

Desempenho dos antígenos PGL-I, LID-1 e NDO-LID para diagnóstico sorológico de hanseníase em pacientes e contatos domiciliares: revisão de literatura

Performance of PGL-I, LID-I and NDO-LID antigens for leprosy serological diagnosis in patients and household contacts: a review of the literature

Giovana M. Bovolini¹

Eliane A. Silva²

Vânia Nieto Brito de Souza³

RESUMO

A hanseníase afeta os nervos periféricos e a pele levando a ocorrência de incapacidades na ausência de tratamento específico oportuno. Portanto, parâmetros sorológicos são necessários para intervenções terapêuticas precoces. A detecção de anticorpos contra o glicolípido fenólico I (PGL-I) é amplamente empregada no diagnóstico e classificação clínica, enquanto a proteína Leprosy IDRI Diagnostic (LID)-1 foi desenhada com a intenção de melhorar o diagnóstico de pacientes paucibacilares. Posteriormente, este antígeno foi conjugado com o natural dissacarídeo ligado ao radical ocil (ND-O) do PGL-I, originando o NDO-LID, para aumentar sua sensibilidade. Nesta revisão, avaliamos 16 estudos, comparando a performance desses três antígenos (PGL-I, LID-1 e NDO-LID) para diagnóstico da hanseníase e avaliação de contatos domiciliares. Verificamos grande variação quanto às populações envolvidas, tamanho

Bovolini GM, Silva EA, Souza VNB. Desempenho dos antígenos PGL-1, LID-1 e NDO-LID para diagnóstico sorológico de hanseníase em pacientes e contatos domiciliares: revisão de literatura. *Hansen Int.* 2019;44:e-2368.

das amostras, classificação clínica dos pacientes e metodologia utilizada, dificultando a comparação. Entre os pacientes multibacilares, a positividade anti-PGL-I variou de 54,0 a 96,0%, enquanto para LID-1 foi de 47,4 a 94,8% e para NDO-LID apresentou níveis de 60,0 a 98,9%. Nos pacientes paucibacilares, a positividade variou de 6,4 a 52,9% quando PGL-I foi utilizado, 4,0 a 60% contra LID-1 e 16,0 a 63,6% frente ao NDO-LID. Para os contatos domiciliares, as respostas anti-PGL-I, LID-1 e NDO-LID foram 13,2%, 21,7% e 22,9%, respectivamente. O antígeno NDO-LID apresentou maior sensibilidade na maioria dos estudos refletindo

Trabalho submetido em 12/11/2020 e Aprovado em: 15/03/2021.

Instituição: Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru, São Paulo, Brasil..

1 <http://orcid.org/0000-0001-6523-6004>; e-mail: gibovolini@gmail.com

2 <http://orcid.org/0000-0001-6523-6004>; e-mail: esilva@iisl.br

3 <http://orcid.org/0000-0002-4963-769X>; e-mail: vbrito@iisl.br; Equipe de Imunologia, Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru, SP, Brasil.

Endereço para correspondência: Vânia Nieto Brito de Souza, Instituto Lauro de Souza Lima. Rod. Comte. João Ribeiro de Barros, Km 225/226, 17034-971 Bauru, SP, Brazil. Telefone: +55 14 3103-5943, E-mail: vbrito@iisl.br

seu potencial como ferramenta para o diagnóstico da hanseníase, principalmente em pacientes MB, entretanto, o reconhecimento desse antígeno por contatos domiciliares saudáveis reforça o valor da avaliação clínica para o diagnóstico da hanseníase.

Palavras-chave: hanseníase; diagnóstico; testes sorológicos.

ABSTRACT

Leprosy affects skin and peripheral nerves bringing several disabilities in absence of specific treatment. So that, effective diagnostic tools are required for early therapeutic interventions. Detection of antibodies against phenolic glycolipid I (PGL-I) is widely employed in the diagnosis and clinical classification while the leprosy IDRI diagnostic (LID-1) protein was designed to improve the diagnosis of paucibacillary patients. More recently, this synthetic antigen was conjugated with the natural octyl disaccharide (NDO) of PGL-I, originating the NDO-LID in order to increase its sensitivity. Here, we evaluate 16 studies, comparing the performance of these three antigens

(PGL-I, LID-1 and NDO-LID) for leprosy diagnosis and evaluation of the household contacts. We verified among the different studies high variation regarding to population involved, sample size, clinical classification of patients and methodology used, making difficult the comparison. Among multibacillary patients, anti-PGL-I positivity ranged from 54.0 to 96.0%, while for LID-1 it was between 47.4 to 94.8% and for NDO-LID presented levels from 60 to 98.9%. In paucibacillary patients, responsiveness ranged from 6.4 to 52.9% when PGL-I was used, 4.0 to 60% against LID-1 and 16.0 to 63.6% if NDO-LID was employed. For household contacts, the response anti-PGL-I, LID-1 and NDO-LID was 13.2%, 21.7% and 22.9%, respectively. NDO-LID antigen showed higher sensitivity in most studies reflecting its potential as tool for leprosy diagnosis, mainly of MB patients, however, the recognition of this antigen by healthy household contact reinforces the value of the clinical evaluation to leprosy diagnosis. Keywords: leprosy; diagnosis; serological tests.

INTRODUÇÃO

A hanseníase ainda é um importante problema de saúde pública nos países em desenvolvimento. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), foram registrados 208.619 novos casos em 2018, dos quais 16.013 eram crianças e 11.323 já apresentavam deformidades visíveis¹. Nervos periféricos e pele são os tecidos mais afetados pelo *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) resultando em lesões cutâneas com perda de sensibilidade².

Diferentes manifestações clínicas da hanseníase podem ocorrer de acordo com a resposta imune do hospedeiro contra o bacilo³. Na hanseníase tuberculóide, observa-se uma intensa resposta imune celular que controla a multiplicação bacilar resultando em poucas lesões bem delimitadas. Por outro lado, a hanseníase virchowiana é caracterizada pela presença de muitas lesões com alta carga bacilar, em decorrência da resposta predominantemente humoral com produção de anticorpos ineficazes contra o bacilo^{4,5}. Entre esses dois polos estáveis

está o grupo dimorfo, cujas manifestações são caracterizadas por instabilidade imunológica e baciloscopia positiva, mas menos intensa do que a observada na hanseníase virchowiana^{3,4}. Para simplificar o manejo da doença, a OMS recomendou uma classificação operacional simplificada para fins terapêuticos com base no número de lesões cutâneas. Assim, pacientes com até cinco lesões cutâneas são considerados paucibacilares (PB), enquanto os casos com mais de cinco lesões cutâneas são denominados multibacilares (MB)⁶.

O diagnóstico da hanseníase é essencialmente clínico e epidemiológico, dependendo dos sinais e sintomas característicos da doença⁷. No entanto, alguns exames laboratoriais complementares podem auxiliar no diagnóstico e classificação clínica, incluindo a baciloscopia do raspado intradérmico, análise histopatológica de lesões e testes sorológicos⁸.

Numerosos ensaios sorológicos têm sido desenvolvidos a fim de contribuir para o reconhecimento precoce da hanseníase, monitoramento da poliquimioterapia (PQT) e vigilância dos contatos domiciliares. Entre os mais importantes, estão aqueles baseados na detecção de anticorpos contra o glicolípido fenólico I (PGL-I), um antígeno específico do *M. leprae* descoberto no início dos anos 1980 por Hunter & Brennan⁹. Atualmente, a porção dissacarídica terminal do PGL-I (porção 3,6-di-O-metil- β -D-glucopiranosil) é a mais utilizada para investigar a presença de anticorpos IgM contra *M. leprae*, cujos títulos estão diretamente relacionados a carga bacilar dos pacientes¹⁰. Níveis elevados de anticorpos indicam hanseníase MB ativa ou tratada recentemente ou exposição recente e intensa ao *M. leprae*. Essa sorologia também é útil para o diagnóstico de hanseníase neural primária¹¹, mas não consegue detectar anticorpos na maioria dos pacientes PB¹².

Com o objetivo de melhorar o diagnóstico sorológico da hanseníase, em particular para pacientes PB, várias proteínas recombinantes foram testadas após a elucidação do genoma do *M. leprae*. As proteínas ML0405 e ML2331 apresentaram os melhores resultados para a detecção de anticorpos IgG em diferentes regiões endêmicas ao redor do mundo¹³. A partir desses dois antígenos, uma proteína de fusão chamada LID-1 (*Leprosy IDRI Diagnostic-1*) foi construída mantendo as características dos dois componentes primários¹⁴. A triagem de anticorpos anti-LID-1 foi sugerida como promissora; entretanto, sua atuação para o diagnóstico de pacientes PB e vigilância de contatos tem apresentado resultados controversos e sua superioridade em relação à detecção de anticorpos IgM anti-PGL-I ainda é discutida^{15,16}.

Posteriormente, alguns estudos apontaram resultados diferentes entre os testes sorológicos empregando o PGL-I e o LID-1, sugerindo que esses dois antígenos poderiam ser reconhecidos diferencialmente entre os pacientes. A partir daí, foi desenvolvido um complexo molecular a partir da conjugação do dissacarídeo sintético do PGL-I (octil dissacarídeo natural: ND-O) com a proteína de fusão LID-1, originando um novo antígeno, NDO-LID, que tem sido utilizado em ensaios imunoenzimáticos e imunocromatográficos^{17,18}. Ainda são poucos os estudos utilizando NDO-LID, mas os resultados sugerem um maior potencial para o diagnóstico de pacientes MB e PB.

O objetivo deste estudo foi comparar o desempenho dos antígenos PGL-I, LID-1 e NDO-LID no diagnóstico da hanseníase PB e MB e na avaliação de contatos domiciliares com risco de desenvolver a doença em diferentes populações por meio de revisão da literatura.

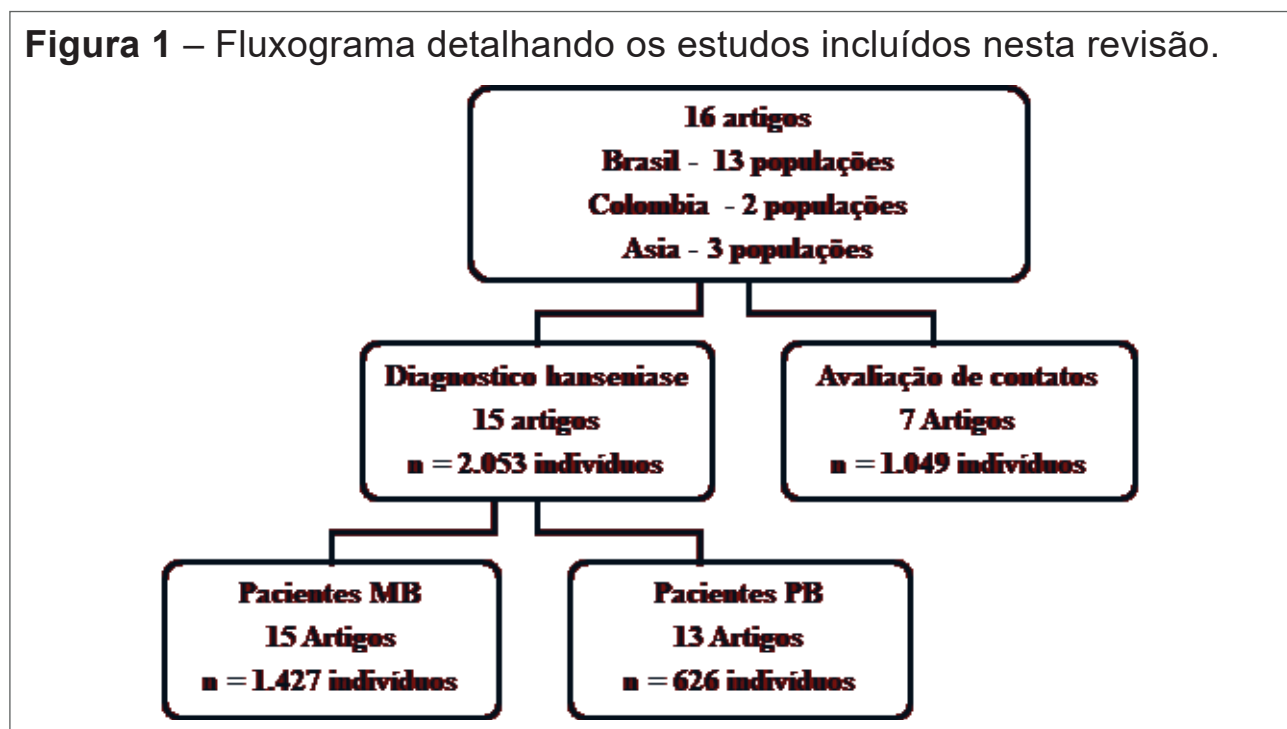
MATERIAIS E MÉTODOS

Dezesseis estudos comparando pelo menos dois desses antígenos, incluindo treze populações brasileiras, duas da Colômbia e três da Ásia, e um total de 2.053 pacientes com hanseníase e 1.049 contatos domiciliares foram encontrados na literatura de 2008 a 2019 (Figura 1). O PGL-I foi testado em todos os estudos por ensaio imunoenzimático (ELISA) ou teste imunocromatográfico (IC) usando PGL-I nativo (nPGL-I) ou suas variantes antigênicas NDO-BSA, NTP-BSA e NDO-HSA. A reatividade ao LID-1 foi avaliada em onze estudos, utilizando ELISA ou teste IC, enquanto o NDO-LID foi empregado em dez estudos utilizando ELISA e teste IC. Para comparar o desempenho dos três diferentes antígenos, a positividade geral foi calculada com base no número total de indivíduos reativos a cada antígeno entre o total de indivíduos avaliados.

RESULTADOS

Desempenho de diferentes antígenos do *M. leprae* no diagnóstico sorológico da hanseníase

Quinze estudos avaliaram o uso de dois ou três antígenos no diagnóstico da hanseníase MB, envolvendo 1.427 pacientes (Tabela 1). Em todos os estudos, pelo menos uma variante do PGL-I foi empregada, e a taxa de positividade frente a este antígeno variou de 54,0% a 96,0%; considerando os dados de



todos os estudos em conjunto, observou-se resposta positiva em 75,9% dos pacientes MB. Entre onze estudos que utilizaram o LID-1, a reatividade oscilou de 47,4% a 94,8% e a positividade, na comparação geral, foi de 78,3%. A porcentagem de pacientes que reconheceram a molécula NDO-LID variou de 60,0% a 98,9% em dez estudos; combinando todos eles, observamos 82,5% de positividade para esse antígeno entre os pacientes MB (Tabela 2).

Tabela 1 – Reatividade sorológica para PGL-I, LID-1 e NDO-LID entre pacientes com hanseníase multibacilar.

Referência	População	Tratamento	PGL-I			LID-1			NDO-LID		
			Pacientes (n)	Positivo (%) (variante método)	Positivo (n)	Pacientes (n)	Positivo (%) (método)	Positivo (n)	Pacientes (n)	Positivo (%) (método)	Positivo (n)
Duthie <i>et al</i> 2008 ¹⁵	Kathmandu, NP	NT	25	96,0 (NDO-BSA) (ELISA)	24	25	92,0 (IC)	23	-	-	-
Duthie <i>et al</i> 2011 ¹⁹	Uberlândia, BR	NT	75	94,7 (NDO-BSA) (ELISA)	71	75	77,3 (ELISA)	58	-	-	-
Cardoso <i>et al</i> 2013 ¹⁷	Goiânia, BR	NT	108	83,3 (NTP-BSA) (ELISA)	90	-	-	-	108	87,0 (IC)	94
Duthie <i>et al</i> 2014 ²⁰	Cebu, PH Medellin, CO	NT	96 50	77,1 82,0 (NDO-HSA) (ELISA)	74 41	96 50	94,8 54,0 (ELISA)	91 27	96 50	98,9 78,0 (ELISA)	95 39
Wen <i>et al</i> 2014 ²¹	Yunnan, CH	NT /IT	20	90,0 (NDO-BSA) (ELISA)	18	20	65,0 (ELISA)	13	20	95,0 (ELISA) 95,0 (IC)	19 19
Fabri <i>et al</i> 2015 ¹⁸	Uberlândia, BR	NT	43 43	76,7 (NDO-HSA) 66,7 (nPGL-I) (ELISA)	33 29	43	89,5 (ELISA)	38	43	71,7 (ELISA)	31
Freitas <i>et al</i> 2015 ²²	Goiânia, BR	NT	30	73,0 (NTP-BSA) (ELISA)	22	30	87,0 (ELISA)	26	-	-	-
Mizoguti <i>et al</i> 2015 ²³	Goiânia, BR	NT	37	54,0 (NTP-BSA) (ELISA)	20	37	81,0 (ELISA)	20	-	-	-
Freitas <i>et al</i> 2016 ²⁴	Goiânia e Fortaleza, BR	NT	48	67,0 (NTP-BSA) (ELISA)	32	48	87,0 (ELISA)	42	-	-	-
Frade <i>et al</i> 2017 ²⁵	Brasília, BR	NT	38	57,9 (NDO-BSA) (ELISA)	22	38	47,4 (ELISA)	18	38	65,8 (IC)	25
Carvalho <i>et al</i> 2017 ²⁶	Minas Gerais, BR	DT/PT	104	62,5 (NDO-HSA) (ELISA)	65	104	61,5 (ELISA)	64	104	63,5 (ELISA)	66
Silva <i>et al</i> 2017 ²⁷	Rondonópolis, BR	NT	49	71,4 (NDO-BSA) (ELISA)	35	-	-	-	49	83,6 (IC)	41
Muñoz <i>et al</i> 2018 ²⁸	Colômbia, CO	DT	338	78,0 (NI) (ELISA)	264	-	-	-	338	89,6 (ELISA)	303
Hungria <i>et al</i> 2018 ²⁹	Fortaleza e Manaus, BR	NT	245	72,6 (NTP-BSA) (ELISA)	178	245	87,8 (ELISA)	215	245	73,1 (ELISA)	179
Leturiondo <i>et al</i> 2019 ³⁰	Manaus, BR	NT	121	81,0 nPGL-I (IC)	98	-	-	-	121	73,6 (IC)	89
TOTAL	15 estudos	-	1470 testes	75,9%	1116 testes	811 testes	78,3%	635 testes	1212 testes	82,5%	1000 testes

BSA: albumina do soro bovino; DT: durante tratamento; ELISA: ensaio imunoenzimático; HSA: albumina do soro humano; IC: teste imunocromatográfico; IT: fase inicial do tratamento; NDO: dissacarídeo natural-octil; NI: não informado; nPGL-I: glicolípido fenólico nativo; NT: não tratado; NTP: trissacarídeo natural-fenil; PT: pós tratamento.

Tabela 2 – Resumo da positividade entre três antígenos de ensaios sorológicos em pacientes com hanseníase e contatos domiciliares.

Indivíduos	Positividade em % (mínimo e máximo)					
	PGL-1		LID-1		NDO-LID	
MB	75,9	(54,0 a 96,0)	78,3	(47,4 a 94,8)	82,5	(60,0 a 98,9)
PB	19,5	(6,4 a 52,9)	18,0	(4,0 a 60,0)	26,9	(16,0 a 63,6)
CD	13,2	(0,0 a 35,7)	21,7	(12,6 a 43,2)	22,9	(5,3 a 51,6)

CD: contato domiciliar; MB: paciente multibacilar; PB: paciente paucibacilar.

Não houve diferenças significativas para nenhum dos antígenos avaliados em função da população, da variante antigênica ou da metodologia utilizada nos diferentes estudos (dados não demonstrados). Os antígenos PGL-I e LID-1 apresentaram positividade semelhante, enquanto o NDO-LID apresentou maior positividade, sendo reconhecido por mais de 80% dos pacientes MB (Tabela 2).

Treze estudos foram encontrados na literatura comparando o desempenho dos antígenos do *M. leprae* para o diagnóstico da hanseníase PB, incluindo 626 pacientes com hanseníase (Tabela 3). A positividade para PGL-I foi entre 6,4 e 52,9% e a positividade geral, incluindo todos os estudos, foi de 19,5%. A reatividade contra o LID-1 variou de 4,0 a 60,0% e a análise combinada dos dados de todos os estudos mostrou positividade de 18,0%. O reconhecimento do antígeno NDO-LID pelos pacientes PB variou de 16,0 a 63,6% e a positividade geral contra esse antígeno foi de 26,9%.

Tabela 3 – Reatividade sorológica para PGL-I, LID-1 e NDO-LID entre pacientes com hanseníase paucibacilar.

Referencia	Região	Tratamento	PGL-I			LID-1			NDO-LID		
			Pacientes (n)	Positivo (%) (variant method)	Positivo (n)	Pacientes (n)	Positivo (%) (metodo)	Positivo (n)	Pacientes (n)	Positivo (%) (método)	Positivo (n)
Duthie et al 2008 ¹⁵	Kathmandu, NP	NT	25	32,0 (NDO-BSA) (ELISA)	8	25	48,0 (IC)	12	-	-	-
Duthie et al 2011 ¹⁹	Uberlândia, BR	NT	32	25,0 (NDO-BSA) (ELISA)	8	32	25,0 (ELISA)	8	-	-	-
Cardoso et al 2013 ¹⁷	Goiânia, BR	NT	104	15,4 (NTP-BSA) (ELISA)	16	-	-	-	104	20,2 (IC)	21
Duthie et al 2014 ²⁰	Cebu, PH Medellin, CO	NT	33 17	36,4 52,9 (NDO-HSA) (ELISA)	12 9	33 17	21,2 35,3 (ELISA)	7 6	33 17	45,0 47,1 (ELISA)	15 8
Wen et al 2014 ²¹	Yunnan, CH	NT /IT	11	45,5 (NDO-BSA) (ELISA)	5	11	36,4 (ELISA)	4	11	36,4 (ELISA) 63,6 (IC)	4 7
Fabri et al 2015 ¹⁸	Uberlândia, BR	NT	51 51	23,3 (NDO-BSA) 33,3 (PGL-I) (ELISA)	12 17	51	10,5 (ELISA)	5	51	28,3 (ELISA)	14

Freitas <i>et al</i> 2015 ²²	Goiânia, BR	NT	30	7,0 (NTP-BSA) (ELISA)	2	30	7,0 (ELISA)	2	-	-	-
Freitas <i>et al</i> 2016 ²⁴	Goiânia e Fortaleza BR	NT	60	8,0 (NTP-BSA) (ELISA)	5	60	7,0 (ELISA)	4	-	-	-
Frade <i>et al</i> 2017 ²⁵	Brasília, BR	NT	5	40,0 (NDO-BSA) (ELISA)	2	5	60,0 (ELISA)	3	5	40,0 (IC)	2
Carvalho <i>et al</i> 2017 ²⁶	Minas Gerais, BR	DT/PT	25	20,0 (NDO-HSA) (ELISA)	5	25	4,0 (ELISA)	1	25	16,0 (ELISA)	4
Silva <i>et al</i> 2017 ²⁷	Rondonópolis, BR	NT	125	6,4 (NDO-BSA) (ELISA)	8	-	-	-	125	20,0 (IC)	25
Muñoz <i>et al</i> 2018 ²⁸	Colômbia, CO	DT	58	6,9 (NI) (ELISA)	4	-	-	-	58	20,3 (ELISA)	12
Leturiondo <i>et al</i> 2019 ³⁰	Manaus, BR	NT	50	32,0 nPGL-I (IC)	16	-	-	-	50	34,0 (IC)	17
TOTAL	13 estudos	-	677 testes	19,5%	129 testes	289 testes	18,0%	52 testes	479 testes	26,9%	129 testes

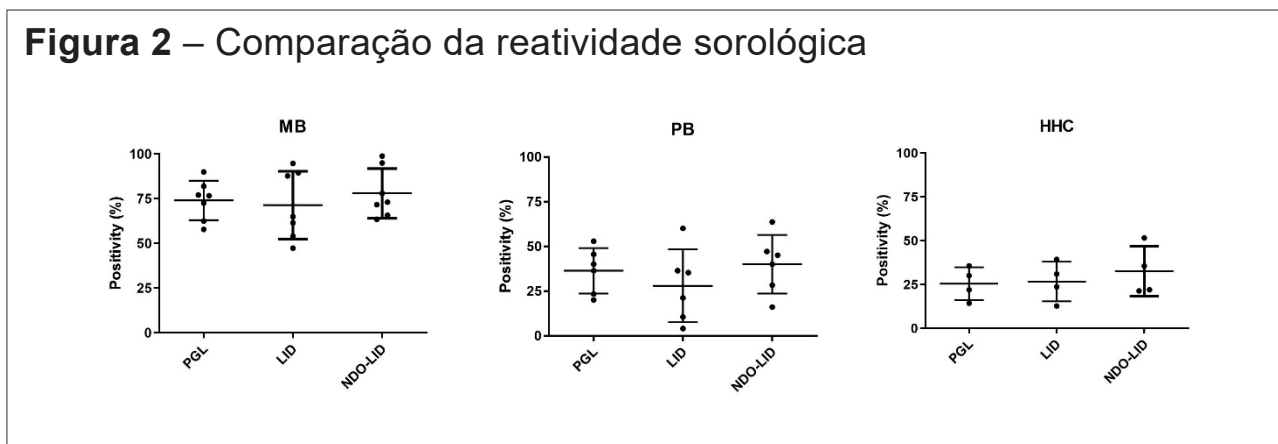
BSA: albumina do soro bovino; DT: durante tratamento; ELISA: ensaio imunoenzimático; HSA: albumina do soro humano; IC: teste imunocromatográfico; IT: fase inicial do tratamento; NDO: dissacarídeo natural-octil; NI: não informado; nPGL-I: glicolípido fenólico nativo; NT: não tratado; NTP: trissacarídeo natural-fenil; PT: pós tratamento.

Embora em três ocasiões isoladas, com pequeno número de pacientes, tenha sido observada positividade superior a 50% em pacientes com hanseníase PB, a análise geral dos dados mostra níveis semelhantes de positividade frente aos três antígenos: PGL-I e LID-1 com reconhecimento inferior a 20% e NDO-LID ligeiramente superior (Tabela 2), demonstrando que uma ferramenta sorológica para a identificação desse grupo de pacientes ainda é uma utopia no cenário da hanseníase. Também entre os pacientes PB, os dados variaram amplamente entre os diferentes estudos, mas tais diferenças não foram relacionadas às variantes antigênicas, metodologia utilizada ou origem da população de estudo (dados não mostrados), mas podem ser devido à heterogeneidade da manifestação clínica ou diferenças na classificação clínica da hanseníase.

A análise dos estudos que compararam os três antígenos do *M. leprae* juntos, calculados pelo teste de Kruskal-Wallis, não mostrou diferenças significativas quanto ao desempenho (Figura 2). Independente do antígeno testado, a sororreatividade foi maior nos pacientes MB, enquanto os pacientes PB apresentaram positividade apenas ligeiramente superior à observada nos contatos domiciliares (Figura 2).

Figura 2: Comparação da reatividade sorológica em estudos incluindo três antígenos (PGL-I, LID-1 e NDO-LID) do *M. leprae* em pacientes com hanseníase MB^{18, 20, 21, 25, 26, 29} e PB^{18, 20, 21, 25, 26} e HHC^{18, 21, 25, 26}. Cada ponto representa os dados de uma população estudada (Ref.²⁰ inclui 2 populações diferentes)

Figura 2 – Comparação da reatividade sorológica



e as barras representam a média (\pm DP). MB: pacientes multibacilares; PB: pacientes paucibacilares; HHC: contatos domiciliares.

Uso de antígenos de *M. leprae* na vigilância de contatos domiciliares

Poucos estudos avaliam a reatividade sorológica contra antígenos do *M. leprae* em contatos domiciliares. Sete estudos, incluindo 1.049 indivíduos, foram encontrados na literatura (Tabela 4). A reatividade geral ao PGL-I foi de 13,2%, variando de 0,0% a 35,7% nos diferentes estudos. O LID-1 foi reconhecido por 21,7% de todos os contatos avaliados e a positividade variou de 12,6 a 43,2%. A sorologia anti-NDO-LID foi positiva em 22,9% de todos os contatos avaliados, variando entre 5,3 a 51,8%.

Tabela 4 – Reatividade sorológica para PGL-I, LID-1 e NDO-LID em contatos domiciliares de pacientes com hanseníase.

Referencias	Região	Status	PGL-I			LID-1			NDO-LID								
			Sujeitos (n)	Positivo (%) (variante)	Positivo (n)	Sujeitos (n)	Positivo (%)	Positivo (n)	Sujeitos (n)	Positivo (%) (método)	Positivo (n)						
Cardoso <i>et al</i> 2013 ¹⁷	Goiânia, BR	HHC-MB/ HHC-PB	75	2,7 (NTP-BSA)	2	-	-	-	75	5,3 (IC)	4						
Wen <i>et al</i> 2014 ²¹	Yunnan, CH	HHC-MB/ HHC-PB	42	35,7 (NDO-BSA)	15	42	31,0	13	42	21,4	9						
Fabri <i>et al</i> 2015 ⁸	Uberlândia, BR	HHC-MB	81	17,3 (PGL-I)	14	81	43,2	35	81	38,3	31						
		HHC-PB	23	4,3 (PGL-I)	1												
		HHC-MB	81	12,3 (NDO-HSA)	10							23	26,1	6	23	26,1	6
		HHC-PB	23	0,0 (NDO-HSA)	0												
Nicchio <i>et al</i> 2016 ³¹	Ituiutaba, BR	HHC-MB/ HHC-PB	53	17,0 (NDO-HSA) (ELISA)	9	-	-	-	53	42,3 (IC)	22						

Frade <i>et al</i> 2017 ²⁵	Brasília, BR	HHC-MB/ HHC-PB	93	30,1 (NDO-BSA)	28	93	23,7	22	93	51,6 (IC)	48
Carvalho <i>et al</i> 2017 ²⁶	Minas Gerais, BR	HHC-MB/ HHC-PB	214 59	21,5 23,7 (NDO-HSA)	46 14	214 59	12,6 13,6	27 8	214 59	22,4 20,3 (ELISA)	48 12
Silva <i>et al</i> 2017 ²⁷	Rondonópolis, BR	HHC-MB/ HHC-PB	409	3,2 (NDO-BSA)	13	-	-	-	409	14,7 (IC)	60
Total	7 estudos	HHC-MB/ HHC-PB	1153 testes	13,2%	152 testes	512 testes	21,7%	111 Testes	1049 tests	22,9%	240 testes

BSA: albumina do soro bovino; ELISA: ensaio imunoenzimático; HSA: albumina do soro humano; IC: teste imunocromatográfico; NDO: dissacarídeo natural-octil; NTP: trissacarídeo natural-fenil.

DISCUSSÃO

A hanseníase é uma doença única que abrange um amplo espectro imunológico e varia desde uma patologia limitada com uma resposta imune celular robusta até uma doença disseminada caracterizada por uma resposta imune humoral vigorosa, incapaz de controlar a multiplicação bacilar. De qualquer forma, danos neurais graves podem ocorrer em qualquer forma clínica de hanseníase trazendo incapacidades permanentes que dificultam as atividades cotidianas e prejudicam a qualidade de vida⁵.

A identificação de um antígeno ideal do *M. leprae* pode contribuir para o diagnóstico precoce que possibilite o tratamento imediato e a atenção à saúde adequada, evitando o desenvolvimento ou agravamento de incapacidades, além de contribuir para a interrupção da cadeia de transmissão. Além disso, a utilização de testes sorológicos em programas de vigilância pode indicar a necessidade de exame clínico e acompanhamento de casos suspeitos de infecção por *M. leprae*.

Os resultados aqui apresentados confirmam o potencial do conhecido antígeno PGL-I, bem como dos antígenos desenvolvidos mais recentemente, LID-1 e NDO-LID, para o diagnóstico de pacientes com hanseníase, principalmente MB. Antes de iniciar o tratamento, esses pacientes liberam uma grande quantidade de bacilos, promovendo a transmissão da doença; portanto, seu diagnóstico e tratamento é um objetivo principal a fim de reduzir a carga global da hanseníase³².

Um importante obstáculo ao uso desses antígenos para diagnóstico em todo o mundo é a falta de protocolos padronizados e testes comerciais. Os estudos aqui analisados apresentam uma grande variação quanto a (i) uso de diferentes variantes antigênicas na busca de anticorpos anti-PGL-I, (ii) diferença no tamanho e origem das populações, (iii) uso de diversas metodologias, (iv) situação do tratamento no momento da avaliação e (v) diferenças operacionais na classificação clínica, que dificultam a comparação dos estudos para a escolha do melhor antígeno a ser utilizado.

De qualquer forma, um ponto que deve ser ressaltado é a boa correlação

entre os testes anti-PGL-I e anti-NDO-LID em pacientes e contatos já relatados anteriormente^{27,33}. A grande maioria dos pacientes MB apresenta reatividade sorológica aos antígenos avaliados, o que já era esperado, dada a intensa resposta imune humoral presente nesses indivíduos³⁴. No entanto, o NDO-LID parece apresentar um desempenho um pouco melhor neste grupo. *Devides et al*³³ mostraram que a sensibilidade ao NDO-LID é maior em pacientes MB e PB em comparação com o teste anti-PGL-I. Isso pode ser devido à presença de um glicolípido e dois antígenos proteicos na molécula de NDO-LID que seriam capazes de detectar anticorpos tanto IgM quanto IgG²⁰.

Para pacientes com hanseníase PB, todos os três antígenos apresentaram reconhecimento pobre mas, novamente, o antígeno NDO-LID mostrou resultados discretamente superiores. Embora o papel desse grupo na transmissão da hanseníase ainda esteja em questão^{35, 36} esses pacientes podem evoluir com importante dano neural e conseqüente morbidade, justificando o desejo de identificação precoce^{37, 38}. Os dados aqui analisados, no entanto, mostram que a sorologia utilizando PGL-I, LID-1 e NDO-LID não é eficaz para esse fim, embora um resultado sorológico negativo na presença de sintomas clínicos de hanseníase possa auxiliar na classificação clínica, visto que sugere uma doença paucibacilar.

Para os contatos domiciliares, LID-1 e NDO-LID apresentaram níveis de positividade superiores ao PGL-I. Este fato deve ser visto com cautela uma vez que o significado de anticorpos anti-*M. leprae* em contatos saudáveis ainda é desconhecido. A presença desses anticorpos, mesmo na ausência de lesões cutâneas ou nervosas, é um importante indicativo de exposição, sugerindo que existe ou existiu carga bacilar que induziu uma resposta imune contra o bacilo nesses indivíduos¹². Portanto, o acompanhamento dessas pessoas torna-se fundamental na tentativa de antecipar a progressão da hanseníase. A utilização da sorologia para o acompanhamento desses contatos, entretanto, ainda é um desafio. Embora o risco de doença entre contatos de pacientes com hanseníase seja maior do que na população em geral³⁹ o uso de PQT na ausência de sintomas não é recomendado. Além disso, contatos com sorologia negativa também podem desenvolver hanseníase, como mostrado anteriormente²⁷.

Vale ainda mencionar que os anticorpos IgM apresentam maior reatividade ao natural dissacarídeo ligado albumina do soro bovino via radical octil (NDO-BSA), enquanto os anticorpos IgG apresentam reatividade robusta contra o antígeno LID-1. Nesse contexto, recentemente Marçal et. al⁴⁰ demonstraram que a detecção do isotipo IgG1 contra antígenos LID-1 e NDO-LID é uma ferramenta útil para diferenciar MB de PB e contatos domiciliares.

CONCLUSÕES

Com base na compilação dos dados dos artigos selecionados, concluímos que os três antígenos apresentam bom desempenho para o diagnóstico de pacientes MB, enquanto a sorologia para pacientes PB continua sendo um

grande desafio na hanseníase. O uso do PGL-I em testes sorológicos foi validado como importante ferramenta auxiliar para confirmação do diagnóstico de hanseníase, enquanto o NDO-LID, que combina o PGL-I e a proteína de fusão LID-1, apresentou desempenho ligeiramente superior em comparação aos antígenos isolados nos pacientes PB e MB.

Fonte de Financiamento: Fundação Paulista contra a Hanseníase.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Global leprosy update, 2018: moving towards a leprosy free world. *Wkly Epidemiol Rec* [Internet]. 2019 [cited 2019 Sept 15];35/36(94):389–412. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/326776>
2. White C, Franco-Paredes C. Leprosy in the 21st century. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(1):80–94. doi: 10.1128/CMR.00079-13
3. Ridley DS, Jopling WH. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*[Internet]. 1966[cited 2019 sept 15];34(3):255–73. Available from: <http://ila.ils.br/pdfs/v34n3a03.pdf>
4. Fonseca ABL, Simon MV, Cazzaniga RA, Moura TR, Almeida RP, Duthie MS, et al. The influence of innate and adaptative immune responses on the differential clinical outcomes of leprosy. *Infect Dis Poverty.* 2017;6(1):5. doi: 10.1186/s40249-016-0229-3
5. Scollard DM, Adams LB, Gillis TP, Krahenbuhl JL, Truman RW, Williams DL. The continuing challenges of leprosy. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19(2):338–81. doi: 10.1128/CMR.19.2.338-381.2006
6. WHO Expert Committee on Leprosy. *World Health Organ Tech Rep Ser.* 1998;874:1–43.
7. Sengupta U. Recent laboratory advances in diagnostics and monitoring response to treatment in leprosy. *Indian Dermatol Online J.* 2019;10(2):106–14. doi: 10.4103/idoj.IDOJ_260_18
8. Souza VNB, Iyer AM, Lammas DA, Naafs B, Das PK. Advances in leprosy immunology and the field application: A gap to bridge. *Clin Dermatol.* 2016;34(1):82–95. doi: 10.1016/j.clindermatol.2015.10.013
9. Hunter SW, Brennan PJ. A novel phenolic glycolipid from *Mycobacterium leprae* possibly involved in immunogenicity and pathogenicity. *J Bacteriol.* 1981;147(3):728–35. doi: 10.1128/JB.147.3.728-735.1981
10. Cho SN, Yanagihara DL, Hunter SW, Gelber RH, Brennan PJ. Serological specificity of phenolic glycolipid I from *Mycobacterium leprae* and use in serodiagnosis of leprosy. *Infect Immun.* 1983;41(3):1077–83.
11. Jardim MR, Antunes SLG, Simons B, Wildenbeest JG, Nery JAC, Illarramendi X et al. Role of PGL-I antibody detection in the diagnosis of pure neural leprosy. *Lepr Rev.* 2005;76(3):232–40. doi: 10.47276/lr.76.3.232.
12. Spencer JS, Brennan PJ. The role of *Mycobacterium leprae* phenolic

- glycolipid I (PGL-I) in serodiagnosis and in the pathogenesis of leprosy. *Lepr Rev.* 2011;82(4):344–57. doi: 10.47276/lr.82.4.344.
13. Reece ST, Ireton G, Mohamath R, Guderian J, Goto W, Gelber R et al. ML0405 and ML2331 Are antigens of *Mycobacterium leprae* with potential for diagnosis of leprosy. *Clin Vaccine Immunol.* 2006;13(3):333–40. doi: 10.1128/CVI.13.3.333-340.2006
 14. Duthie MS, Goto W, Ireton GC, Reece ST, Cardoso LP, Martelli CM et al. Use of protein antigens for early serological diagnosis of leprosy. *Clin Vaccine Immunol.* 2007;14(11):1400–8. doi: 10.1128/CVI.00299-07
 15. Duthie MS, Ireton GC, Kanaujia G V., Goto W, Liang H, Bhatia A et al. Selection of antigens and development of prototype tests for point-of-care leprosy diagnosis. *Clin Vaccine Immunol.* 2008;15(10):1590–7. doi: 10.1128/ CVI.00168-08
 16. Duthie MS, Balagon MF, Maghanoy A, Orcullo FM, Cang M, Dias RF et al. Rapid quantitative serological test for detection of infection with *Mycobacterium leprae*, the causative agent of leprosy. *J Clin Microbiol.* 2014;52(2):613–9. doi: 10.1128/JCM.02085-13
 17. Cardoso LPV, Dias RF, Freitas AA, Hungria EM, Oliveira RM, Collovati M et al. Development of a quantitative rapid diagnostic test for multibacillary leprosy using smart phone technology. *BMC Infect Dis.* 2013;13(1):497. doi: 10.1186/1471-2334-13-497
 18. Fabri ACOC, Carvalho APM, Araujo S, Goulart LR, de Mattos AMM, Teixeira HC et al. Antigen-specific assessment of the immunological status of various groups in a leprosy endemic region. *BMC Infect Dis.* 2015;15(1):218. doi: 10.1186/s12879-015-0962-4
 19. Duthie MS, Hay MN, Rada EM, Convit J, Ito L, Oyafuso LKM et al. Specific IgG antibody responses may be used to monitor leprosy treatment efficacy and as recurrence prognostic markers. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011;30(10):1257–65. doi: 10.1007/s10096-011-1221-2
 20. Duthie MS, Raychaudhuri R, Tutterrow YL, Misquith A, Bowman J, Casey A et al. A rapid ELISA for the diagnosis of MB leprosy based on complementary detection of antibodies against a novel protein-glycolipid conjugate. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014;79(2):233–9. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2014.02.006
 21. Wen Y, You YG, Yuan LC, Yuan YH, Zhang Y, Duthie MS et al. Evaluation of novel tools to facilitate the detection and characterization of leprosy patients in China. *Biomed Res Int.* 2014; 2014:371828. doi: 10.1155/2014/371828
 22. Freitas AA, Oliveira RM, Hungria EM, Cardoso LPV, Sousa ALOM, Costa MB et al. Alterations to antigen-specific immune responses before and after multidrug therapy of leprosy. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2015;83(2):154–61. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2015.06.021
 23. Mizoguti DF, Hungria EM, Freitas AA, Oliveira RM, Cardoso LPV, Costa MB et al. Multibacillary leprosy patients with high and persistent serum

- antibodies to leprosy IDRI diagnostic-1/LID-1: Higher susceptibility to develop type 2 reactions. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015;110(7):914–20. doi: 10.1590/0074-02760150198
24. Freitas AA, Hungria EM, Costa MB, Sousa ALOM, Castilho MLO, Gonçalves HS et al. Application of *Mycobacterium leprae*-specific cellular and serological tests for the differential diagnosis of leprosy from confounding dermatoses. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016;86(2):163–8. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2016.07.024
 25. Frade MAC, Paula NA, Gomes CM, Vernal S, Bernardes Filho F, Lulgão HB et al. Unexpectedly high leprosy seroprevalence detected using a random surveillance strategy in midwestern Brazil: A comparison of ELISA and a rapid diagnostic test. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(2):e0005375. doi: 10.1371/journal.pntd.0005375
 26. Carvalho APM, Coelho A da CO, Correa-Oliveira R, Lana FCF. Specific antigen serologic tests in leprosy: Implications for epidemiological surveillance of leprosy cases and household contacts. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2017;112(9):609–16. doi: 10.1590/0074-02760160505
 27. Silva EA, Rosa PS, Belone AFF, Coelho NMB, Ura S, Tomimori J. Serodiagnosis of leprosy and follow-up of household contacts using a commercial rapid test containing ND-O/LID-1 antigens. *Lepr Rev*. 2017;88(2):174–83. doi: 10.47276/lr.88.2.174
 28. Muñoz M, Beltrán-Alzate JC, Duthie MS, Serrano-Coll H, Cardona-Castro N. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay using either natural octyl disaccharide-leprosy IDRI diagnostic or phenolic glycolipid-I antigens for the detection of leprosy patients in Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 2018;98(1):274–277. doi: 10.4269/ajtmh.17-0500
 29. Hungria EM, Bühner-Sékula S, Oliveira RM, Aderaldo LC, Pontes MAA, Cruz R et al. *Mycobacterium leprae*-specific antibodies in multibacillary leprosy patients decrease during and after treatment with either the regular 12 doses multidrug therapy (MDT) or the uniform 6 doses MDT. *Front Immunol*. 2018; 9:915. doi: 10.3389/fimmu.2018.00915
 30. Leturiondo AL, Noronha AB, Do Nascimento MOO, Ferreira CDO, Rodrigues FDC, Moraes MO et al. Performance of serological tests PGL1 and NDO-LID in the diagnosis of leprosy in a reference center in Brazil. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):22. doi: 10.1186/s12879-018-3653-0
 31. Nicchio MVC, Araujo S, Martins LC, Pinheiro A V., Pereira DC, Borges A et al. Spatial and temporal epidemiology of *Mycobacterium leprae* infection among leprosy patients and household contacts of an endemic region in Southeast Brazil. *Acta Trop*. 2016;163:38–45. doi: 10.1016/j.actatropica.2016.07.019
 32. Smith CS, Aerts A, Saunderson P, Kawuma J, Kita E, Virmond M. Multi-drug therapy for leprosy: a game changer on the path to elimination. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(9):e293–e297. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30418-8

33. Devides AC, Rosa PS, de Faria Fernandes Belone A, Coelho NMB, Ura S, Silva EA. Can anti-PGL-1 and anti-NDO-LID-1 antibody titers be used to predict the risk of reactions in leprosy patients? *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2018; 91(3): 260–5. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2018.03.002
34. Roche PW, Britton WJ, Failbus SS, Williams D, Pradhan HM, Theuvenet WJ. Operational value of serological measurements in multibacillary leprosy patients: clinical and bacteriological correlates of antibody responses. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* [Internet]. 1990 [cited 2019 Sept. 18];58(3):480–90. Available from: <http://ila.ilsl.br/pdfs/v58n3a05.pdf>
35. Halder A, Mundle M, Bhadra UK, Saha B. Role of paucibacillary leprosy in the transmission of disease. *Indian J Lepr*. 2001;73(1):11–5.
36. Morgado de Abreu MAM, Roselino AM, Enokihara M, Nonogaki S, Prestes-Carneiro LE, Weckx LLM et al. *Mycobacterium leprae* is identified in the oral mucosa from paucibacillary and multibacillary leprosy patients. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(1):59–64. doi: 10.1111/1469-0691.12190
37. Solomon S, Kurian N, Ramadas P, Rao PS. Incidence of nerve damage in leprosy patients treated with MDT. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* [Internet]. 1998[cited 2019 Sept 19];66(4):451–6. Available from: <http://ila.ilsl.br/pdfs/v66n4a02.pdf>
38. Serrano-Coll H, Salazar-Peláez L, Acevedo-Saenz L, Cardona-Castro N. *Mycobacterium leprae*-induced nerve damage: direct and indirect mechanisms. *Pathog Dis*. 2018;76(6): 10.1093/femspd/fty062. doi: 10.1093/femspd/fty062
39. Cunha MHCM, Silvestre MPSA, Silva AR, Rosário DDS, Xavier MB. Fatores de risco em contatos intradomiciliares de pacientes com hanseníase utilizando variáveis clínicas, sociodemográficas e laboratoriais. *Rev Pan-Amaz Saúde*. 2017;8(2):21–8. doi: 10.5123/s2176-62232017000200003
40. Marçal PHF, Fraga LA de O, de Mattos AMM, Menegati L, Coelho A da CO, Pinheiro RO et al. Utility of immunoglobulin isotypes against LID-1 and NDO-LID for, particularly IgG1, confirming the diagnosis of multibacillary leprosy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2018;113(5): e170467. doi: 10.1590/0074-02760170467

Contribuição dos autores: VNBS and EAS: desenho do estudo, análise e interpretação dos dados, revisão crítica do manuscrito e aprovação final da versão a ser publicada. GMB: aquisição e interpretação dos dados, redação do artigo e aprovação final da versão a ser publicada.