.8270 ou 85-86733891, Universidade Federal do Ceará – Rua Capitão Francisco Pedro, 1210) ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC através do telefone 85-3366.8344.

Cidade		Data do preenchimento	
Nome do participante			

	Impressão digital do participante
Assinatura de aceitação do participante	

	Impressão digital do responsável
Assinatura da pessoa que aplicou o termo	Assinatura de aceitação do responsável