

Valor diagnóstico da PCR quantitativa em acompanhamento de um paciente com hanseníase: relato de caso

Quantitative PCR diagnostic value in monitoring a patient with leprosy: case report

Valor diagnóstico de la PCR cuantitativa en el seguimiento de un paciente con lepra: reporte de un caso

Marcos Daniel Silva Pinheiro^{ID¹}, Maisa Pereira Vieira^{ID¹}, Daisy Cristina Monteiro dos Santos^{ID²}, Alexandre Castelo Branco^{ID³}, Lorena Bruna Pereira de Oliveira^{ID¹}, Lucia Alves de Oliveira Fraga^{ID⁴}

COMO CITAR ESSE ARTIGO:

Pinheiro MDS, Vieira MP, Santos DCM, Castelo Branco A, Oliveira LBP, Fraga LAO. Valor diagnóstico da PCR quantitativa em acompanhamento de um paciente com hanseníase: relato de caso. Hansen Int. 2024;49:e40201. doi: <https://doi.org/10.47878/hi.2024.v49.40201>

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Lucia Alves de Oliveira Fraga
Universidade Federal de Juiz de Fora.
e-mail: luciaalvesfraga@yahoo.com.br

EDITOR-CHEFE:

Dejair Caitano do Nascimento

EDITORA-ASSISTENTE:

Fabiana Covolo de Souza Santana

RECEBIDO EM: 30/12/2023

ACEITO EM: 19/07/2024

PUBLICADO EM: 27/08/2024

¹ Universidade Federal de Juiz de Fora, Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular (PMBqBM), Governador Valadares, Minas Gerais – MG, Brasil. Universidade Vale do Rio Doce, Governador Valadares, Minas Gerais – MG, Brasil.

² Universidade Federal de Juiz de Fora, Governador Valadares, Minas Gerais – MG, Brasil.

³ Secretaria Municipal de Saúde, Centro de Referência em Doenças Endêmicas e Programas Especiais Dr. Alexandre Castelo Branco (CREDEN-PES), Governador Valadares, Minas Gerais – MG, Brasil.

⁴ Universidade Federal de Juiz de Fora, Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular (PMBqBM), Governador Valadares, Minas Gerais – MG, Brasil.

RESUMO

Introdução: a hanseníase é uma doença granulomatosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae*. Ela representa um problema de saúde pública relevante no país e impacta na população de maneira geral. **Objetivo:** relatar o acompanhamento de um paciente com hanseníase que apresenta reação em cadeia polimerase quantitativa (qPCR) positiva. **Descrição do caso:** paciente do sexo masculino, 53 anos, residente na zona rural de São Geraldo da Piedade, Minas



Gerais, Brasil. Em 2015, o paciente procurou a Policlínica Central Municipal de Governador Valadares e foi encaminhado ao Centro de Referência em Doenças Endêmicas e Programas Especiais Dr. Alexandre Castelo Branco (CREDEN-PES) para dar início ao tratamento, porém ele não aderiu à terapêutica alegando dificuldade de acesso ao Centro de tratamento. Em 2017, o indivíduo retornou ao CREDEN-PES, onde não só foi examinado, mas também foi coletado material para baciloscopia e para qPCR. Por conseguinte, o resultado do índice baciloscópico (IB) foi zero e positivo para qPCR. Dessa forma, o paciente foi encaminhado para tratamento no município de origem e aderiu a duas doses de poliquimioterapia multibacilar (PQT-MB). No ano de 2021, voltou ao Centro de Referência para novas avaliações e essas resultaram em IB igual a 1,5 e diminuição da sensibilidade plantar. Em seguida, iniciou o uso do esquema único de tratamento para hanseníase (MDT-U). Em 2023, mudou-se para o Paraná e recentemente relatou o quadro subsequente: estado de saúde regular, alteração de equilíbrio, quedas frequentes, perda de força nos joelhos, pele seca e edema atrás da orelha. A positividade da reação qPCR motivou a equipe a procurar e a acompanhar esse paciente, que inicialmente não aderiu ao tratamento. **Conclusão:** acredita-se que o uso de ferramentas laboratoriais para auxiliar e para reforçar o diagnóstico, assim como o tratamento, tem contribuído para um controle mais eficaz da hanseníase.

Palavras-chave: Hanseníase. Diagnóstico. qPCR. Busca Ativa.

ABSTRACT

Introduction: leprosy is a chronic granulomatous disease caused by *Mycobacterium leprae*. **Objective:** the study aims to report the follow-up of a patient with leprosy, presenting a positive quantitative polymerase chain reaction (qPCR). **Case description:** the patient is a 53-year-old male residing in the rural area of São Geraldo da Piedade, Minas Gerais State, Brazil. In 2015, the patient sought care at the Governador Valadares Municipal Central Polyclinic and was referred to the Dr. Alexandre Castelo Branco Reference Center for Endemic Diseases and Special Programs (CREDEN-PES) to initiate treatment. However, he did not adhere to the therapy, citing difficulty accessing the center. In 2017, he returned to CREDEN-PES, where he was examined and collected material for bacilloscopy and qPCR. The bacilloscopy index (BI) result was zero and positive for qPCR. The patient was referred for treatment in his hometown and adhered to two doses of multibacillary multidrug therapy (MB-MDT). In 2021, he sought CREDEN-PES for new evaluations, resulting in BI = 1.5 and decreased plantar sensitivity.



He began a unique treatment regimen for leprosy (U-MDT). In 2023, he moved to Paraná State and recently reported his condition: regular health, altered balance, frequent falls, loss of strength in the knees, dry skin, and swelling behind the ear. The positivity of the qPCR reaction prompted the team to follow up with this patient, who initially did not adhere to the treatment. **Conclusion:** it is believed that using laboratory tools to assist and reinforce the diagnosis and treatment has contributed to more effective leprosy control.

Keywords: *Leprosy. Diagnosis. qPCR. Active Search.*

RESUMEN

Introducción: la lepra es una enfermedad granulomatosa crónica causada por *Mycobacterium leprae*. Es un importante problema de salud pública en Brasil y tiene impacto en la población en general. **Objetivo:** relatar el seguimiento de un paciente con lepra con reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) positiva. **Descripción del caso:** paciente masculino, de 53 años de edad, residente en la zona rural de São Geraldo da Piedade, Minas Gerais, Brasil. En 2015, el paciente acudió a la Policlínica Central Municipal de Governador Valadares y fue remitido al Centro de Referencia de Enfermedades Endémicas y Programas Especiales Dr. Alexandre Castelo Branco (CREDEN-PES) para iniciar tratamiento, pero no cumplió la terapia alegando dificultad de acceso al centro de tratamiento. En 2017, el individuo volvió al CREDEN-PES, donde no solo fue examinado, sino que también se le recogió material para baciloscopia y qPCR. El resultado del índice baciloscópico (IB) fue cero y positivo para la qPCR. Como consecuencia, el paciente fue remitido para tratamiento en el municipio de origen y cumplió dos dosis de terapia multimedicamentosa multibacilar (MDT-MB). En 2021, volvió al Centro de Referencia para nuevas evaluaciones, que resultaron en un IB de 1,5 y una disminución de la sensibilidad plantar. Entonces empezó a utilizar el régimen de tratamiento único para la lepra (MDT-U). En 2023, se mudó para Paraná y recientemente relató lo siguiente: estado de salud regular, alteración del equilibrio, caídas frecuentes, pérdida de fuerza en las rodillas, piel seca y edema detrás de la oreja. La positividad de la reacción de la qPCR motivó al equipo a buscar y seguir a este paciente, que inicialmente no adhirió al tratamiento. **Conclusión:** se cree que el uso de herramientas de laboratorio para ayudar y reforzar el diagnóstico, así como el tratamiento, ha contribuido a un control más eficaz de la lepra.

Palabras clave: *Lepra. Diagnóstico. qPCR. Búsqueda Activa.*



INTRODUÇÃO

Sabe-se que a hanseníase acomete primariamente os nervos periféricos e que as manifestações clínicas da doença decorrem do padrão de resposta imunológica estabelecida frente à infecção¹.

Considerando os dados epidemiológicos da hanseníase no Brasil e mais especificamente no estado de Minas Gerais, nota-se que apesar da redução do número de casos novos, a transmissão continua ativa pela incidência de casos em menores de 15 anos^{2,3}. Dessa forma, torna-se relevante a busca de métodos diagnósticos mais sensíveis e mais específicos para a detecção de uma infecção subclínica.

O emprego de técnicas moleculares por meio da amplificação de ácido desoxirribonucleico (DNA) para identificação do bacilo em diferentes amostras clínicas confere a esse método um alto potencial para o diagnóstico precoce da hanseníase. Assim, a técnica da reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR) tem sido utilizada como suporte alternativo aos métodos tradicionais de diagnóstico da doença^{4,5}.

Logo, nesse relato de caso reforça-se a aplicabilidade da qPCR na identificação de indivíduos que apresentam DNA do *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) em raspado dérmico como marcador epidemiológico de rastreamento da hanseníase.

RELATO E DISCUSSÃO DE CASO

Paciente do sexo masculino, 53 anos, residente na zona rural do município de São Geraldo da Piedade, no estado de Minas Gerais, Brasil.

Em 2015, o paciente procurou o setor de dermatologia da Policlínica Central Municipal de Governador Valadares, que o encaminhou para tratamento no Centro de Referência em Doenças Endêmicas e Programas Especiais Dr. Alexandre Castelo Branco (CREDEN-PES), localizado também em Governador Valadares, no estado de Minas Gerais, onde foi realizada baciloscopia de raspado dérmico com índice baciloscópico (IB) igual a 0, bem como exame histopatológico com resultado sugestivo de hanseníase tuberculoide (MHT). Esses procedimentos foram complementados por exames bioquímicos que apresentaram os seguintes valores: glicose 317 mg/dL, triglicérides 236 mg/dL, TGP 57 U/L e presença de oxalato de cálcio na urina. Entretanto, o paciente não aderiu ao tratamento para hanseníase.

Em 2017, retornou ao CREDEN-PES, no qual foi examinado e coletado material para baciloscopia (lobo auricular direito, lobo auricular esquerdo, cotovelo direito e lesão) e para qPCR. O resultado do IB foi 0 e a qPCR para o gene *Specific Repetitive Element* (RLEP) foi positiva (*cycle threshold* 24,7). Após o diagnóstico de hanseníase, o paciente foi encaminhado para tratamento no município de origem, aderindo apenas a duas doses de poliquimioterapia multibacilar (PQT-MB).

Em 2021, o indivíduo buscou novamente o CREDEN-PES com o propósito de realizar novas avaliações. Conseqüentemente, exibindo um resultado de IB = 1,5, bem como diminuição da sensibilidade ao nylon roxo (estesiômetro) em ambas as regiões plantares. Dessa forma, iniciou o tratamento com poliquimioterapia única (PQT-U).

Já em 2023, atendendo a uma demanda do serviço para reavaliação de alguns pacientes como controle de qualidade, o referido caso foi selecionado, e ao contatá-lo, verificou-se que ele havia se mudado para o estado do Paraná. Nessa abordagem, o paciente relatou o seguinte quadro: estado de saúde regular, com alteração de equilíbrio, quedas frequentes pela perda de força nos joelhos, pele bastante ressecada e edema no lobo posterior auricular.

A figuras 1A, 1B e 1C apresentam imagens referentes ao estado atual do paciente com foco nos locais em que as lesões eram mais aparentes.

O acompanhamento desse paciente reforçou a importância da introdução da qPCR nos exames de diagnóstico da hanseníase. O fato da baciloscopia de raspado dérmico ter apresentado um resultado negativo em 2015 e 2017 (fases iniciais da doença) se contrapôs à reação de qPCR positiva na amostra de raspado dérmico em 2017. Esse dado vem ao encontro dos artigos publicados pelo Núcleo de Pesquisa em Hansenologia (NuPqHans) da Universidade Federal de Juiz de Fora⁶⁻⁸, bem como por outros autores⁹⁻¹¹. Vale ressaltar que 25% dos pacientes paucibacilar (PB) apresentaram DNA de *M. leprae* em amostra de raspado dérmico ou de sangue, enquanto no grupo multibacilar (MB) a qPCR foi positiva para 69,6% dos pacientes e baciloscopia positiva em 56,5%. Verificou-se que 48,8% de todas as amostras investigadas foram positivas para DNA de *M. leprae*, contrastando com apenas 30,2% de resultados positivos para a baciloscopia⁶.

Notavelmente, nesse relato de caso, observou-se que somente em 2021 o IB do raspado dérmico do paciente apresentou um resultado de 1,5, assim confirmando hanseníase multibacilar.

Figura 1 – A) Região auricular com aspecto alterado. B) Apresenta pele ressecada e marcas de cicatrizes de nódulos. C) Observa-se um infiltrado no lobo da orelha.



Fonte: Elaborado pelos autores.

CONCLUSÃO

A utilização da reação qPCR nas ações de busca ativa para diagnóstico precoce de hanseníase demonstrou a importância da aplicabilidade dessa ferramenta, especialmente, tratando-se de doença endêmica na região. Nesse sentido, portanto, reforça-se um atributo da saúde básica que aproxima as ações das intervenções.

Além disso, é importante realçar que o teste pode auxiliar os profissionais das unidades de saúde, que estão distantes dos centros de referência, no diagnóstico conclusivo da hanseníase, na identificação de possíveis casos antes mesmo do IB se tornar positivo.

A identificação de paciente MB, com a reação qPCR positiva, de fato, motivou a equipe a buscá-lo e acompanhá-lo durante o tratamento. Dessa forma, acredita-se que o uso de ferramentas laboratoriais auxilia no diagnóstico precoce da hanseníase, contribuindo assim, para o conceito zero hanseníase estabelecido pela Organização Mundial da Saúde.

APROVAÇÃO ÉTICA E CONSENTIMENTO INFORMADO: *o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Juiz de Fora, CAAE: 67528922.6.1001.5147*

CONFLITOS DE INTERESSE: *os autores informam que não há conflitos de interesse no presente artigo.*

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES: *Pinheiro MDS, Oliveira LBP e Fraga LAO contribuíram na concepção do estudo e delineamento do estudo. Pinheiro MDS, Vieira MP, Santos DCM, Oliveira LBP e Fraga LAO contribuíram na coleta de amostra, procedimento experimental, aquisição e análise de dados. Pinheiro MDS, Vieira MP, Santos DCM, Oliveira LBP, Fraga LAO e Castelo Branco A contribuíram na redação e revisão do manuscrito. Fraga LAO contribuiu na aquisição de financiamento. Castelo Branco A realizou avaliação médica do indivíduo do estudo. Todos os autores realizaram revisão crítica da redação do manuscrito.*

DISPONIBILIDADE DE DADOS E MATERIAL: *não aplicável.*

FONTES DE FINANCIAMENTO: *o estudo recebeu suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).*

PREPRINT: *não aplicável*



REFERÊNCIAS

1. Scollard DM, Adams LB, Gillis TP, Krahenbuhl JL, Truman RW, Williams DL. The continuing challenges of leprosy. *Clinical Microbiology Reviews*. 2006;19(2):338-81. doi: <https://doi.org/10.1128/cmr.19.2.338-381.2006>.
2. Leite MLC, Miranda MCR, Pugedo AC, Grossi MAF, Ramalho KC, Costa JV. Situação epidemiológica da hanseníase Minas Gerais – municípios silenciosos – 2009-2018. 10º Simpósio Brasileiro de Hansenologia. *Hansen Int*. 2019;44(Suppl.1):e-2684. doi: <https://doi.org/10.47878/hansenologia.2019.v44.34050>.
3. Minas Gerais (Estado). Plano Estadual de Saúde 2020-2023. Belo Horizonte: Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais; 2020. [citado em 20 fev. 2023]. Disponível em: https://www.saude.mg.gov.br/images/1_noticias/09_2021/01_jan-fev-marc/08-02-Plano-Estadual-de-Saude%20de-Minas-Gerais%20%202020-2023.pdf.
4. Kang TJ, Kim SK, Lee SB, Chae GT, Kim JP. Comparison of two different PCR amplification products (the 18-kDa protein gene vs. RLEP repetitive sequence) in the diagnosis of *Mycobacterium leprae*: PCR for diagnosis of *M. leprae*. *Clinical and Experimental Dermatology*. 2003;28(4):420-4. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2230.2003.01300.x>.
5. Goulart IMB, Goulart LR. Leprosy: diagnostic and control challenges for a worldwide disease. *Archives of Dermatological Research*. 2008;300(6):269-90. doi: <https://doi.org/10.1007/s00403-008-0857-y>.
6. Gama RS, Gomides TAR, Gama CFM, Moreira SJM, Manta FSN, Oliveira LBP, et al. High frequency of *M. leprae* DNA detection in asymptomatic household contacts; *BMC Infectious Diseases*. 2018;18(153):1-6. doi: <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3056-2>.
7. Gama RS, Souza MLM, Sarno EN, Moraes MO, Gonçalves A, Stefani MMA, et al. A novel integrated molecular and serological analysis method to predict new cases of leprosy amongst household contacts. *PLoS. Negl. Trop. Dis*. 2019;13(6):e0007400. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007400>.



8. Pinheiro MDS, Oliveira NG, Santos DCM, Leite HM, Baptista IMFD, Fairley JK, et al. Impact of qPCR on the diagnostic evaluation of individuals with suspected leprosy. *Research, Society, and Development*. 2023;12(3):e13312340549. doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i3.40549>.
9. Martinez AN, Britto CFPC, Nery JAC, Sampaio EP, Jardim MR, Sarno EN, et al. Evaluation of real-time and conventional PCR targeting complex 85 genes for detection of *Mycobacterium leprae* DNA in skin biopsy samples from patients diagnosed with leprosy. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006;44(9):3154-9. doi: <https://doi.org/10.1128/jcm.02250-05>.
10. Martinez AN, Lahiri R, Pittman TL, Scollard D, Truman R, Moraes MO, et al. Molecular determination of *Mycobacterium leprae* viability by use of real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 2009;47(7):2124-30. doi: <https://doi.org/10.1128/jcm.00512-09>.
11. FIOCRUZ [Internet]. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2021. [atualizado em 21 set. 2021; citado em 30 dez. 2023]. Menezes M. Fiocruz cria teste molecular para hanseníase inédito no Brasil. [aproximadamente 1 página]. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/fiocruz-cria-teste-molecular-para-hanseníase-inedito-no-brasil>.

