

JAISON ANTÔNIO BARRETO

**Avaliação de pacientes com hanseníase na faixa
virchowiana diagnosticados entre 1990 e 2000 e tratados
com poliquimioterapia 24 doses e seus comunicantes na
fase de pós-eliminação em municípios de Santa Catarina**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de Dermatologia

Orientadora: Profa. Dra. Cacilda da Silva Souza

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 5890, de 03 de outubro de 2011.
A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

São Paulo

2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Barreto, Jaison Antônio

Avaliação de pacientes com hanseníase na faixa virchowiana diagnosticados entre 1990 e 2000 tratados com poliquioterapia 24 doses e seus comunicantes na fase de pós-eliminação em municípios de Santa Catarina / Jaison Antônio Barreto. -- São Paulo, 2011.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Dermatologia.

Orientadora: Cacilda da Silva Souza.

Descritores: 1.Hanseníase/terapia 2.Testes sorológicos 3.Recidiva 4.Antígeno de Mitsuda 5.Reação da polimerase em cadeia 6.Sítios de seqüências rotuladas 7.Mycobacterium leprae/isolamento e purificação 8.Busca de comunicante

USP/FM/DBD-227/11

Agradecimentos Especiais

Ao Dr. Diltor Vladimir Araújo Opromolla, *in memoriam*, exemplo de dedicação, amor e respeito pelos pacientes; amigo incondicional, mestre paciente, pesquisador incansável, cuja luta contra a hanseníase tornou este mundo melhor.

Ao Dr. Raul Negrão Fleury, por iniciar-me na Dermatopatologia e assim aumentar sobremaneira meu conhecimento em Medicina.

À minha orientadora, Profa. Dra. Cacilda da Silva Souza, por acreditar em minha capacidade, pela paciência e desprendimento em ensinar, e pelo amor pela Hansenologia, área tão esquecida da Medicina.

Ao meu amigo Manfred Göbel, representante da Associação Alemã de Assistência aos Hansenianos e Tuberculosos - DAHW no estado do Mato Grosso, instituição que por muitos anos auxiliou na luta contra a hanseníase no estado de Santa Catarina, e que financiou quase todo este trabalho.

Agradecimentos

A Deus, que me deu a vida e tudo o que tenho.

Às Equipes Técnicas de Imunologia, Microbiologia, Patologia, Farmacologia, em especial às Pesquisadoras Científicas: Dra. Esther, Dra. Patrícia, Dra. Andréa, Dra. Vânia, Dra. Ida, Pesquisadoras Msc Fabiana e Suzana, Dr. Dejair, pelo auxílio na coleta, processamento do material e orientação dos procedimentos técnicos.

À Coordenação de Controle de Hanseníase e Tuberculose do Estado de Santa Catarina, pelo apoio e suporte logístico.

Às Secretarias Municipais de Saúde de Joinville e Itajaí, e aos funcionários das Unidades de referência destes municípios, pelo apoio e boa vontade na participação deste projeto.

À Enfermeira Rita S. Camello, pelo auxílio na logística e na seleção e triagem dos pacientes.

À Seção Técnica de Patologia e Microbiologia, pelo auxílio na confecção das lâminas deste trabalho.

Ao Dr. Marcos da Cunha Lopes Virmond, Diretor Técnico do ILSL, que permitiu a realização deste projeto na Instituição.

Ao bibliotecário Rafael, que sempre me atendeu com boa vontade e prontidão, disponibilizando artigos.

Às funcionárias da biblioteca do Instituto Lauro de Souza Lima.

Aos pacientes, que forneceram material biológico para a realização deste estudo.

À Sra. Eli, sempre prestativa e com infinita paciência para auxiliar os pós-graduandos da Dermatologia do HC-USP, com dedicação e prontidão para ajudar na resolução dos problemas à distância.

Epígrafe

“Observei o conjunto da obra de Deus e percebi que o homem não consegue descobrir tudo o que acontece debaixo do sol. Por mais que o homem afadigue-se em pesquisar, não chega a compreendê-la. E mesmo que o sábio diga que a conhece, nem por isso é capaz de entendê-la”.

Eclesiastes 8, 17

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de abreviaturas e Siglas

Lista de símbolos

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Summary

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 1 |
| 1.1 | Epidemiologia da hanseníase | 2 |
| 1.1.1 | A poliquimioterapia (PQT/OMS) e o conceito de eliminação da hanseníase | 2 |
| 1.1.2 | A poliquimioterapia (PQT/OMS) e a dicotomia prevalência / incidência..... | 5 |
| 1.1.3 | A situação da hanseníase em Santa Catarina..... | 10 |
| 1.2 | O papel dos exames complementares no diagnóstico e manuseio da hanseníase..... | 13 |
| 1.2.1 | A reação de Mitsuda e sua correlação com a forma clínica e vacinação BCG | 18 |
| 1.2.2 | O papel da sorologia na hanseníase | 19 |
| 1.3 | Deteção do bacilo por técnica de polimerase em cadeia (PCR) | 22 |
| 1.4 | Recidiva e resistência à terapêutica..... | 26 |
| 1.4.1 | A questão da redução do tempo de duração da PQT | 26 |
| 1.4.2 | Reativação da doença: recidiva, resistência ou reinfecção? | 27 |
| 1.4.3 | Ensaio laboratoriais na reativação da hanseníase..... | 32 |
| 1.5 | Hanseníase e gênero..... | 39 |
| 1.6 | Hanseníase e desigualdade sócio-cultural..... | 40 |
| 1.7 | Hanseníase em contatos intradomiciliares de virchowianos | 41 |
| 1.8 | Hanseníase e idade | 43 |
| 1.9 | Hanseníase e migração | 45 |
| 2 | OBJETIVOS | 47 |
| 3 | MÉTODOS..... | 51 |
| 3.1 | Delineamento do estudo | 52 |
| 3.2 | População | 53 |
| 3.3 | Locais da realização do estudo..... | 53 |
| 3.4 | Amostragens, amostras e métodos de seleção | 54 |
| 3.4.1 | Seleção de municípios e levantamento dos registros dos pacientes virchowianos e contatos | 54 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 3.4.2 | Caracterização dos serviços de saúde na assistência aos portadores de Hanseníase do estado de Santa Catarina e os municípios selecionados..... | 55 |
| 3.4.3 | Seleção dos pacientes e método de convocação para participação no estudo | 55 |
| 3.4.4 | Critérios de inclusão e exclusão nos grupos de estudo..... | 57 |
| 3.4.5 | Procedimentos da avaliação clínica, laboratorial e epidemiológica dos pacientes tratados e dos seus contatos..... | 58 |
| 3.5 | Procedimentos: coleta das amostras e ensaios..... | 60 |
| 3.5.1 | Biópsias cutâneas | 60 |
| 3.5.2 | Ensaio para a pesquisa de resistência bacilar: inoculação na pata de camundongo..... | 60 |
| 3.5.3 | Pesquisa de bacilos nos esfregaços nasais e do raspado dérmico..... | 62 |
| 3.5.4 | Extração e amplificação de fragmentos do DNA de M. leprae da secreção nasal | 63 |
| 3.5.5 | Reação intradérmica de Mitsuda..... | 64 |
| 3.5.6 | Quantificação dos níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I (ND-O-BSA) pela técnica imunoenzimática (ELISA) | 65 |
| 3.6 | Análise estatística | 67 |
| 3.7 | Aspectos legais de bioética, biossegurança, expedições científicas, propriedade intelectual e outras determinações pertinentes..... | 68 |
| 4 | RESULTADOS..... | 69 |
| 4.1 | Caracterização geral dos grupos de estudo | 70 |
| 4.2 | Grupo dos casos índices (CI) | 71 |
| 4.3 | Grupo dos contatos intradomiciliares (CID) | 82 |
| 4.3.1 | Grupo dos contatos intradomiciliares sadios (CIDs)..... | 83 |
| 4.3.2 | Grupo dos contatos intradomiciliares acometidos pela doença (CIDd) | 84 |
| 4.4 | Comparação dos indivíduos da amostra distribuídos segundo condições da doença e do tratamento..... | 87 |
| 4.5 | Resultados do ensaio PCR para RLEP-130/372 nas famílias | 90 |
| 4.6 | Avaliação das variáveis sócio-econômicas dos grupos de estudo | 93 |
| 5 | DISCUSSÃO | 97 |
| 6 | CONCLUSÕES..... | 119 |
| 7 | ANEXOS | 125 |
| 8 | REFERÊNCIAS..... | 139 |

Lista de abreviaturas e siglas

BAAR – bacilo álcool-ácido resistente

BALB/c – linhagem de camundongos albinos imunocompetentes

BCG - bacilo de Calmette-Guérin

BSA – albumina sérica bovina

CFZ - clofazimina

DDS - dapsona

DNA – ácido desoxirribonucléico

DNDS – Departamento Nacional de Dermatologia Sanitária

dNTP – desoxiribonucleosídeo trifosfato

EDTA – ácido etileno-diamino-tetracético

ELISA – enzima-imunoensaio

EUA – Estados Unidos da América

foP1 – gene relacionado à resistência à dapsona

GIF – grau de incapacidade física relacionado à hanseníase

gyrA – gene relacionado à resistência às quinolonas

IgM – imunoglobulina classe M

ILSL – Instituto Lauro de Souza Lima

kDa – quilodalton

HD – hanseníase dimorfa

HDT – hanseníase dimorfa-tuberculóide

HT – hanseníase tuberculóide

HV – hanseníase virchowiana

MB - multibacilar

M. leprae - *Mycobacterium leprae*

ND-O-BSA - glicolípídeo fenólico 1 dissacarídeo natural ligado à albumina sérica bovina por meio de um grupo octil

NGS - soro normal de cabra

NRAMP – proteína macrofágica associada à resistência natural

OMS – Organização Mundial da Saúde

OPD - ortofenilenodiamina

PABA – ácido para-amino-benzóico

PB - paucibacilar

PBS – salina tamponada com fosfato

PBST – PBS adicionado a Tween 20

PCR – reação de polimerase em cadeia

PGL-I – glicolípídeo fenólico-I

PQT - poliquimioterapia

PQT-MB – poliquimioterapia para multibacilar

RFP - rifampicina

RLEP-130 – sequência repetitiva específica do *M. leprae* contendo 130 pares de bases

RLEP-372 - sequência repetitiva específica do *M. leprae* contendo 372 pares de bases

rpoB – gene relacionado à resistência à rifampicina

SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação

TBE – Tris-EDTA-ácido bórico

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TE – Tris-EDTA

WHO – World Health Organization

Lista de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1- Tendência do coeficiente de detecção de casos novos de hanseníase por 100.000 habitantes, no Brasil e por regiões; valores observados e preditos, 1980-2000. Fonte: Penna, MLF/MS, 2008 | 6 |
| Figura 2- Comparação do coeficiente de detecção de hanseníase no Brasil, região sul e Santa Catarina, 1990 a 2008. Fonte: SINAN/SVS-MS..... | 12 |
| Figura 3- Indicadores epidemiológicos e operacionais de hanseníase, Santa Catarina, 2001 a 2008. Fonte: SINAN/SVS-MS..... | 12 |
| Figura 4- Hanseníase virchowiana em regressão (caso # 78)..... | 76 |
| Figura 5- Hanseníase virchowiana em regressão (caso # 146)..... | 76 |
| Figura 6- Hanseníase virchowiana residual (caso # 35)..... | 77 |
| Figura 7- Hanseníase tuberculóide (caso # 10)..... | 77 |
| Figura 8- Níveis de anticorpos da classe IgM anti-PGL-I de casos índices (CI), tratados com PQT-MB e diagnosticados entre 1990 e 2000 em Joinville e Itajaí-SC, em acordo com o tempo decorrido do diagnóstico..... | 82 |

Lista de tabelas

- Tabela 1-** Características dos contatos intradomiciliares clinicamente saudáveis (CIDs), contatos intradomiciliares acometidos pela doença (CIDd) e seus respectivos casos-índices (CI) multibacilares, tratados com PQT-MB e diagnosticados entre 1990 e 2000 em Joinville e Itajaí, Santa Catarina 72
- Tabela 2-** Resultados dos exames laboratoriais dos casos-índices (CI) multibacilares tratados com PQT-MB com suspeita de recidiva da hanseníase, diagnosticados entre 1990 e 2000 em Itajaí e Joinville-SC..... 78
- Tabela 3-** Resultados dos exames laboratoriais dos casos-índices (CI) tratados com regime monoterápico (DDS), ou DNDS prévio, e 24 doses de PQT-MB, diagnosticados entre 1990 e 2000 em Itajaí e Joinville-SC..... 79
- Tabela 5-** Aspectos clínicos e laboratoriais dos casos novos (CN) detectados entre os comunicantes intradomiciliares (CID) dos casos-índices (CI), tratados com PQT-MB e diagnosticados entre 1990 e 2000 em Itajaí e Joinville-SC 86
- Tabela 6-** Resultados dos testes laboratoriais dos contatos intradomiciliares clinicamente saudáveis (CIDs), contatos intradomiciliares acometidos pela doença (CIDd) e seus respectivos casos índices (CI) tratados com PQT-MB entre 1990 e 2000, em Itajaí e Joinville-SC, agrupados por categorias 89
- Tabela 7-** Resultados dos testes laboratoriais (anti-PGL-I, RLEP-130 e RLEP-372) dos casos-índices (CI) e seus respectivos contatos intradomiciliares clinicamente saudáveis (CIDs), agrupados por famílias (n=13) COM contatos intradomiciliares afetados e registrados entre 1990-2008..... 91
- Tabela 8-** Resultados dos testes laboratoriais (anti-PGL-I, RLEP 130 e RLEP 372) dos casos índices (CI) e seus respectivos contatos intradomiciliares clinicamente saudáveis (CIDs), agrupados por famílias (n=22), SEM contatos afetados registrados entre 1990-2008* 92
- Tabela 9-** Condições culturais, econômicas e sanitárias dos casos-índices (CI), tratados entre 1990 e 2000 em municípios de Santa Catarina, seus contatos intradomiciliares saudáveis (CIDs) e contatos intradomiciliares acometidos pela doença (CIDd) 94
- Tabela 10-** Condições habitacionais dos casos índices (CI), contatos intradomiciliares saudáveis (CIDs) e contatos intradomiciliares acometidos pela doença (CIDd) 94

Resumo

Barreto JA. *Avaliação de pacientes com hanseníase na faixa virchowiana diagnosticados entre 1990 e 2000 e tratados com poliquimioterapia 24 doses e seus comunicantes na fase de pós-eliminação em municípios de Santa Catarina* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011. 164p.

INTRODUÇÃO: A poliquimioterapia (PQT-OMS) para tratamento da hanseníase resultou em drástica redução da sua prevalência, mas em limitado impacto na detecção de casos novos (CN), que se manteve estável em Santa Catarina, estado na fase de pós-eliminação. Casos com altos índices baciloscópicos apresentam risco de recidiva tardia e podem consistir em focos persistentes de transmissão da doença. **OBJETIVOS:** Avaliar a recidiva da doença em amostra de pacientes virchowianos regularmente tratados com PQT-OMS 24 doses; ensaios de resistência terapêutica em camundongos para os casos suspeitos; resposta imune específica (celular e humoral) e detecção do DNA do *M. leprae* nos casos-índices (CI) e seus contatos indradomiciliares (CID); e os achados frente aos indicadores epidemiológicos e operacionais de Santa Catarina. **CASUÍSTICA E MÉTODOS:** A partir da busca no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), foram selecionados 46 CI, tratados entre 1990-2000, e 187 CID, dos municípios de Itajaí e Joinville. A avaliação constituiu de: exames dermatoneurológico e anatomopatológico da pele; baciloscopia do esfregaço cutâneo; reação de Mitsuda; sorologia para glicolípido fenólico-I (IgM-anti-PGL-I); ensaios de resistência terapêutica em camundongos e de detecção do DNA bacilar no muco nasal por reação em cadeia da polimerase (PCR) para as seqüências repetitivas específicas RLEP-130 e RLEP-372. **RESULTADOS:** Entre os CI após alta por cura ($m=11,2 \pm 3$ anos), a idade média ($57,3 \pm 14,5$ anos) foi superior ($p<0,05$) comparada aos CID, com predomínio de homens ($p=0,001$) e Mitsuda-negativos (78,6%). Em quatro casos (8,7%) considerados recidivados, o valor sérico médio (0,365) e as freqüências da positividade do anti-PGL-I e a da RLEP-130 (75%; $p=0,03$) foram consistentemente elevados, e os testes em camundongos, negativos. Dentre os 187 CID, 22 (11,8%) adoeceram (CIDd), a maioria (10 casos; 45,4%) foi diagnosticada entre 2 a 19 anos; 6 casos (27,3%), no mesmo período do seu respectivo CI; e 6 CN (3 dimorfo-tuberculóides e 3 tuberculóides) foram detectados durante a intervenção. Os CN evidenciaram elevada freqüência da positividade da RLEP-130 (50%) contrastante com a do anti-PGL-I (20%) e seu valor sérico médio (0,075) inferior. Entre os CI após a alta PQT-MB (>10 anos), houve inferioridade da freqüência da positividade (14,3%) e do valor sérico médio do anti-PGL-I (0,072), estabelecendo uma correlação negativa ($p=0,038, r=-0,32$) com o tempo decorrido. Valores similares da freqüência de positividade para RLEP-130 foram encontrados em: CI com alta por cura (26,7%), em períodos superiores (25%) a 10 anos de conclusão do tratamento e CID saudáveis (20,5%). A positividade para a RLEP-130 foi mais freqüente ($p<0,001$)

comparada à da RLEP-372. CONCLUSÕES: A taxa de recidiva após PQT-MB 24 doses é baixa e prevalece alta percentagem de cura (91,3%). É racional considerar que o anti-PGL-I e a detecção do DNA bacilar por RLEP-130 devam ser analisados em conjunto com os demais achados clínicos e laboratoriais, ainda que nossos resultados possam ter diferenciado os grupos nas distintas condições: recidiva e alta por cura, e identificado doentes, contatos e famílias em risco. O seguimento e o monitoramento clínico e laboratorial por períodos prolongados incrementariam a detecção precoce de novos casos entre os comunicantes, desde que o intervalo para o diagnóstico foi longo para a maioria daqueles que adoeceram. Estas estratégias seriam potencialmente facilitadas em áreas com reduzida prevalência, e particularmente valiosas para a manutenção do controle na fase de pós-eliminação.

Descritores: 1.Hanseníase/ terapia 2.Testes sorológicos 3.Recidiva
4.Antígeno de Mitsuda 5.Reação da polimerase em cadeia 6.Sítios de seqüências rotuladas 7.Mycobacterium leprae/ isolamento e purificação
8.Busca de comunicante

Summary

Barreto JA. *Assessment of lepromatous leprosy patients diagnosed among 1990 and 2000 and treated with multidrugtherapy 24 doses and their household contacts in the post-elimination phase in Santa Catarina municipalities* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2011. 164p.

Introduction: Multidrugtherapy (MDT-WHO) resulted in marked reduction of leprosy prevalence in Brazil, without impact on detection of new cases in Santa Catarina (SC) state in the post-elimination phase. Lepromatous cases with high bacilloscopic index have late relapse risk and can consist in the disease transmission focus. **Objectives:** The aim of this study was to evaluate the disease recurrence and microbiological resistance in lepromatous leprosy patients regularly treated with MDT-WHO/24 doses; specific immune response (cellular and humoral) and *M. leprae* DNA detection in index cases (IC) and their household contacts (HHC); and the findings face to the epidemiological and operational indicators of Santa Catarina state. **Casuistic and methods:** After consulting the Brazilian Information System of Notification (SINAN) database, 46 IC successfully diagnosed and treated between 1990 and 2000, and their 187 HHC from Joinville and Itajaí (SC) municipalities were selected. A dermatoneurological examination was performed, as well as the skin biopsies for histopathology and therapy resistance assay in mouse pads, skin smears for bacilloscopy, anti-PGL-I IgM serology, Mitsuda reaction, polymerase chain reaction for *M. leprae* DNA detection in nasal secretion based on 130bp and 372bp specific repetitive sequences (RLEP). **Results:** Cured IC ($m=11.2\pm 3$ years) had mean age higher (57.3 ± 14.5 years old; $p<0.05$) than HHC, most of them were males ($p=0.001$) and Mitsuda negative (78.6%). In 4 relapsed cases (8.7%) the average anti-PGL-I serum levels (0.365), as well as frequency of positive antibody and RLEP-130 (75%; $p=0.03$) were consistently high and the mouse footpads assays resulted negative. Among 187 HHC, 22 (11.8%) became sick (sHHC), 10 cases (45.4%) were diagnosed between 2 and 19 years, being 6 cases (27.3%) in the same year of their IC; 6 new cases (3 borderline-tuberculoid and 3 tuberculoid) were detected during the study, with high RLEP-130 positive frequency (50%), as opposed to anti-PGL-I (20%) and low average serum levels (0.075). Among IC with more than 10 years of discharge, frequency of positive anti-PGL-I (14.3%) and average serum levels (0.072) were lower and had negative correlation ($p=0.038$, $r= -0.32$) with time after cure. Similar values of frequency of positivity for RLEP-130 were found: IC with discharge by cure (26.7%), when time interval was higher than 10 years (25%) and in healthy HHC (20.5%). RLEP-130 positivity was more frequent ($p<0.001$) than RLEP-372. **Conclusions:** Relapse rate after MDT-WHO 24 doses was low, with high cure rate (91.3%). Serology anti-PGL-I and *M. leprae* DNA detection by RLEP-130 must be analyzed together with other clinical and laboratory findings, though our results had differentiated groups in the following conditions: relapse and discharge by

cure, patient identification, HHC and families at risk. Long term follow-up with laboratorial and clinical monitoring could lead to early detection of new cases among HHC, since the period between diagnoses was long for most sHHC. This strategy may be useful in areas with decreased prevalence, and of particular value for maintenance of disease control in the post-elimination phase.

Descriptors: 1.Leprosy/ therapy 2.Serologic tests 3.Relapse 4.Lepromin 5.Polimerase chain reaction 6.Sequence tagged sites 7.Mycobacterium leprae/ isolation & purification 8.Contact tracing

1 INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia da hanseníase

1.1.1 A poliquimioterapia (PQT/OMS) e o conceito de eliminação da hanseníase

A hanseníase, doença infectocontagiosa causada pelo *Mycobacterium leprae*, já afetou mais de 15 milhões de pessoas em todo o mundo. Apesar da redução global da prevalência da doença, aproximadamente 240.000 casos novos foram detectados em 2009 (WHO, 2010b), e alguns países, incluído o Brasil, mantêm regiões e aglomerações com elevada endemicidade (WHO, 2010b; Narain et al., 2010). Segundo modelos matemáticos para projeções futuras, em 2020 aproximadamente um milhão de pessoas estará portando o grau 2 de incapacidade decorrente da hanseníase (Richardus e Habbema, 2007).

Já na década de 70, o problema epidemiológico representado pela hanseníase exigiu enfoque mais abrangente dos seus programas de controle, que culminou com a indicação de um novo regime de tratamento multimedamentoso, a poliquimioterapia (PQT) proposta pela Organização Mundial de Saúde (OMS), em 1981 (WHO, 1982).

Desde então, a PQT passou a se constituir em uma das principais estratégias do programa mundial de controle da hanseníase. O seu sucesso permitiu a instituição do conceito da alta por cura após regimes fixos de tratamento. Por conseguinte, em 1991, a Assembléia Mundial da Saúde

estabeleceu a meta de eliminação da hanseníase como problema de saúde pública (WHO, 1991), comprometendo os governos dos países signatários a concentrar esforços a atingir os níveis de prevalência global com menos de um doente com hanseníase por 10.000 habitantes.

A sucessiva implantação e a expansão das taxas de cobertura da PQT proporcionaram drástica redução da prevalência global (WHO, 1995; WHO, 2009). Com a redução dos níveis de prevalência da ordem de 90% e o índice global a menos de um doente por 10.000 habitantes, a meta da eliminação da hanseníase como problema de saúde pública, como previamente estabelecido foi atingida no ano 2000 (WHO, 2004). Apesar do sucesso da PQT em promover a alta por cura de milhões de pacientes, a queda progressiva da prevalência não foi acompanhada pela redução da detecção de casos novos, que persiste elevada ou mantida em aglomerações de alguns países e territórios; atualmente, dezesseis países são detentores de 95% dos casos novos detectados no mundo (WHO, 2005; WHO, 2009; WHO, 2010b).

A idéia da eliminação foi baseada na hipótese de que a prevalência com menos de um caso por 10.000 habitantes proporcionaria a interrupção da transmissão da hanseníase na comunidade (Lockwood e Suneetha, 2005). No entanto, a hanseníase possui um longo período de incubação, variando de dois até 20 anos, e doentes diagnosticados podem ter transmitido sua doença para familiares ou na comunidade muito antes da sua doença ter sido detectada. Por conseguinte, o controle da hanseníase baseado exclusivamente nas taxas de prevalência tem sido criticamente

reavaliado (Meima et al., 2004; Lockwood e Suneetha, 2005; Richardus e Habbema, 2007). Ainda, muitos passaram a questionar acerca da falha na efetiva interrupção da cadeia de transmissão como resultado da PQT, decorrente do longo período de incubação da doença (Hatta et al., 1995; Almeida et al., 2004; Meima et al., 2004; Richardus e Habbema, 2007).

A prevalência da doença é medida pelo registro de pacientes recebendo tratamento em definido momento e expressam a razão utilizando a população como denominador. Portanto, a prevalência é afetada pelos aspectos operacionais, como o período de tratamento. O quadro é diferente quando a taxa de detecção de casos novos é empregada ao invés da taxa de prevalência. A detecção de casos novos é o melhor indicador por não ser afetado pela mudança da definição de caso ou duração do tratamento (Lockwood e Suneetha, 2005).

Em acordo com recomendações da OMS, outros parâmetros como o número de casos novos detectados, de multibacilares, entre mulheres e crianças e aqueles com grau 2 de incapacidade durante o ano deverão ser monitorados como parte da estratégia global; o perfil dos casos novos será um dos principais indicadores usados para avaliar o progresso e a qualidade do controle das atividades, juntamente com as taxas de compleição do tratamento e altas por cura (WHO, 2006).

1.1.2 A poliquimioterapia (PQT/OMS) e a dicotomia prevalência / incidência

No Brasil, implantação da PQT foi progressiva a partir da experiência em área pilotos iniciada em 1982. Apenas em 1991, a Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária adotou e recomendou o regime PQT/OMS como o único para o tratamento da hanseníase (WHO, 2004). Seguido ao processo de implantação e de reorganização dos serviços, entre 1991-2001, a taxa de prevalência diminuiu em 75%. Entretanto, esta redução foi acompanhada da elevação das taxas de detecção, em particular nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste. A queda acentuada das taxas de prevalência do ano de 2004, justificada pelas mudanças dos critérios dos registros epidemiológicos (Figura 1), recebeu críticas e fortaleceu a tendência da valorização de outros parâmetros a serem considerados para a eliminação da hanseníase, como a taxa de detecção de casos novos, em particular, a detecção da doença em menores de 15 anos (WHO, 2006; Richardus e Habbema, 2007; Brasil, 2009b).

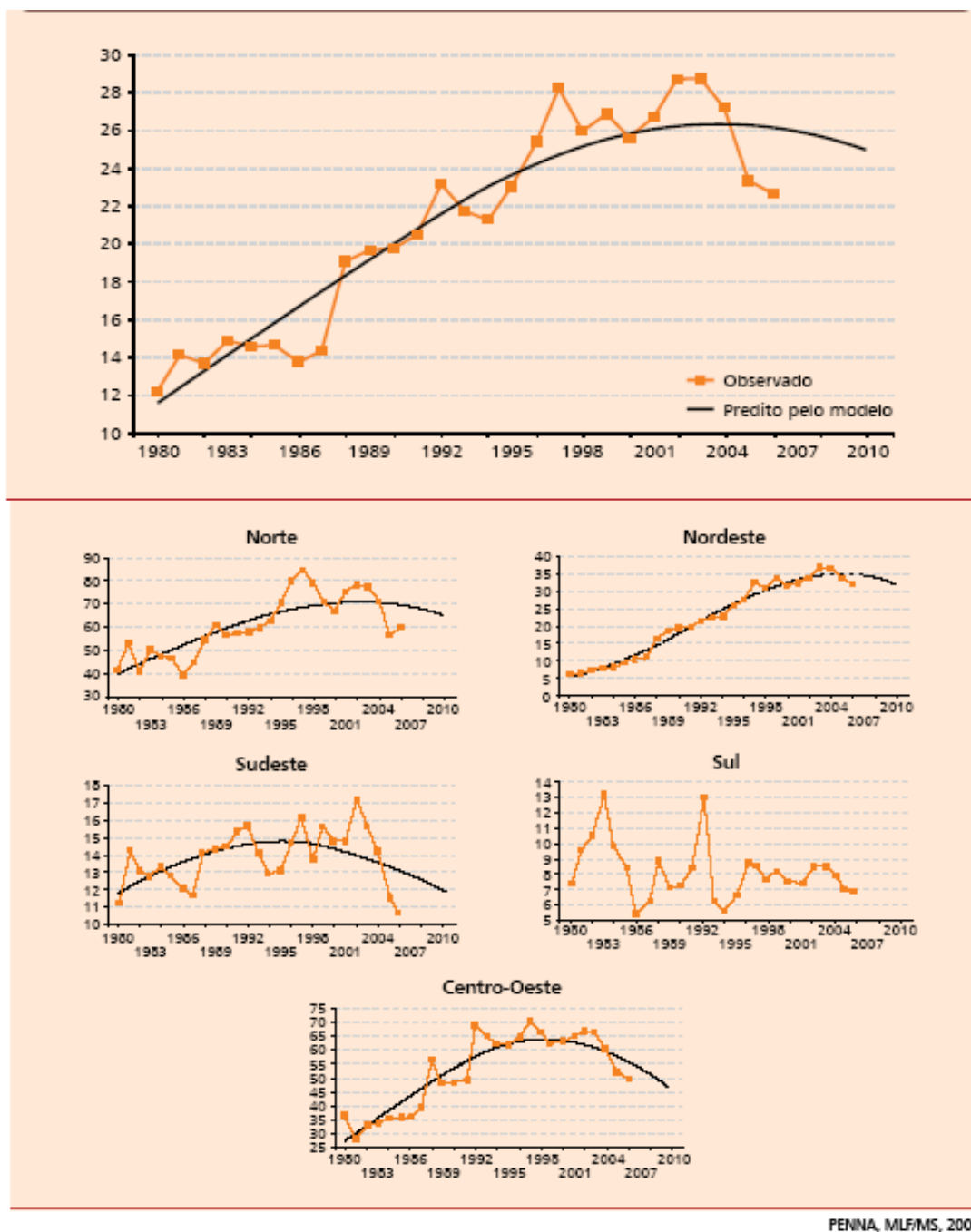


Figura 1- Tendência do coeficiente de detecção de casos novos de hanseníase por 100.000 habitantes, no Brasil e por regiões; valores observados e preditos, 1980-2000. Fonte: Penna, MLF/MS, 2008

Embora o aumento dos índices de detecção, observado no registro da série temporal dos últimos 20 anos no Brasil (Figura 1), possa ser justificado por todas as melhorias ocorridas na reorganização do programa de controle, como a descentralização do atendimento da pacientes com hanseníase, há outras considerações que devem ser feitas, como a participação de fatores sociais e biológicos, que explicariam ainda o atraso do sucesso da estratégia de eliminação (Meima et al, 2004; Richardus e Habbema, 2007). Entre estes, os mais relevantes são: a inexistência de vacina eficaz na prevenção da doença (Richardus e Habbema, 2007; van Brakel et al., 2010); o tempo de incubação assintomático e longo (Job, 1994; Opromolla 2000; Lockwood e Suneetha, 2005; Richardus e Habbema, 2007); lesões iniciais assintomáticas que dificultam o diagnóstico precoce, sobretudo em crianças e virchowianos iniciais (Opromolla e Ura, 2003; da Silva Souza e Bacha, 2003); dificuldades da comprovação laboratorial em algumas formas clínicas (Opromolla e Ura, 2003); populações-alvo, que são, em geral, economicamente desfavorecidas (Talhari e Neves, 1997; Opromolla, 2000; Lockwood e Suneetha 2005); dificuldades de acesso aos serviços de saúde e/ou a precariedade em recursos e preparo profissional (Talhari e Neves, 1997; da Silva Souza e Bacha, 2003); desconhecimento da população e dos profissionais da saúde acerca dos sinais / sintomas da doença (Cestari, 1990; da Silva Souza e Bacha, 2003; Alves et al., 2010); preconceito e estigma sobre o diagnóstico (Opromolla, 2002; Lockwood e Suneetha, 2005).

Neste contexto, considerando-se os valores da série do período 1994-2009, a tendência à redução dos coeficientes gerais de detecção tem sido

observada a partir de 2004, mas ainda em patamares muito altos em algumas regiões. O monitoramento dos valores dos coeficientes de detecção em menores de 15 anos indica tendência à redução a partir de 2006, o que consiste em prioridade da política atual de controle da hanseníase no país, por indicar focos de infecção ativos e transmissão recente (Brasil, 2009a; 2009c).

Desta forma, o Programa Nacional de Controle da Hanseníase (PNCH) comprometido com o controle da doença (WHO, 2008) tem privilegiado o monitoramento epidemiológico por meio do coeficiente de detecção de casos novos, em substituição ao indicador de prevalência pontual, optando ainda pela sua representação por 100.000 habitantes. O coeficiente de detecção de casos novos é função da incidência real de casos e da agilidade diagnóstica dos serviços de saúde. Os valores do indicador para o Brasil oscilaram entre 29,37/100.000 (muito alto), em 2003, a 19,64/100.000 (alto), em 2009. A comparação entre os coeficientes de casos novos na população geral e em menores de 15 anos permitiu observar semelhanças entre o comportamento evolutivo e a queda progressiva dos indicadores, em ambas as populações, ao final do período analisado. O valor do coeficiente de detecção em menores de 15 anos variou de 5,74/100.000 (muito alto), em 1994, a 8,28/100.000 (muito alto), em 1997, com tendência à redução nos últimos anos (Brasil, 2010a). Vale ressaltar que ao final do período, em 2009, os coeficientes de detecção de hanseníase por 100.000 habitantes, geral e em menores de 15 anos, foram representados pelos valores de 19,64 e 5,43, e ainda considerados como alto e muito alto, respectivamente (Brasil, 2010a).

Como anteriormente explícito, a detecção da doença em crianças, em mulheres, de casos novos multibacilares, e daqueles com grau 2 de incapacidade são indicadores que deverão ser monitorados (WHO, 2006) por indicarem real incidência, os focos de infecção ativos, a transmissão recente da doença e a agilidade diagnóstica dos serviços de saúde (Brasil, 2009a; 2009c).

Adicionalmente como estratégia, os programas de controle da hanseníase devem atingir níveis satisfatórios a elevados do exame de comunicantes. No entanto, o percentual de contatos examinados de casos novos entre os registrados no Brasil, período 2000 a 2009, variou de 43,8% (precário) a 67,9% (regular), sendo os percentuais mais elevados observados nas regiões Sul e Sudeste (Brasil, 2010b). É possível que posterior à notificação e ao longo do período de tratamento do caso-índice, os serviços aumentem os índices de exame dos comunicantes. Mas idealmente, o acompanhamento periódico dos comunicantes por períodos mais longos não tem sido incorporado na rotina. Há ainda escassos registros na literatura de estudos com seguimento após alta por cura, que em geral são por curtos períodos.

Muitos têm considerado enfaticamente que a redução da prevalência, na interpretação dos gestores de saúde possa implicar na realocação dos recursos para as demais prioridades, na centralização dos serviços de assistência especializada, e no desestímulo para reciclagem, e treinamento de recursos humanos (Hastings, 1998; Lockwood e Suneetha, 2005), fatores que dificultariam o acesso aos serviços de saúde, o diagnóstico e o tratamento precoces.

1.1.3 A situação da hanseníase em Santa Catarina

No Brasil, com a implantação das estratégias do programa de controle e revisão dos registros, o primeiro estado a atingir a eliminação da hanseníase como problema de saúde pública, já em 1995, foi o do Rio Grande do Sul.

No estado de Santa Catarina (SC), a prevalência de cerca de 250 hansenianos havia sido estimada em 1925; no entanto, registros oficiais contabilizaram 400 doentes em 1927. Seguindo a política nacional do isolamento compulsório, dez anos após, o estado constrói o Hospital Colônia Santa Tereza, para onde os pacientes eram enviados e tratados com BCG (Rowlterapia) e proibidos de se casarem (Borenstein et al., 2008). Em 1946, a prevalência da hanseníase neste estado era de 5 casos para cada 10 mil habitantes (Bechelli e Rotberg, 1956). Trinta e oito anos depois, em 1984, havia no registro ativo de 2551 casos de hanseníase, destes 63% eram multibacilares (dimorfos e virchowianos), e 172 constituíam em casos novos detectados (Bechelli, 1991).

Em 1991, a Secretaria da Saúde de SC implantou a PQT e realizou criteriosa análise e revisão dos arquivos. Como em todo o país, tais medidas auxiliaram na redução das taxas de prevalência da doença e, em 1997, SC tornou-se o segundo estado brasileiro a atingir a meta de eliminação da hanseníase como problema de saúde pública. Neste ano, constavam no registro ativo 453 portadores do agravo, representando o coeficiente de prevalência de 0,9 doentes para cada 10.000 habitantes (SES/SC, 2010).

Entretanto, a despeito da eliminação ter sido atingida, o número de casos novos detectados no estado, entre 2001 e 2008, manteve-se estável. Considerando-se os indicadores epidemiológicos e operacionais recomendados aos programas de controle, no mesmo período, o índice médio para detecção de casos novos por 100.000 habitantes foi de 3,74 (médio) e para detecção em menores de 15 anos de 0,36 (baixo). No último ano do período, 2008, SC havia registrado 205 novos casos da doença, com o coeficiente de detecção de 3,39/100.000 habitantes (Figuras 2 e 3), índice considerado médio (Brasil, 2009a). O percentual médio para o exame de contatos foi de 57% (regular), e o dos casos novos com grau de incapacidade física 2 (GIF2) de 10% (alto). Atualmente, dentre as 1735 unidades básicas de saúde do estado, apenas 294 unidades (17%) centralizam a assistência aos pacientes no programa de controle da hanseníase (Brasil, 2009b). Nos últimos 5 anos, entre 2006 e 2010, foram notificados 1028 casos novos, sendo que 1006 tiveram avaliação do grau de incapacidade descrita na ficha de notificação, e destes 464 (46,1%) tinham grau de incapacidade maior que zero (SES/SC, 2010).

Entre 1990 e 2000, os centros de referência regionais dos municípios de Joinville e Itajaí responderam pelo maior número de casos novos absolutos de hanseníase diagnosticados em SC. Em Joinville, foram notificados 113 casos novos no período, em sua maioria (89 casos; 78,8%) residentes no município. Distintamente em Itajaí, dos 145 casos novos notificados apenas 84 (57,9%) doentes eram residentes no município. Nestas duas referências regionais, entre os casos novos diagnosticados, 51,4% eram multibacilares, e 37,6% tinham GIF 1 (SES/SC 2010).

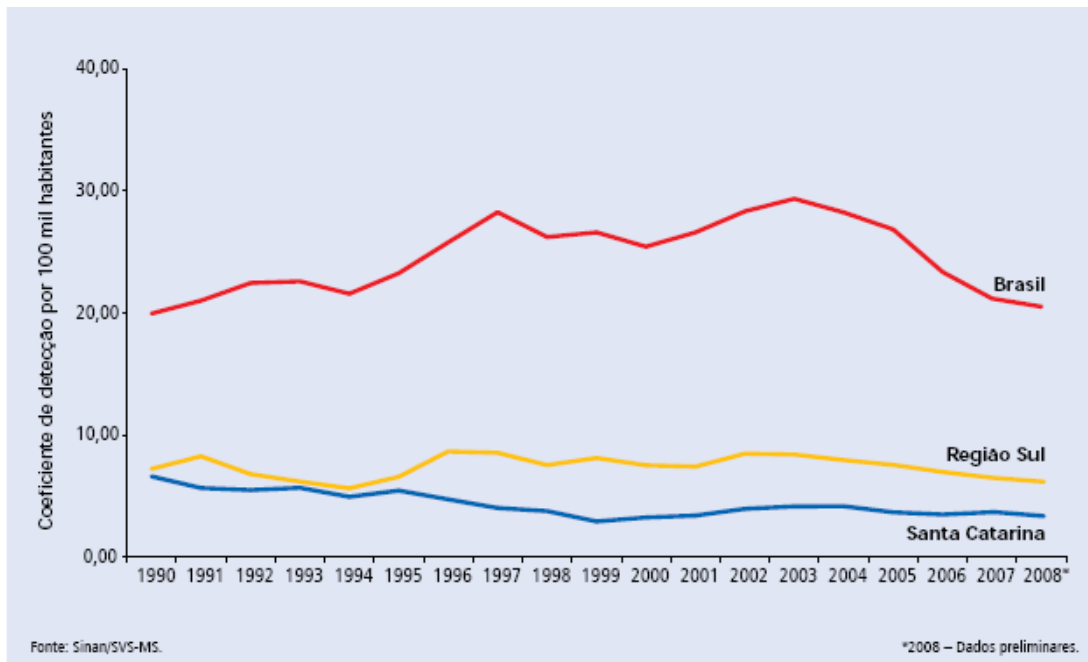


Figura 2- Comparação do coeficiente de detecção de hanseníase no Brasil, região sul e Santa Catarina, 1990 a 2008. Fonte: SINAN/SVS-MS

| Indicadores / Ano | Casos Novos 0 - 14 anos | Coeficiente Detecção 0 - 14 anos por 100 mil habitantes | Casos Novos Geral | Coeficiente Detecção Geral por 100 mil habitantes | % de avaliados quanto ao GIF no diagnóstico | % de pacientes com GIF 2 no diagnóstico | % de Avaliados quanto ao GIF na cura | % de Contatos Examinados | % de cura nas coortes |
|-------------------|-------------------------|---|-------------------|---|---|---|--------------------------------------|--------------------------|-----------------------|
| 2001 | 3 | 0,20 | 187 | 3,43 | 95,2 | 3,9 | 87,0 | 77,7 | 35,0 |
| 2002 | 7 | 0,45 | 220 | 3,98 | 91,4 | 8,5 | 77,8 | 33,6 | 25,0 |
| 2003 | 12 | 0,76 | 234 | 4,17 | 95,3 | 10,3 | 53,0 | 47,2 | 29,7 |
| 2004 | 7 | 0,44 | 238 | 4,19 | 97,5 | 9,5 | 64,4 | 56,6 | 62,5 |
| 2005 | 4 | 0,24 | 217 | 3,70 | 94,9 | 7,8 | 64,9 | 61,8 | 68,7 |
| 2006 | 3 | 0,18 | 209 | 3,51 | 96,7 | 10,9 | 70,4 | 47,7 | 95,3 |
| 2007 | 6 | 0,41 | 219 | 3,62 | 93,7 | 14,5 | 69,6 | 62,7 | 89,0 |
| 2008 | 3 | 0,21 | 205 | 3,39 | 96,6 | 15,7 | 75,5 | 69,0 | 85,5 |

Fonte: Sinan/SVS-MS.

*2008 – Dados preliminares.

PARÂMETROS

| COEFICIENTE DE DETECÇÃO EM < 15 ANOS | COEFICIENTE DE DETECÇÃO POP. GERAL | % DE AVALIAÇÃO DE INCAPACIDADES FÍSICAS | % DE GRAU 2 DE INCAPACIDADE FÍSICA | % DE CONTATOS EXAMINADOS | % DE CURA NAS COORTES |
|---|--|---|------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Hiperendêmico: ≥ 10,00/100.000 hab. | Hiperendêmico: ≥ 40,00/100.000 hab. | Bom: ≥ 90,0% | Alto: ≥ 10,0% | Bom: ≥ 75,0% | Bom: ≥ 90,0% |
| Muito Alto: 5,00 a 9,99/100.00 hab. | Muito Alto: 20,00 a 39,99/100.000 hab. | Regular: 75,0 a 89,9% | Médio: 5,0 a 9,9% | Regular: 50,0 a 74,9% | Regular: 75,0 a 89,9% |
| Alto: 2,50 a 4,99/100.000 hab. | Alto: 10,00 a 19,99/100.000 hab. | Precário: < 75,0 | Baixo: < 5,0% | Precário: < 50,0 | Precário: < 75,0 |
| Médio: 0,50 a 2,49/100.000 hab. | Médio: 2,00 a 9,99/100.000 hab. | - | - | - | - |
| Baixo: < 0,50/100.000 hab. | Baixo: < 2,00/100.000 hab. | - | - | - | - |

Figura 3- Indicadores epidemiológicos e operacionais de hanseníase, Santa Catarina, 2001 a 2008. Fonte: SINAN/SVS-MS

Embora a tendência da prevalência das formas tardias seja pressuposta nas áreas com controle da endemia, há o interesse em investigar e explorar a prevalência oculta e realizar o diagnóstico precoce dos multibacilares sem a presença das incapacidades.

De modo peculiar, a hanseníase no estado de SC apresenta como característica epidemiológica tipicamente intradomiciliar no seu modo de transmissão. Por conseguinte, nos casos de reativação da doença, a reavaliação e a confirmação da ausência da doença entre os comunicantes poderia virtualmente descartar a reinfecção e fortalecer a suspeita da recidiva. Considerando-se que o cenário epidemiológico do SC representa, desde 1997, um modelo de área de pós-eliminação para o estudo da hanseníase, e que, por este motivo, deva apresentar baixo índice de reinfecção e ser idealmente elegível para a avaliação da recidiva em pacientes tratados com esquema PQT-MB 24 doses, guardados os tempos médios mínimos entre sete a dez anos desde a cura microbiológica, período este considerado razoável para a avaliação de cura ou recidiva em multibacilares (Waters, 1998; Scollard et al., 2006).

1.2 O papel dos exames complementares no diagnóstico e manuseio da hanseníase

O diagnóstico da hanseníase é baseado na presença ao menos um entre os seguintes sinais cardinais: anestesia em lesões cutâneas,

sugestivas da doença, espessamento de nervos periféricos e demonstração do *M. leprae* no esfregaço de linfa ou cortes histológicos (WHO, 1982; Brasil, 2010b).

Previamente, o reconhecimento do caráter espectral compreendido pelas formas clínicas polares da doença fundamentou a classificação de Madri (1953) e por sua vez, a orientação terapêutica. As características clínicas, bacteriológicas, imunológicas e histológicas da hanseníase definem os grupos polares, tuberculóide (T) e virchowiano (V); o grupo transitório e inicial da doença, a forma indeterminada (I); e o instável e intermediário, a forma dimorfa (D) (Neves, 1986; Pfaltzgraff e Ramu, 1994; Souza, 1997; Opromolla, 2000).

A hanseníase indeterminada, área hipoestésica manifesta ou não por lesão visível, é a forma inicial e transitória da doença com o raro encontro de bacilos nos tecidos. Pode evoluir com cura espontânea, desenvolver-se lentamente, ou ainda involuir, ressurgindo tardiamente com características clínicas definidas dentro do espectro da doença, de acordo com a capacidade de resposta imune ao *M. leprae*. O pólo de resistência da hanseníase está representado pela forma tuberculóide, com a expressão da contenção da multiplicação e morte bacilar. No pólo de suscetibilidade, a forma virchowiana expressa a multiplicação bacilar e a disseminação da doença. De início insidioso e progressão lenta, esta forma clínica avança através dos anos, envolvendo difusamente extensas áreas do tegumento, múltiplos troncos nervosos, e inclusive outros órgãos, até que o paciente perceba seus sintomas. Máculas mal definidas e pouco

visíveis progridem para lesões ampla e simetricamente distribuídas, infiltrando difusamente a pele (Pfaltzgraff e Ramu, 1994; Souza, 1997; Opromolla, 2000).

A forma dimorfa, caracterizada por instabilidade imunológica, transita entre os pólos tuberculóide e virchowiano. Os critérios empregados para a classificação refletem a instabilidade imunológica desta forma clínica, e a evolução da doença na ausência do tratamento poderia derivar doentes do pólo virchowiano. Os aspectos morfológicos das lesões são variados e se aproximam do pólo virchowiano ou tuberculóide, até em um mesmo paciente. Lesões mais delimitadas, anestésicas com raridade ou ausência de bacilos, estão na proximidade ao pólo tuberculóide; e lesões mais numerosas, brilhantes, com menor definição dos limites e maior número de bacilos, estariam na proximidade ao pólo virchowiano (Pfaltzgraff e Ramu, 1994; Souza, 1997; Opromolla, 2000).

O comprometimento dos troncos nervosos é ausente nos indeterminados; em pequeno número, intenso e localizado nos tuberculóides; múltiplo, simétrico, lento e insidioso nos virchowianos. Nos casos tuberculóides, o comprometimento nervoso é intenso e localizado, e as lesões sob a forma de uma ou poucas placas bem delimitadas na periferia apresentam total anestesia térmica, tátil e dolorosa (Opromolla 2000). Com manifestações clínicas variáveis, os casos dimorfos podem apresentar múltiplas lesões delimitadas, lesões foveolares, infiltração quase total e pouco delimitada por pele normal, ou comprometimento múltiplo de troncos nervosos, e por vezes com baciloscopia de pele negativa (Neves,

1986; Opromolla, 2000). Já os virchowianos, que em sua maioria derivam de dimorfos não tratados (Ridley, 1987), além da infiltração difusa da pele há o comprometimento de órgãos internos, como olhos, testículos, linfonodos, fígado, baço, etc, com intenso parasitismo de mucosa nasal, porém com o comprometimento neurológico inicial discreto (Opromolla, 2000),

A morfologia das lesões é, na maioria das vezes, suficiente para se estabelecer o diagnóstico clínico (Opromolla, 2000; Barreto et al., 2007). Uma vez que as formas clínicas que compõem o espectro, no geral, mantém relação com o contingente de bacilos, uma classificação baseada na provável população bacilar foi proposta pela OMS para a finalidade de tratamento. Em acordo com a pesquisa de bacilos no esfregaço dérmico, a baciloscopia realizada nos vários pontos índices (lóbulos de orelhas, cotovelos e joelhos) e nas lesões, os pacientes podem ser alocados em paucibacilares (PBs) e multibacilares (MBs) (WHO, 1982).

A positividade da baciloscopia do esfregaço dérmico corresponderia à concentração mínima de 10 mil bacilos por grama de tecido (Bang et al., 2009). Estima-se a quantidade de 10^9 bacilos/grama de tecido e a contínua bacilemia de 10^5 organismos/ mm^3 de sangue (Drutz et al., 1972) estejam presentes na hanseníase virchowiana; assim, evidentemente, a baciloscopia é francamente positiva em vários pontos pesquisados. No entanto, a negatividade da baciloscopia na pele, mesmo sem o viés de técnicas (coleta, coloração e leitura), pode não representar alguns casos multibacilares, como os dimorfos com comprometimento múltiplo e predominante dos troncos nervosos (Barreto et al., 2007).

Ainda que entre os mais simplificados exames laboratoriais, a baciloscopia carece de treinamento técnico e controle de qualidade, e frequentemente está indisponível em campo (Buhrer-Sékula, 2008a), assim como outros exames complementares, tais como níveis séricos de anticorpos específicos e a reação de Mitsuda. Para adequar a carência do suporte laboratorial do trabalho de campo e impedir que os doentes deixassem de ser rapidamente tratados, a OMS propôs a classificação baseada no número de lesões: maior que cinco para os MBs, e menor que cinco os PBs. Com as justificativas supracitadas, o uso da classificação baseada em número de lesões para escolha do tratamento tem sido adotado em campo, mas estes critérios simplificados não são bem aceitos por especialistas, pois podem resultar em tratamento insuficiente para casos multibacilares diagnosticados como PBs (Barreto et al., 2008).

Deste modo, pacientes com mais de cinco lesões são tratados atualmente com esquema de poliquimioterapia para multibacilar por 12 meses (PQT-MB), e considerados curados se cumprirem o tratamento em até 18 meses, embora seja permitida a extensão do prazo para até 24 meses em poucos casos; e pacientes com até 5 lesões e baciloscopia negativa são tratados com esquema paucibacilar (PQT-PB), e considerados curados se cumprirem o tratamento em até 9 meses (Brasil, 2010e).

1.2.1 A reação de Mitsuda e sua correlação com a forma clínica e vacinação BCG

Uma reação intradérmica positiva ao antígeno de Mitsuda significa resistência ao *M. leprae* (Dharmendra, 1994; Opromolla, 2000), mas não distingue os infectados daqueles não infectados (Rees e Young, 1994; Sengupta 2000). Indivíduos com hanseníase tuberculóide (polar e subpolar) possuem induração maior que 5mm, ou seja, 2+ a 3+ pela Classificação de Madrid (1953) (Dharmendra 1994), e os tuberculóides tórpidos (ou polares) frequentemente mostram diâmetro maior que 10mm ou ulceração (Ridley, 1974; Opromolla, 2000). Quando a induração é maior que 5mm, a correlação entre a leitura clínica e a histopatologia mostra reação granulomatosa epitelióide em cerca de 93% dos casos (Michalany e Michalany, 1983).

A maioria das crianças são Mitsuda negativas (Bechelli et al., 1953; Bechelli e Rotberg, 1956), e quase toda a população adulta é resistente à doença, sendo que a maioria possui reação de Mitsuda positiva (Job, 1994). Ainda permanece obscuro, o quanto esta modificação da reatividade é decorrente da exposição à micobactérias ambientais, ao bacilo de Koch ou à vacinação BCG, embora a viragem da reação para 2+ a 3+ possa ser observada na maioria dos indivíduos vacinados (Bechelli et al., 1953).

Em decorrência da inexistência de vacina específica para a hanseníase, a vacinação BCG (bacilo de Calmette-Guérin) é utilizada largamente e tem mostrado exercer algum efeito protetor, que varia de

acordo com o país onde é preconizada (van Brakel et al., 2010). No entanto, é questionável se a vacinação BCG possa exercer algum efeito na parcela da população, entre 5-10%, incapaz de desenvolver efetiva resposta imune-específica, ou seja, aqueles mais suscetíveis ao desenvolvimento da doença e no pólo virchowiano (Bechelli e Rotberg, 1956; Bechelli, 1991; Scollard et al., 2006).

A reatividade histológica nos casos positivos, pacientes com hanseníase tuberculóide, comunicantes saudáveis e não comunicantes, não difere quando do uso das preparações do antígeno obtidas do tatu ou de seres humanos, e mais de 90% dos indivíduos saudáveis não comunicantes possuem resposta granulomatosa no exame histopatológico (Michalany e Michalany, 1983). A associação de antígenos do *M. leprae* com a BCG não oferece proteção adicional (Convit et al., 2003; Scollard et al., 2006), assim como uma segunda dose da vacina em adultos (Cunha et al., 2008), corroborando a participação da predisposição genética para a resposta imunecelular (Bechelli et al., 1953; Rabello, 1978; Beiguelman, 1999).

1.2.2 O papel da sorologia na hanseníase

Cerca de 30% dos indivíduos, principalmente os virchowianos, não apresentam lesões visíveis ou a perda de sensibilidade facilmente detectável (Oskam et al., 2003). A baciloscopia do esfregaço dérmico e do corte histológico do tecido é positiva, salvo exceções, na expressiva

maioria dos casos MBs, mas tanto a baciloscopia como o exame histopatológico são frequentemente indisponíveis em campo (Roche et al., 1993; Oskam et al., 2003). O emprego de novas ferramentas laboratoriais acessíveis ao trabalho de campo, de baixo custo e fácil execução tem sido foco de grande interesse. Entre as principais propostas, está a detecção sérica dos anticorpos específicos contra o *M. leprae* (Buhner-Sékula, 2008a). Um dos primeiros antígenos específicos do bacilo isolados foi o PGL-I (glicolípido fenólico-I) (Brennan e Barrow, 1980), cujo principal determinante antigênico é a parte sacarídica da molécula (Fujiwara et al., 1984; Brett et al., 1986). A pesquisa do PGL-I mostrou ser positiva em indivíduos infectados pelo *M. leprae*, e negativa em outras micobacterioses (Chanteau et al., 1987; Moura et al., 2008).

Desde a descoberta deste antígeno espécie-específico, vários neoglicolípideos foram então desenvolvidos para diagnóstico sorológico, e entre eles um dos mais utilizados é o ND-O-BSA (dissacarídeo natural ligado a um grupo octil que é ligado a uma albumina sérica bovina) (Cellona et al., 1993), cuja ligação proteica impede a reatividade não específica (Buhner-Sékula, 2008a). A técnica mais comumente utilizada para detecção dos anticorpos, principalmente da classe IgM, é a de imunoensaio enzimático (ELISA), que confere baixo custo aliado à obtenção de resultados quantitativos (Buhner-Sékula, 2008a).

Em acordo com a revisão de Moura e colaboradores (2008), vários estudos e em diferentes populações têm demonstrado estreita correlação entre os títulos de anticorpos IgM anti-PGL-I e a carga bacilar. A

soropositividade ocorre em média em 78% dos MBs e em 23% dos PBs (Moura et al., 2008). No entanto, a sorologia não tem sido recomendada como teste diagnóstico quando avaliada isoladamente (Buhner-Sékula, 2008a), pois pode ser positiva fraca em contatos (Cellona et al., 1993; Andrade et al., 2008). Na maioria dos pacientes tratados, os títulos caem ao início do tratamento (Bach et al., 1986), sendo a queda mais acentuada no seu primeiro ano (Roche et al., 1993); no entanto, em alguns pacientes, os títulos de anticorpos podem demorar muitos anos para desaparecer (Gelber et al., 1989).

Em relação à recidiva, embora seja assunto controverso, a soropositividade pode ser o primeiro sinal de reativação da doença (Chin-a-Lien et al., 1992; Wu et al., 2002), e indivíduos soropositivos podem ter até 10 vezes mais chance de desenvolver reações pós-tratamento, em relação aos negativos (Brito et al., 2008).

Em decorrência da estreita relação da soropositividade com a carga bacilar, o emprego da sorologia pode ser útil: 1) no diagnóstico de casos primariamente neurais, onde não haja lesões de pele visíveis ou baciloscopia positiva (Roche et al., 1993; Jardim et al., 2005; Grossi et al., 2008); 2) na mais adequada escolha da PQT-MB em casos com altos títulos séricos e pequeno número de lesões cutâneas visíveis, ou seja, PBs pelo critério de contagem do número de lesões (Barreto et al., 2008); 3) nos casos duvidosos, nos quais a clínica de MB não é correspondente à baciloscopia e/ou biópsia de lesão cutânea (Barreto et al., 2007).

1.3 Detecção do bacilo por técnica de polimerase em cadeia (PCR)

Técnicas de amplificação de ácidos nucleicos utilizando a PCR (*polymerase chain reaction*) possuem alto nível de sensibilidade e especificidade; por esta razão, são amplamente utilizadas na detecção direta de DNA microbiano em espécimes clínicos. As moléculas de ácidos nucleicos, molde para a amplificação por PCR, podem ser isoladas de qualquer tecido ou fluido orgânico, tais como: células, pêlos, sêmen, biópsias, linfa, sangue, muco nasal, etc. e, dependendo do sistema, não é necessário que as amostras sejam frescas; materiais conservados em baixas temperaturas ou em parafina também podem ser utilizados.

Embora, em geral, não haja dificuldades da comprovação do diagnóstico dos casos multibacilares da doença, pelos métodos laboratoriais tradicionais, um dos grandes desafios é a detecção das formas precoces, por vezes das formas paucibacilares e das infecções subclínicas que possam evoluir para a doença.

O conhecimento de algumas seqüências nucleotídicas de *M. leprae*, antes da conclusão do seqüenciamento do genoma inteiro, tornou possível a realização do método de amplificação enzimática de DNA para identificação do bacilo em amostras clínicas. No final da década de 80, a tecnologia da hibridação por Southern, que utiliza sondas de DNA de *M. leprae*-específicas, permitiu a detecção do bacilo em material de pacientes MBs (Clark-Curtiss e Docherty, 1989). No entanto, a despeito da alta especificidade, a técnica não se mostrou sensível o suficiente para detectar

o bacilo em algumas amostras de tecidos provenientes de pacientes PBs (Goulart et al., 2007).

No início da década de 90, a técnica de PCR passou a ser proposta como método de suporte alternativo às metodologias tradicionais de diagnóstico da doença (Santos et al., 1993). Várias metodologias, envolvendo a técnica da PCR, foram então descritas para a detecção de *M. leprae* em diversos tipos de amostras clínicas (Santos et al., 1995; 1997). Assim, diferentes sistemas de amplificação a partir de ácidos nucleicos foram desenvolvidos, visando aumentar o limite de detecção desse bacilo (Hartskeerl et al., 1989; Woods e Cole, 1989; Plikaytis et al., 1990; Rinke et al., 1993; Stefani et al., 2003).

Muitos estudos envolvendo diferentes seqüências e genes alvos para a amplificação de DNA de *M. leprae* pela PCR, principalmente com o uso de amostras de pele, foram realizados. Desta forma, sistemas simples e específicos foram utilizados para amplificar regiões gênicas que codificam para o antígeno de 36-kDa (Hartskeerl et al., 1989; Kampirapap et al., 1998), para o antígeno de 18-kDa (Williams et al., 1990; Scollard et al., 1998) ou para o antígeno de 65-kDa (Plikaytis et al., 1990), bem como as seqüências repetitivas (Woods e Cole, 1989) do *M. leprae*. De forma a determinar um método mais sensível e específico para a detecção molecular do bacilo, dois sistemas de amplificação foram comparados: o do gene de 18-kDa e o da seqüência repetitiva específica do *M. leprae* (RLEP) (Kang et al., 2003). Os resultados mostraram que a PCR para a RLEP, que apresenta 37 cópias no

genoma (Cole et al., 2001), é mais sensível, quando comparada a PCR para o gene de 18-kDa, e mais específica que o índice baciloscópico.

Análises comparativas para detecção de *M. leprae* em amostras de sangue, linfa e pele foram realizadas para todas as formas clínicas da hanseníase (Santos et al., 1993). No entanto, a amplificação a partir de amostras de sangue apresentou resultados inferiores, quando comparados àqueles obtidos com as outras amostras clínicas. Além disso, a positividade das amostras sanguíneas pelo método da PCR não significa que o indivíduo evoluirá para a doença, uma vez que o DNA do bacilo presente no sangue desses indivíduos pode representar apenas resquício da infecção após o contato com *M. leprae*.

Considerando que o trato respiratório superior possa ser a principal porta de entrada e saída de *M. leprae*, houve interesse na investigação da detecção mediada por PCR a partir da secreção nasal (Klatser et al., 1993; Pattyn et al., 1993; Rinke et al., 1993; Hatta et al., 1995; Santos et al., 1995). No entanto, em nenhum desses trabalhos foi observada a correlação direta entre a detecção da positividade pela técnica PCR e o desenvolvimento da hanseníase. Em acordo com outros trabalhos (Beyene et al., 2003; Almeida et al., 2004), a presença de positividade em amostras de muco nasal expressa o carreamento bacilar, mas não necessariamente a enfermidade propriamente dita.

Estudos experimentais, em camundongos *nude*, indicaram que a pele e a mucosa nasal com solução de continuidade podem ser

consideradas como rotas de transmissão da hanseníase (Job et al., 1990). O bacilo pode permanecer viável por até 10 dias em secreções nasais de virchowianos não tratados (Rees e Young, 1994). Na hanseníase virchowiana avançada adequadamente tratada, a taxa de eliminação dos bacilos dos tecidos parasitados é de aproximadamente 0,5 a 1+ por ano (Roche et al., 1993), medida por meio da escala logarítmica de Ridley (Ridley, 1987; Rees e Young, 1994). Em humanos, a despeito da ausência de lesão específica, a presença do DNA do *M. leprae* no muco nasal tem sido demonstrada em cerca de 8% dos contatos intradomiciliares dos pacientes com hanseníase por meio da reação em cadeia da polimerase (Klatser et al., 1993), ainda que transitória, pois a persistência desta condição não tem sido demonstrada (Hatta et al., 1995; Smith et al., 2004).

Utilizando técnicas convencionais para coloração de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) na pele, Chatterjee (1976) demonstrou que 5,8% dos contatos de pacientes de hanseníase tinham BAAR em sua pele. Abraham et al. (1998) mostraram correlação estatisticamente significativa entre as lesões de pele com hanseníase e da pele com abrasões e escoriações, e com estes dados sugeriram que a pele poderia ser via potencial de infecção pelo *M. leprae*.

O encontro do bacilo nas secreções nasais pode representar contaminação transitória do meio ambiente, e argumento semelhante poderia justificar a sua presença na superfície da pele. Em ambos os casos, a exposição contínua poderia resultar em aumento do risco de infecção, que eventualmente poderia ser expressa por soropositividade (Hatta et al., 1995),

causada pela invasão ativa da micobactéria ou por entrada passiva, decorrente da perda da integridade do epitélio da pele ou da mucosa nasal. Uma definição da taxa de exposição para estes dois sítios poderia auxiliar na medida da intensidade da exposição e no entendimento acerca da possível rota de entrada do *M. leprae* em seres humanos (Job et al., 2008).

1.4 Recidiva e resistência à terapêutica

1.4.1 A questão da redução do tempo de duração da PQT

Os regimes terapêuticos da PQT fixos de 24 doses mostraram reduzir a possibilidade de contágio, após período relativamente curto de tratamento, com baixas taxas de recidiva, resistência terapêutica e elevadas taxas de cura da hanseníase (WHO, 1994; Meima et al., 2004). A despeito deste sucesso, ao serem consideradas as taxas de abandono do tratamento de 24 doses, e possivelmente o custo do tratamento, em 1998 a OMS preconizou a redução do regime terapêutico para 12 doses. Ainda, mais recentemente, e com as mesmas justificativas, houve a proposição no sentido de se reduzir para 6 meses o tempo de tratamento, regime denominado PQT-U (poliquimioterapia uniforme) (van Brakel et al., 2010). Muitos da comunidade científica já haviam questionado a falta dos ensaios clínicos acerca da eficácia do esquema reduzido para 12 doses (Opromolla 1999; Penna et al., 2011), tanto que

a estratégia não foi adotada no tratamento de pacientes nos países desenvolvidos (Britton e Lockwood, 2004; Scollard et al., 2006). O fato é que, entre 2004 e 2009, o número absoluto de recidivas anuais no mundo aumentou em 20%, sendo a maioria dos casos em homens acima de 30 anos (82%) e não associados à resistência medicamentosa (WHO, 2010a), e o número de países notificantes destas recidivas triplicou (WHO, 2010b).

1.4.2 Reativação da hanseníase: recidiva, resistência ou reinfecção?

Previamente ao emprego e implantação da PQT para a hanseníase, o regime de monoterapia sulfônica perdurou durante cerca de 30 anos (WHO, 1982; WHO, 2004). No entanto, os registros crescentes da identificação de cepas de *M. leprae* resistentes à dapsona, descritos desde o período de monoterapia sulfônica, e o desenvolvimento da resistência primária e secundária, tornaram-se a causa do insucesso e um dos problemas mais relevantes dos programas de controle da hanseníase (WHO, 1982; Scollard et al., 2006).

Em 1963, no Brasil, Opromolla foi um dos primeiros a ensaiar a utilização da rifamicina (precursora da rifampicina) para o tratamento da hanseníase (Limalde e Opromolla, 1963), quase que simultaneamente com a utilização da clofazimina no mundo (WHO, 1982; WHO, 2004).

Precedendo o esquema terapêutico PQT-OMS no Brasil, a Divisão Nacional de Dermatologia (DNDS), da Secretaria Nacional de Saúde/ Ministério da Saúde preconizava o regime então denominado DNDS, como detalhado a seguir: a) regime indicado para doentes virchowianos e dimorfos virgens de tratamento: rifampicina (600mg) e dapsona (100mg) diários por 3 meses, seguidos da dapsona (100mg) diários por um período de 10 anos; b) regime para os indeterminados (Mitsuda negativo): cinco anos de tratamento dapsona (100mg) diários; c) regime para os doentes tuberculóides e indeterminados (Mitsuda positivo) virgens de tratamento: dapsona (100mg) diários por 18 meses (Andrade et al., 1996).

A recomendação da implantação do regime PQT, proposta pela OMS, encontrou resistência e obstáculos de implantação no Brasil (Andrade 1996; Opromolla, 1997; WHO, 2004). No entanto, a introdução da PQT/OMS, iniciada em 1986 apenas em áreas pilotos, propiciou oportunidade para a revisão, alterações das normas técnicas e planejamento da reorganização dos serviços de saúde. Seguido ao processo de implantação da PQT, em 1991, e de reorganização dos serviços a taxa de prevalência diminuiu em 75% nos dez anos subsequentes (WHO, 2004).

Os regimes terapêuticos da PQT mostraram reduzir a contagiosidade após período relativamente curto de tratamento, com baixas taxas de recidiva e de resistência terapêutica, e elevadas taxas de cura da hanseníase (WHO, 1994). Extensa revisão incluiu estudos, que somaram cerca de 50 mil indivíduos tratados com PQT, e no mínimo com seis anos de seguimento. Taxas de recidiva entre 0,6 a 1 caso/1000 pessoas/ano foram

registradas com aqueles regimes terapêuticos em avaliação (WHO, 1994). No entanto, havia indicação que indivíduos com índice baciloscópico igual ou maior a 4 apresentavam maior risco de recidiva, que poderia ocorrer até 15 anos após alta (WHO, 1994; Baohong, 2001; Scollard et al., 2006).

É conhecido que as recidivas em hanseníase possam ocorrer tardiamente, e se caracterizam clinicamente por reaparecimento dos sinais e/ou sintomas, geralmente após cinco anos de alta terapêutica (Brasil, 2010e). Baohong (2001) alertou para a ocorrência de recidivas após o tratamento, em cuja maioria dos casos ocorreu em pacientes com alto índice baciloscópico, ou seja, maior que 4+, e cerca de cinco anos após o término da PQT (Jamet e Ji, 1995).

A ocorrência das recidivas em pacientes virchowianos tratados com PQT-MB ocorre, em geral, após seis anos da alta medicamentosa (Balagon et al., 2009), com o tempo médio variando entre 7 a 10 anos (Opromolla 1999; Cellona et al., 2003; Avelleira et al., 2003; Scollard et al., 2006). Justifica-se este fato à multiplicação bacilar a cada duas semanas (Shepard e McRae, 1965; Rees e Young, 1994), que poderia estar restrita à célula de Schwann por 10 anos (Opromolla, 2000).

A suspeita clínica da recidiva surge quando do reaparecimento de sinais e/ou sintomas após um período de cinco anos da alta. Os pacientes paucibacilares (PBs), quando recorrem após alta por cura, apresentam dor no trajeto de nervos, novas áreas com alterações de sensibilidade, lesões novas e/ou exacerbação de lesões anteriores, que não respondem ao

tratamento com corticosteróide, por pelo menos 90 dias. Os multibacilares (MBs) recorrem com lesões cutâneas e/ou exacerbação de lesões antigas; novas alterações neurológicas não-responsivas aos tratamentos com talidomida e/ou corticosteróide nas doses e nos prazos recomendados; baciloscopia positiva; ou quadro clínico compatível com pacientes virgens de tratamento (Brasil, 2010e).

Os principais critérios laboratoriais adotados para a confirmação de recidiva são: demonstração da presença de bacilo íntegro (viável) em esfregaços ou na histopatologia; aumento da carga bacilar em ao menos 2+ em relação a exame baciloscópico prévio (WHO 2010a) e, como método padrão ouro, a multiplicação do bacilo em pata de camundongo pela técnica de Shepard) (Scollard et al., 2006). No entanto, a confirmação de caso de recidiva pode ser difícil, em particular no trabalho de campo, onde procedimentos padrões como a inoculação em camundongo são inacessíveis (Linder et al., 2008), e os casos suspeitos devem ser referenciados para investigação (Brasil, 2010e).

A regularidade do uso mensal das drogas do esquema PQT é fundamental para o êxito do tratamento da hanseníase (WHO, 1982; Araujo et al., 2003); A irregularidade do tratamento predispõe às recidivas e à resistência do bacilo às drogas e, no geral, piora das condições, como o agravamento das incapacidades. Quando a recidiva da doença ocorre, por vezes há dificuldades em se definir precisamente a causa, ou seja, se é decorrente de falha ou insuficiência terapêutica, reinfecção, persistência bacilar ou resistência às drogas.

Neste contexto, a classificação pelo critério de contagem do número de lesões pode falhar e resultar em tratamento insuficiente para os doentes MBs classificados como PBs e consistir em potencial risco para elevar as taxas de recidiva da doença. O emprego da classificação com a contagem do número de lesões, igual ou menor que cinco nos PBs, resulta em tratamento inadequado de até 27% dos dimorfos (Barreto et al., 2008). Casos com baciloscopia negativa no esfregaço cutâneo podem ter o comprometimento e multiplicação bacilar preferencial dos troncos nervosos (Barreto et al., 2007), o que poderia representar tratamento insuficiente e risco de recidiva para parte do grupo, se tratados com esquema PB (Ramu e Desikan, 1988; Avelleira et al., 1989).

Na hanseníase, a seleção de cepas resistentes às drogas aumenta potencialmente o risco do aparecimento de mutantes resistentes, particularmente entre pacientes multibacilares, com elevada população bacilar ($10^{10} - 10^{12}$) (Scollard et al., 2006).

O padrão ouro para detecção de resistência bacilar tem sido a inoculação em pata de camundongos, método laboratorial laborioso, pouco sensível e com duração de cerca de um ano (WHO, 1987). A elucidação dos eventos moleculares responsáveis pela resistência a drogas em micobactérias permitiu o desenvolvimento de ferramentas para “*screening*” de amostras resistentes de *M. leprae*. Mutações associadas com genes *rpoB*, *folP* e *gyrA* têm sido utilizadas por alguns pesquisadores para detecção de resistência do *M. leprae* à rifampicina, dapsona e ofloxacina, respectivamente (Scollard et al., 2006).

1.4.3 Ensaios laboratoriais na reativação da hanseníase

As primeiras especulações sobre a questão da resistência começaram a surgir no final década de 1940. Nesta época, os derivados sulfônicos como promim, diazona e dapsona (4,4'-diaminodifenil-sulfona; DDS), já estavam sendo utilizados, ainda que experimentalmente, no tratamento da hanseníase (Opromolla, 2000).

A DDS foi a primeira droga a ter comprovação experimental de resistência, e isto só foi possível depois que a técnica de inoculação do bacilo em coxim plantar de camundongos isogênicos ter sido padronizada por Shepard (Shepard, 1960). Utilizando esta metodologia, Pettit & Rees (1964) foram os primeiros a comprovar, experimentalmente, o primeiro caso de resistência do bacilo à DDS. Posteriormente, outros relatos surgiram em várias partes do mundo (Guinto et al., 1981; Matsuoka et al., 2000; Sekar et al., 2002).

Do ponto de vista experimental, o padrão de resistência é definido como parcial (baixo), intermediário ou total (alto), dependendo da capacidade do bacilo de se multiplicar em camundongos tratados com doses de DDS que variam de $1 \times 10^{-5}\text{g\%}$ a $1 \times 10^{-2}\text{g\%}$ (0,01g%) na ração; a concentração de 0,01g% corresponde, no ser humano, à dose de 100mg.

Epidemiologicamente existem dois tipos de resistência: a secundária ou adquirida é resultante de um tratamento inadequado e geralmente está acompanhada de melhora clínica inicial, seguida de

reativação tardia da hanseníase (Hastings, 1998); a primária se manifesta em indivíduos que ainda não receberam o tratamento e, neste caso, muito provavelmente, a infecção ocorreu a partir de bacilos provenientes de paciente com resistência secundária.

As sulfonamidas bloqueiam a condensação do PABA e do 7,8-dihidro-6-hidroximetilpterina-pirofosfato em 7,8-dihidropteroato. O processo de condensação é mediado por ação enzimática, sendo a enzima dihidropteroato sintetase (DHPS), a mais importante nesta etapa. A conversão subsequente do 7,8-dihidropteroato para tetrahidrofolato pela dihidrofolato sintetase e dihidrofolato redutase é decisivo para a formação de vários componentes celulares, incluindo diversos aminoácidos (Williams et al., 2000).

A análise dos resultados obtidos com a conclusão do sequenciamento do genoma do *M. leprae*, em 2000, tem permitido aos pesquisadores obterem grandes avanços no conhecimento de vários aspectos do bacilo como os bioquímicos, genéticos, metabólicos e fisiológicos. Graças a esses avanços, hoje é possível compreender melhor os mecanismos de ação das drogas antimicobacterianas bem como os de resistência a essas drogas. Na área de resistência as drogas, um importante passo foi dado a partir da descoberta e identificação de dois genes homólogos – *folP1* e *folP2* – ambos com seqüências de significativa homologia com o gene *folP* encontrado em outras espécies de bactérias aminoácidos (Williams et al., 2000).

A DHPS do *M. leprae* é codificada pelo gene *folP1*, localizado em um operon que codifica três outros genes, supostamente envolvidos na biossíntese do ácido fólico. A seqüência de aminoácido da DHPS realizada a partir de sequenciamento do gene *folP1*, identificou uma proteína de peso molecular de aproximadamente 31 kDa, com duas regiões (PS00792 e PS00793) associadas à diversas espécies bacterianas, incluindo *Bacillus subtilis* e *Neisseria meningitides*. A análise do sequenciamento do gene *folP2* sugere que ele não está envolvido no processo de resistência do bacilo à DDS (Williams et al., 2000).

Acredita-se que o mecanismo de resistência do *M. leprae* à DDS esteja associado à DHPS de modo semelhante ao mecanismo de resistência desenvolvido por outras espécies bacterianas. Algumas cepas mutantes são decorrentes de mutações espontâneas que ocorrem na cópia cromossomal do *folP*, enquanto outras parecem ser resultado de translocação (Fermer et al., 1995). Na maioria dos casos, os organismos resistentes produzem a DHPS de forma alterada, as quais continuam a catalisar a reação de condensação em dihidropteroato, mas são refratárias à inibição pelas sulfonamidas.

Kai et al. (1999), ao analisarem a seqüência de nucleotídeos do gene *folP1* entre seis diferentes cepas de *M. leprae* resistentes a DDS, observaram pela primeira vez, que a mutação estava limitada a uma região altamente conservada nos códons 53 e 55. Embora a mutação no códon 55 ou em seus sítios homólogos tenha sido relatada em outras espécies bacterianas, a mutação no códon 53 era a primeira a ser relatada em bactérias.

Posteriormente, Williams et al. (2000) também identificaram duas mutações associadas ao fenótipo mutante, ambas localizadas em uma região altamente conservada do gene *folP1*; uma delas estava no códon 53 onde a isoleucina havia sido substituída pela treonina e a outra no códon 55, onde a argina havia sido substituída pela prolina.

Utilizando estudos moleculares e inoculação em pata de camundongos, Gillis e Williams (2000) puderam comprovar que a mutação encontrada no códon 53 era resultante da substituição da alanina, argina ou isoleucina pela treonina. Entretanto, a mutação só foi observada entre as cepas resistentes a DDS que haviam multiplicado no coxim plantar de camundongos tratados com a maior concentração da droga na ração (0,01g%). A mutação no códon 55, que resulta na substituição do aminoácido arginina ou leucina pela prolina, também foi mais freqüente entre as cepas resistentes a maior concentração. Apenas uma cepa, a qual havia multiplicado no coxim plantar de camundongo tratado com uma menor concentração de DDS (0,001g%), possuía uma mutação no códon 55. Todas as demais cepas, resistentes à concentração de 0,001g% da droga, mostraram susceptibilidade genotípica. Apesar da análise dos resultados estar incompleta, os autores acharam importante estudar o porquê dos fenótipos não apresentarem mutações no gene *folP1*.

Antes da implantação da PQT, a experiência clínica mostrava que pacientes infectados com cepas de *M. leprae*, resistentes às menores concentrações de DDS na ração, respondiam ao tratamento monoterápico com a droga, sugerindo que os resultados de resistência poderiam ser

decorrentes de limitações da técnica de inoculação em coxim plantar de camundongos, perdendo esta o seu valor clínico. Conhecendo-se os aspectos moleculares que envolvem os mecanismos de resistência, Gillis e Williams (2000) chamaram a atenção para as cepas que apresentavam níveis baixos ou moderados de resistência, pois elas poderiam representar “mutantes” que rapidamente desenvolveriam resistência ao nível mais alto de DDS, a partir da seleção de mutações no gene *folP1*. Apesar de alguns resultados clínicos sugerirem que a resistência às menores concentrações possa ser irrelevante, qualquer cepa do *M. leprae*, que tenha se multiplicado no coxim plantar de camundongo tratado com DDS em qualquer concentração, deverá ser considerada resistente (Baohong, 1987).

A rifampicina (RFP) é um derivado piperazínico da rifamicina SV, extraída do *Streptomyces mediterranei*, apresentada em cápsulas de 150 e 300mg. É rapidamente absorvida, principalmente quando ingerida em jejum, e tem uma meia vida de 3 horas. Tem uma boa distribuição nos tecidos e, apesar de ser eliminada também pela urina, na sua maior parte é eliminada pelo intestino. Possui um efeito altamente bactericida, eliminando 99,9% dos bacilos viáveis em 3 a 4 dias (Rees et al., 1970); atua seletivamente sobre a enzima RNA polimerase, unindo-se a esta de forma não covalente, produzindo uma mudança de conformação, inativando-a e conseqüentemente bloqueando a síntese do RNA mensageiro (Menezes e Silva, 1999).

O uso da RFP no tratamento da hanseníase teve início na década de 1970. Após a experiência com anos de monoterapia sulfônica, esperava-se que a RFP não seria utilizada no mesmo esquema. No entanto, isso não aconteceu e em 1976 foram relatados os dois primeiros casos de resistência (Jacobson & Hastings, 1976). Posteriormente, outros trabalhos foram escritos, relatando novos casos em pacientes tratados em esquema de monoterapia (Guelpa-Lauras et al., 1984; Grosset et al., 1989).

Estima-se que a proporção de bacilos mutantes surgidos espontaneamente que são resistentes a um antibiótico é de cerca de 1 para 1 milhão (Rees e Young, 1994). Um paciente na faixa virchowiana carrega cerca de 1 trilhão de bacilos, ou 1×10^{12} (Hastings, 1998), dos quais cerca de 10% são viáveis; deste modo, este paciente apresenta aproximadamente 10^5 organismos naturalmente resistentes a qualquer uma das drogas. Um dos grandes benefícios da PQT é que, mutantes resistentes a uma determinada droga como, por exemplo, a RFP, possam ser eliminados pelas outras como a DDS ou clofazimina. Felizmente, os casos de resistência a RFP são raros, sendo descritos em um pequeno número de pacientes virchowianos, a maioria deles tratados em monoterapia ou que receberam tratamento inadequado. Entretanto a “real” prevalência desses casos, a exemplo do que ocorre com a DDS, é desconhecida, pois as técnicas disponíveis para detecção e comprovação da resistência não são acessíveis para a grande maioria dos laboratórios.

Além da técnica de inoculação em coxim plantar de camundongos, hoje já é possível detectar as cepas resistentes através da biologia molecular. A análise do genoma do bacilo também tem permitido aos pesquisadores conhecer melhor os mecanismos moleculares que envolvem o processo de resistência a RFP.

As bases genéticas de resistência do *M. leprae* à RFP têm sido estudadas desde a década de 1990. Uma mutação em um pequeno segmento do gene *rpoB*, que codifica a subunidade- β do DNA dependente da RNA polimerase foi identificada entre isolados do bacilo que se mostraram resistentes após inoculação em pata de camundongo (Honore e Cole, 1993).

A detecção molecular de resistência em micobactérias tem se baseado na observação de mutações em genes que codificam regiões envolvidas no alvo de ação das drogas ou de sua ativação. Diferentes métodos, baseados na reação de polimerase em cadeia (PCR), têm sido utilizados na detecção dessas mutações tais como análise de polimorfismo, heteroduplex e sequenciamento. As trocas de aminoácidos observadas em isolados de *M. leprae* resistentes a RFP estão localizadas no segmento 500-540 do gene *rpoB*, descrito como o local envolvido no processo de resistência das micobactérias a RFP (Cambau et al., 2002). A mutação mais freqüente envolve a substituição do aminoácido serina pela leucina que afeta o códon na posição 531.

1.5 Hanseníase e gênero

Embora a hanseníase afete ambos os sexos, em diversas populações e situações geográficas, os homens são frequentemente mais afetados do que as mulheres, atingindo a proporção de 2:1. (Bechelli e Rotberg, 1956; Sansarricq, 1995; Noordeen, 1994; Brasil, 2008). A diferença poderia representar real maior incidência entre homens e não a diferença da duração da doença entre os sexos (Doull et al., 1936). No entanto, a proporção, entre os sexos pode ser variável e alguns países têm registrado elevada prevalência ou até superiores entre as mulheres (Noordeen, 1994). Comparativamente, a proporção de mulheres entre casos novos detectados varia de 21% a 60% na região da África; entre 34% a 50% nas Américas; 21% a 42% na região sudeste da Ásia. Em adição, consistentes achados de várias partes do mundo têm indicado que há preponderância das formas multibacilares entre os homens (Noordeen, 1994; Sansarricq, 1995; Varkevisser et al., 2009). No Brasil, na análise da série temporal do período de 2001-2009, a percentagem de homens predominou com a variação de 53,7%, em 2003, a 55,5% em 2008 (2010c). Uma das explicações para este fato seria a maior exposição do sexo masculino aos doentes bacilíferos fora do ambiente intradomiciliar (Bechelli e Rotberg, 1956; Sansarricq, 1995), o que ainda explicaria a proporção relativamente igual entre os sexos até a puberdade (Bechelli e Rotberg, 1956). Em estudo com amostras de doentes de regiões de diferentes países investigadas por Varkevisser e colaboradores (2009), os homens apresentaram maior mobilidade e melhores condições financeiras do que as mulheres, especialmente nas áreas rurais (Varkevisser et al., 2009).

1.6 Hanseníase e desigualdade sócio-cultural

A hanseníase tem sido fortemente relacionada aos fatores sócio-econômico-culturais (Bechelli e Rotberg, 1956; Sansarricq, 1995). O controle da endemia hansênica nos países desenvolvidos, previamente ao início da era sulfônica, indica fortemente que a melhoria dos indicadores sociais e econômicos possa influir no controle da doença (Talhari e Neves, 1997; Opromolla, 2000; Lockwood e Suneetha, 2005). Kerr-Pontes e colaboradores (2004) demonstraram em área de elevada endemicidade no Brasil que o nível de desigualdade social, o crescimento da população e a presença da estrada de ferro foram associados aos maiores índices da hanseníase. O crescimento da população e a desigualdade poderiam causar aglomerações e facilitar a transmissão do bacilo (Kerr-Pontes et al., 2004).

No Brasil, mais de 60% dos casos de hanseníase diagnosticados possuem menos de oito anos de estudo (Brasil, 2008). Pinto Neto et al. (1999) descreveram a associação entre adoecimento de hanseníase polarizada nos contatos e baixa escolaridade. Penna et al. (2009) comentam que, indivíduos com baixos níveis sócio-econômicos e educacionais continuam ser preferencialmente acometidos em áreas que estão sofrendo a redução dos níveis de incidência da doença. Na Índia, menos de 10% dos analfabetos acometidos pela hanseníase sabiam que sua doença era de natureza infecciosa (Barkataki et al., 2006).

1.7 Hanseníase em contatos intradomiciliares de virchowianos

Em significativa maioria dos casos de hanseníase, algum tipo de contato, seja intradomiciliar, na vizinhança ou social, pode ser encontrado. Os contatos intradomiciliares de pacientes com hanseníase multibacilar possuem até 8 vezes mais risco de desenvolver a doença (Fine et al., 1997), principalmente os filhos de um caso índice virchowiano (Swain et al., 2004). Contatos intradomiciliares geneticamente relacionados e de primeiro grau, e aqueles que convivem em famílias mais numerosas (Shen et al., 2010) consistem nos grupos populacionais com maior risco em desenvolver a doença (Santos et al., 2008; Durães et al. 2010).

Alta carga bacilar é estimada em pacientes com hanseníase virchowiana, que pode atingir mais de 1×10^9 bacilos/cm³ de pele infiltrada (Jopling e McDougall, 1991), e serem eliminados, em números que chegam a 100 milhões em 24 horas (Waters, 1981), principalmente pelas vias aéreas superiores (Jopling e McDougall, 1991; Rees e Young, 1994). Por conseguinte, a taxa de ataque da hanseníase entre familiares destes pacientes é muito mais alta, até 6,5 casos por 1000 pessoas por ano (Doull et al., 1936; Sansarricq, 1995), comparada aos familiares de casos índices de outras formas (Noordeen, 1994). Assim, o grau de disseminação da doença em determinada área depende da proporção de suscetíveis e da intensidade do contato (Jopling e McDougall, 1991). O risco de contrair a doença ao inalar bacilos é grandemente aumentado por condições de moradia precárias e por aglomeração (Jopling e McDougall, 1991). Deste

modo, a vigilância dos contatos consiste em estratégia fundamental e recomendada pelos programas de controle da doença (Brasil, 2002).

Em áreas de baixa endemia, e na presença de hanseníase em crianças, o foco intradomiciliar pode ser encontrado em quase 100% dos casos (Cestari, 1990) e, mesmo em áreas urbanas e de endemia alta, a doença é mais comum em contatos intradomiciliares (Durães et al., 2010), acometendo principalmente os filhos de virchowianos. Já a taxa de hanseníase conjugal é mais baixa (Swain et al., 2004), ou seja, em cerca de 5% (Jopling e McDougall, 1991). O risco do adoecimento tem sido visto como multifatorial, o contato domiciliar e o parentesco de primeiro grau mostraram ser variáveis independentes associadas à probabilidade do adoecimento (Durães et al., 2010).

Já na década de 90, foi observada que a eficiência da proteção da vacinação BCG em filhos de pacientes com hanseníase virchowiana, medida indiretamente pela positividade ao teste de Mitsuda, foi menor comparada aos dos filhos de casais sem hanseníase (Beiguelman, 1999).

Duas revisões sistemáticas sobre o efeito da vacinação BCG na prevenção da hanseníase demonstraram um efeito protetor de 61% em 5 anos, e de apenas 26% em um período de 5-16 anos de seguimento, com 54% de proteção entre os 30 e 40 anos, e nenhuma proteção após os 40 anos (Setia et al., 2006; Rodrigues et al., 2007).

No Brasil, o Ministério da Saúde recomenda a vacinação BCG para contatos intradomiciliares desde 1981. Muitos contatos têm BCG como

parte da rotina de vacinação durante a infância. A vacina BCG intradérmica está preconizada para os contatos intradomiciliares, sem presença de sinais e sintomas de hanseníase, no momento da avaliação, independentemente de serem contatos de casos PB ou MB. A aplicação da vacina BCG depende da história vacinal: uma dose está indicada se o contato apresenta uma ou nenhuma cicatriz de BCG; quando da observação de duas cicatrizes de BCG, nenhuma dose está indicada (Brasil, 2010e).

Sendo a proteção proporcionada pela vacinação BCG temporária, possivelmente combinada à quimioprofilaxia possa ser mais eficiente na prevenção da doença, em particular nos contatos sorologia-positivos e Mitsuda-negativos (van Brakel, 2010).

1.8 Hanseníase e idade

A hanseníase é doença crônica, com longo período de incubação; sua prevalência nas diversas faixas etárias depende da combinação exposição-grau de resistência imuno-específica: crianças e adultos Mitsuda negativos apresentariam maior suscetibilidade à infecção (Bechelli e Rotberg, 1956). A doença tem sido detectada nas diferentes faixas etárias, mas como doença crônica, e mesmo que incluídas na análise a prevalência e a incidência, em geral, há falhas para identificar a idade do surgimento da doença e o período de infecção subclínica (Noordeen, 1994). Com registros à época, Noordeen (1994) considerou a distribuição dos casos em áreas de elevada endemicidade em curva bimodal, um pico na faixa de 10-14 anos seguido de descréscimo e outro

aumento, formando um plateau que cobre a faixa de 30-60 anos, o que poderia sugerir a possibilidade de duas distintas experiências (Noordeen, 1994). A taxa de incidência ainda aumentaria com a idade, atingindo um pico por volta dos 50-60 anos (Noordeen, 1994). Este último padrão é também observado em áreas de baixa endemicidade, onde o volume de casos está concentrado entre indivíduos mais idosos (Noordeen, 1994).

Não há convicção que indivíduos em áreas com elevada endemia adquiram a infecção e a doença pela primeira vez em idades mais avançadas. Duas explicações são plausíveis para a incidência em faixas etárias mais avançadas: a) em decorrência do longo período de incubação, uma proporção dos indivíduos infectados manifestaria a sua doença tardiamente; b) a manifestação da doença na vida adulta em áreas endêmicas é resultado de re-infecções ou superinfecção de indivíduos previamente infectados e daqueles que a resposta imune para hanseníase tornou-se inadequada quando se tornaram mais velhos (Noordeen, 1994).

Alguns autores buscaram justificativas para a maior incidência da hanseníase virchowiana em idosos, em áreas de “baixa endemia”. Sabe-se que mais de 70% dos suscetíveis que desenvolverem a doença serão dimorfos (Ridley, 1974; 1987), grupo que tende a piorar no sentido do pólo virchowiano se não tratados (Opromolla, 2000). Assim, os indivíduos com reação de Mitsuda fortemente positiva se curariam espontaneamente, e o restante tenderia a piorar, devido à incapacidade de eliminar o bacilo e/ou pela contínua exposição, com reinfecções e/ou superinfecções a partir de reservatórios não diagnosticados (Noordeen, 1994).

No Brasil, a expressiva maioria dos casos novos diagnosticados entre 2001 e 2009 estava compreendida na faixa etária entre 30 e 59 anos, atingindo percentual entre 48,6 a 52,4% do total dos casos. O comprometimento de crianças abaixo de 15 anos foi representado por valores percentuais entre 7,1% a 8,1%; e para indivíduos com mais de 60 anos, entre 15,1% a 18,8%, para o mesmo período (Brasil, 2010d).

1.9 Hanseníase e migração

É descrito que, quando um indivíduo doente de hanseníase emigra para uma área não endêmica, entre os primeiros contaminados estarão os colegas de profissão. Assim, em uma localidade onde a doença não é conhecida, os contatos serão diagnosticados posteriormente (Bechelli e Rotberg, 1956). A migração pode ainda explicar elevada prevalência da doença em estados predominantemente agrários (Bechelli e Rotberg, 1956). O estado de São Paulo, por exemplo, na década de 1980, devido à grande migração de indivíduos de várias partes do país, principalmente por causa do desenvolvimento da agricultura, chegou a ter 40 mil casos registrados de hanseníase (Opromolla, 2000).

Ainda, em situações onde foi possível comparar a idade de distribuição da hanseníase entre nativos e imigrantes, como no Brasil, foi observada a ocorrência da hanseníase mais elevada entre os imigrantes de faixa etária mais avançada, o que foi distinto entre os nativos (Bechelli e Rotberg, 1956).

2 OBJETIVOS

Desde que o cenário epidemiológico do estado de Santa Catarina representa um modelo da fase de pós-eliminação da hanseníase, o presente estudo tem o propósito de:

Objetivo geral:

1. Avaliar pacientes com hanseníase na faixa virchowiana diagnosticados entre 1990 e 2000, regularmente tratados com poliquimioterapia 24 doses, e os seus comunicantes, na fase de pós-eliminação em municípios de Santa Catarina com as taxas mais elevadas de prevalência da doença.

Objetivos específicos:

2. Identificar a recidiva da hanseníase entre os casos-índices (CI) regularmente tratados com PQT-MB 24 doses, após o intervalo mínimo de seis anos da alta terapêutica;
3. Nos casos de reativação da doença, investigar a resistência bacilar, por meio dos ensaios de inoculação da suspensão de tecidos em camundongos para os testes de sensibilidade às drogas da PQT;
4. Entre os comunicantes intradomiciliares (CID), avaliar a incidência da doença, identificando casos novos diagnosticados previamente e por ocasião da intervenção;

5. Avaliar os CI e CID por meio dos exames dermatoneurológico e laboratoriais, entre os quais, baciloscopia, reação de Mitsuda, anti-PGL-I, detecção de DNA bacilar do muco nasal por reação da polimerase em cadeia;
6. Avaliar a aplicação de testes sorológicos e moleculares na distinção dos grupos de estudo;
7. Estabelecer, por meio dos exames laboratoriais, indivíduos e famílias com risco de adoecimento;
8. Caracterizar os aspectos sócio, econômicos, culturais e demográficos da população do estudo;
9. Discutir a aplicação dos exames laboratoriais empregados como aporte para as estratégias para a manutenção da fase de pós-eliminação da hanseníase;

3 MÉTODOS

3.1 Delineamento do estudo

Trata-se de estudo observacional, de coorte e transversal, para identificar casos virchowianos com recidiva e de resistência terapêutica; e casos novos da doença entre seus comunicantes, em população específica em área na fase de pós-eliminação da hanseníase.

Desta forma, no desenvolvimento do trabalho, foram constituídos os seguintes grupos de estudo:

- a) Casos-índices tratados regularmente com PQT-MB 24 doses;
- b) Contatos-adoecidos: aqueles que foram acometidos pela doença desde o período do diagnóstico do caso-índice;
- c) Contatos-saudáveis: contatos clinicamente sadios e que se mantiveram sem sinais/sintomas da doença até avaliação realizada no presente estudo;
- d) Casos novos e casos-índices tratados com sinais/sintomas de atividade da doença.

A seleção do local para a coleta da amostra decorre do propósito do estudo em região com controle da endemia, o estado de Santa Catarina, e os municípios que representassem as taxas de prevalência mais elevadas entre 1990 e 2000 neste estado.

O projeto foi submetido e aprovado junto ao Comitê de Ética Médica do Instituto Lauro de Souza Lima (protocolo 153/08) e à Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPESQ) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (registro nº 4274).

3.2 População

A população alvo consistiu em portadores de hanseníase virchowiana tratados regularmente com PQT-MB- 24 doses- e seus contatos, procedentes dos municípios de Joinville e Itajaí, estado de Santa Catarina (SC).

3.3 Locais da realização do estudo

Centro de Orientação e Diagnose Municipal (CODIM) em Itajaí, e Unidade de Saúde de Referência para atendimento de portadores de hanseníase dos em Joinville, Santa Catarina, e Instituto Lauro de Souza Lima (ILSL), Bauru, São Paulo.

3.4 Amostragens, amostras e métodos de seleção

3.4.1 Seleção de municípios e levantamento dos registros dos pacientes virchowianos e contatos

Posteriormente ao consentimento formal do Departamento de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Estado da Saúde de Santa Catarina, foi realizada consulta aos registros eletrônicos disponíveis no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). Ao se considerar a qualidade das informações, o número absoluto de pacientes virchowianos diagnosticados, assim como a disponibilidade de apoio logístico do serviço de saúde local, as cidades selecionadas foram Itajaí e Joinville. Foram coletados, do SINAN e/ou dos livros de registros das Unidades de saúde de referência, os dados referentes aos doentes diagnosticados como portadores de hanseníase na faixa virchowiana, tratados regular e sucessivamente com PQT-MB 24 doses, entre 1990 e 2000, e os de seus contatos.

3.4.2 Caracterização dos serviços de saúde na assistência aos portadores de Hanseníase do estado de Santa Catarina e os municípios selecionados

O sistema de assistência à saúde do estado de Santa Catarina conta com 1735 Unidades Básicas de Saúde e 294 Unidades de Saúde de Referência, nas quais se centraliza a assistência ao pacientes de hanseníase.

Na visita aos municípios e às Unidades de Saúde selecionadas, a proposta do estudo foi exposta aos profissionais de saúde, de modo a se obter cooperação e envolvimento, com a contrapartida da atualização, discussão dos casos, capacitação em serviço e parceria do Instituto Lauro de Souza Lima na retaguarda para resolução dos problemas advindos do desenvolvimento do projeto, e da avaliação dos pacientes tratados e seus comunicantes.

3.4.3 Seleção dos pacientes e método de convocação para participação no estudo

Posteriormente ao contato com as equipes das unidades de saúde dos municípios selecionados, procedeu-se à consulta aos prontuários-médicos e o convite aos pacientes e seus comunicantes selecionados para participação no estudo. Nos prontuários-médicos foram confirmados: diagnóstico clínico e laboratorial (baciloscopia do esfregaço e

histopatologia); registro do número total de doses administradas; a evolução da doença e sua cura clínica, e o número e o nome dos comunicantes intradomiciliares à época do diagnóstico.

O contato foi realizado por meio de envio de correspondência ou telefone, e os pacientes tratados e seus comunicantes foram convidados a se apresentar para reavaliação na unidade de saúde de cada município sem a informação do motivo, de forma a preservar o sigilo diagnóstico dos casos-índices. Oportunamente, na visita à Unidade de Saúde de Referência, foram informados do estudo e seus objetivos. Para aqueles que aceitaram participar, foram prestados esclarecimentos acerca dos procedimentos a serem realizados, verbalmente, e também por escrito no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), que foi assinado na concordância da participação no estudo (Anexos A e B). Foi assegurada a liberdade de opção de não participarem do estudo, sem que isto prejudicasse qualquer seguimento e plano terapêutico. Aqueles incluídos no estudo continuariam em seguimento no ambulatório, e os procedimentos adotados para esta investigação clínica não iriam interferir, nem atrasar, o tratamento do(s) problema(s) de saúde porventura diagnosticado(s).

Todos os procedimentos realizados no estudo, e a seguir descritos, foram constantes nos TCLEs anexos ao projeto submetido à Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPESQ) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

3.4.4 Critérios de inclusão e exclusão nos grupos de estudo

Os critérios de inclusão para os grupos de estudo foram:

- a) **Grupo dos casos-índices:** pacientes com diagnóstico clínico/histológico/baciloscópico de hanseníase na faixa virchowiana, diagnosticados no período entre 1990 a 2000, tratados regularmente com PQT-MB-24 doses- e com alta por cura, concordantes com a participação e os procedimentos pertinentes ao estudo.
- b) **Grupo dos contatos:** contatos intradomiciliares, à época e posterior ao diagnóstico, dos pacientes com diagnóstico clínico, histológico e/ou baciloscópico de hanseníase na faixa virchowiana entre 1990 a 2000, tratados regular e sucessivamente com PQT-MB - 24 doses-, concordantes com a participação e os procedimentos pertinentes ao estudo. Estendeu-se a avaliação aos familiares extradomiciliares, especialmente crianças, que mantiveram convívio com o doente, caso-índice ou comunicante intradomiciliar adoecido.

Os critérios de exclusão nos grupos de estudo foram:

- a) discordância da participação no estudo, o que não impediu a sequencia de investigação para a confirmação da hanseníase no caso novo ou sua recidiva no caso-índice;
- b) desde que todos os suspeitos seriam investigados, a exclusão ocorreria a *posteriori* quando da análise de dados pelo não

cumprimento dos critérios de inclusão, como a irregularidade do tratamento ou condição de imunossupressão;

3.4.5 Procedimentos da avaliação clínica, laboratorial e epidemiológica dos pacientes tratados e dos seus contatos

Os pacientes e seus contatos foram submetidos ao exame físico e dermatoneurológico no período de abril a maio de 2008. Na suspeita da recidiva ou detecção do caso novo, foi indicada a investigação laboratorial para a sua confirmação. Esta investigação consistiu na realização dos procedimentos padrões e adicionais para a confirmação diagnóstica e detecção da micobactéria: 1) baciloscopia de lesões e pontos índices (lóbulo de orelhas, cotovelos e joelhos); 2) biópsia para o exame histopatológico e, adicionalmente, 3) um fragmento de pele para a inoculação na pata de camundongo e extração de DNA bacilar, quando indicado; 4) reação intradérmica de Mitsuda; 5) sorologia para detecção de anticorpos anti-PGL-I e 6) coleta de muco nasal para pesquisa do DNA bacilar. Os quatro últimos testes laboratoriais não são disponíveis, em geral, para a rotina de investigação de hanseníase nos serviços de saúde.

Na avaliação dos **casos novos**, quando do comprometimento neural exclusivo e ausência de lesões cutâneas, eventual dificuldade ou recusa da realização de exames complementares diagnósticos, foi empregada a classificação operacional em acordo com a Portaria 3125, Ministério da Saúde (Brasil, 2010).

Os pacientes inicialmente diagnosticados como virchowianos, regularmente tratados com PQT-MB 24 doses, foram submetidos aos procedimentos supracitados, e à nova baciloscopia de pontos índices ou de lesões regressivas. No caso de lesões específicas ou da suspeita de atividade da doença, foi realizada biópsia para o exame histopatológico e, adicionalmente, coleta de um fragmento de pele para a inoculação na pata de camundongo e extração de DNA bacilar, quando indicada.

Foi considerada recidiva da doença quando encontrados os seguintes achados: i) reaparecimento de novas lesões de pele; ii) piora recente da função neurológica e iii) presença de bacilos íntegros no exame histopatológico ou baciloscópico, de acordo com a Portaria 3125 do Ministério da Saúde do Brasil (Brasil, 2010).

Nos contatos sem a suspeita da doença, além de cuidadoso exame clínico e exame dermatoneurológico, foi proposta a realização: a) coleta do muco nasal para a pesquisa do bacilo no muco nasal; b) coleta de sangue para sorologia anti-PGL-I e c) reação intradérmica de Mitsuda.

Os resultados dos exames laboratoriais foram fornecidos ao médico da unidade de saúde responsável pelo atendimento dos pacientes, para posterior seguimento.

Aos doentes e contatos, foi questionado acerca do conhecimento de familiares adoecidos ou de doentes externos ao núcleo familiar.

3.5 Procedimentos: coleta das amostras e ensaios

3.5.1 Biópsias cutâneas

As biópsias cutâneas foram realizadas nas áreas representativas das lesões ativas ou suspeitas, com puncionador de 5mm de diâmetro, após assepsia e anestesia local tumescente com lidocaína 2% com epinefrina. Um fragmento foi depositado em frasco contendo 7mL de formol tamponado a 10% para posterior realização do exame anatomopatológico no ILSL. Nos casos suspeitos de recidiva, um segundo fragmento foi depositado em frasco estéril, e mantido refrigerado a 4°C para realização dos procedimentos de inoculação em pata de camundongo e da pesquisa biomolecular de genes relacionados à resistência terapêutica.

3.5.2 Ensaios para a pesquisa de resistência bacilar: inoculação na pata de camundongo.

3.5.2.1 Preparo do material biológico

O fragmento resultante da biópsia cutânea destinado à inoculação na pata do camundongo foi dividido em duas partes: uma para inoculação em coxim plantar de camundongos e a outra para extração de DNA. A inoculação foi realizada em acordo com a técnica de Shepard, e seguindo protocolo descrito na publicação Laboratory Techniques for

Leprosy (WHO, 1987). A biópsia foi macerada em homogeneizador de tecidos contendo solução salina balanceada de Hank's; 10uL da suspensão foram depositados em lâmina de microscopia previamente marcada com 3 círculos de 1cm de diâmetro cada; após secagem ao ar livre, as lâminas foram fixadas e coradas pela técnica de Ziehl-Neelsen a frio (Leiker & McDougall, 1987). Todos os procedimentos foram realizados sob condições assépticas e em câmara de fluxo laminar. O número de bacilos presentes na suspensão foi estimado através de cálculos matemáticos e o valor ajustado para 10.000 (10^4) bacilos/0,03mL.

3.5.2.2 Inoculação da suspensão do tecido

A inoculação da suspensão contendo 10^4 bacilos/0,03mL foi realizada por via intradérmica no coxim plantar traseiro esquerdo de 30 camundongos da linhagem BALB/c (para cada paciente), com 8 semanas de idade e de ambos os sexos.

Os animais foram divididos em 03 grupos: 1) controle (dieta sem drogas), dapsona (DDS) 0,01g% e rifampicina (RFP) 10mg/kg. A DDS (Sigma®) foi adicionada à ração e a RFP (Merck®) foi administrada via gavagem, uma vez por semana durante 06 meses. Os animais foram mantidos em salas climatizadas, com temperatura média de 22°C, recebendo água e ração *ad libitum*. Após 10 meses de inoculação, os animais foram sacrificados. O coxim plantar foi excisado e macerado de acordo com o protocolo, para posterior contagem do número de bacilos.

Foi considerada multiplicação bacilar significativa o crescimento igual ou superior a 1×10^5 bacilos/pata. Os resultados foram interpretados como: **sensível**, somente quando ocorreu multiplicação bacilar no grupo controle; **resistente**, quando a multiplicação ocorreu no grupo controle e em qualquer animal que recebeu DDS ou RFP; e **inconclusivo**, quando não houve multiplicação bacilar no grupo controle e nos tratados.

Os experimentos nos animais foram realizados no Laboratório de Microbiologia e Biotério do Instituto Lauro de Souza Lima, sob a coordenação da pesquisadora Suzana M. Diório.

3.5.3 Pesquisa de bacilos nos esfregaços nasais e do raspado dérmico

O Índice Baciloscópico (IB) e o Índice Morfológico (IM) foram realizados a partir de material proveniente de esfregaços dérmicos das lesões cutâneas e/ou de lóbulos das orelhas, joelhos e cotovelos. As lâminas foram coradas pelo método de Ziehl-Neelsen a frio e o resultado seguiu a escala de logarítmica de Ridley (0 a 6+) (Leiker & McDougall, 1987).

A coloração e leitura das lâminas de baciloscopias foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do ILSL, sob a coordenação da pesquisadora Suzana M. Diório.

3.5.4 Extração e amplificação de fragmentos do DNA de *M. leprae* da secreção nasal

Para a extração de DNA de *M. leprae*, foi realizada a coleta de muco da concha nasal por meio de *swab* estéril de plástico com ponta de algodão. A haste foi cortada com tesoura estéril e a parte restante emergida em tubo tipo “eppendorf” contendo 500 μ L de tampão Tris-EDTA, pH 8. Deste modo, os frascos foram conservados e transportados em temperatura ambiente ao ILSL. No laboratório, o *swab* foi retirado do tampão com pinça estéril, e a suspensão submetida a três ciclos sucessivos de 5 minutos de choque térmico por congelamento em álcool/gelo seco (aproximadamente -70°C), seguido de aquecimento a 95 °C. Em seguida, foi feita uma digestão com 300 μ g/mL de proteinase K por 12 horas a 60°C. A proteinase K foi inativada pelo calor a 95°C por 10 minutos, e o homogeneizado foi extraído com igual volume (400 μ L) de fenol / clorofórmio / álcool isoamílico (25:24:1), seguido de centrifugação a 12.000 rpm por 2 minutos. Nas etapas seguintes, o DNA foi precipitado com isopropanol e lavado com álcool 70%. O precipitado de DNA seco à temperatura ambiente e ressuspensão em 100 μ L de Tris-EDTA (TE).

Para a reação de PCR, foram utilizados 100ng de DNA alvo das cepas *M. leprae* em estudo. Foram realizadas duas reações separadas de PCR para as seqüências de inserção RLEP-372 e RLEP-130. Brevemente, foram utilizados 200ng de cada iniciador: RLEP-372 (F) 5' GCA CGT AAG CCT GTC GGT GG 3' e RLEP-372 (R) 5' CGG CCG GAT CCT CGA TGC AC 3', RLEP-130 (F) 5' GCA CGT AAG CAT GTC GGT GG 3' e RLEP-130 (R)

5´ CGG CCG GAT CCT CGA TGC AC 3´, 200 uM de cada dNTPs, 2,5 mM MgCl₂, 1 U de Taq polimerase, perfazendo um volume total de 25 µl. Um outro par de primers que amplifica o gene NRAMP1 (constitutivo humano) de 200pb - NRAMP1(F) 5´ ACT CGC ATT AGG CCA ACG A 3´ e NRAMP1(R) 5´ TTC TGT GCC TCC CAA GTT AGC 3´ foi adicionado como controle interno das reações e de falsos negativos. O programa de amplificação consistiu de: desnaturação inicial do DNA a 94° C por 5 minutos; 30 ciclos de desnaturação a 94° C por 1 minuto, anelamento a 60,2° C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto e um ciclo final de 72°C por 5 minutos.

O produto da PCR foi analisado em gel de agarose 2% preparado em tampão TBE 1X, para verificar a presença de produtos amplificados de DNA do *M. leprae*. A corrida eletroforética foi efetuada a 100V por 1 hora. Ao final, o DNA foi corado com solução de brometo de etídeo (10mg/mL), visualizado sob luz ultravioleta em transiluminador e fotografado para análise.

Os ensaios acima descritos foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular do Instituto Lauro de Souza Lima, sob a coordenação da pesquisadora Ida Maria Foschiani Dias Baptista.

3.5.5 Reação intradérmica de Mitsuda

A suspensão a ser utilizada como antígeno de Mitsuda foi preparada no ILSL, concentração de $6,0 \times 10^7$ bacilos/mL em solução isotônica de NaCl, esterilizada pelo calor e conservada com ácido fênico.

A suspensão foi injetada na face anterior do braço por via intradérmica no volume de 0,1mL, utilizando-se seringa de 1mL e agulha de 13 x 3,8mm. Após 28 dias, foi realizada a leitura com avaliação clínica da reação cutânea, expressa na medida milímetros de induração e o cálculo da média aritmética dos seus dois maiores diâmetros, seguindo os critérios propostos pelo Congresso Mundial de Leprologia (Madrid, 1953). O resultado foi considerado negativo quando da ausência de qualquer sinal no ponto de inoculação, ou a presença de pápula ou nódulo com média dos diâmetros menor do que 5 mm; e positivo, para a pápula ou nódulo maior ou igual a 5 mm ou ulceração (Brasil, 1994).

3.5.6 Quantificação dos níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I (ND-O-BSA) pela técnica imunoenzimática (ELISA)

Os testes ELISA foram realizados em placas de microtitulação com 96 cavidades, previamente revestidas de PGL-I-ND-O-BSA. O antígeno foi gentilmente cedido pelo Professor Dr. John Spencer, do Laboratório de Pesquisas em Micobactérias da Universidade Estadual do Colorado, EUA. A técnica utilizada foi a desenvolvida por Brett et al. (1986), modificada levemente por Silva et al. (2007), como descrita a seguir:

As placas foram cobertas com 50µL do antígeno semissintético PGL-I-ND-O-BSA, previamente diluído na concentração de 0,2mg/mL de tampão carbonato, e posteriormente incubadas por 24 horas a 40 C. Em seguida, foram realizadas seqüencialmente as seguintes etapas: a) lavagens

das placas, quatro vezes seguidas, com tampão PBST; b) adição de 100 μ L por poço da solução bloqueadora (PBS a 1% de BSA); c) incubação por 1 hora a 37°C; d) retirada da solução bloqueadora, invertendo a placa em papel de filtro; e) adição de 50 μ L do soro teste diluído a 1:500 em PBST a 10% de NGS e dos soros controles positivo e negativo; f) incubação por 1 hora a 37°C; g) lavagens das placas, quatro vezes seguidas, com PBST e retirada do excesso de tampão; h) adição de 50 μ l de conjugado anti-IgM humana (α IgM-H) ligado a peroxidase e diluído a 1:10.000 em PBST a 10% com NGS em toda a placa; i) incubação por 1 hora a 37° C; j) nova sessão de lavagem por quatro vezes; k) adição de 50 μ L do substrato OPD; l) incubação em temperatura ambiente, no escuro, por 30 minutos; m) interrupção da reação pela adição de 50 μ L da solução de ácido sulfúrico 2,5N; n) realização da leitura em espectrofotômetro a 490nm.

Todas as amostras foram feitas em duplicata, e o resultado final foi considerado como a média da soma dos dois valores obtidos nos poços com antígeno adsorvido, diminuída da média da soma dos dois valores obtidos nos poços contendo apenas BSA (controles negativos). Para finalidade do cálculo do *cut-off*, foram considerados positivos valores superiores a 0,15, conforme a referência utilizada para a região sul do Brasil (Buhrer-Sékula et al, 2008b).

Os ensaios acima descritos foram realizados no Laboratório de Imunologia do Instituto Lauro de Souza Lima, sob a coordenação da pesquisadora Maria Esther Salles Nogueira.

3.6 Análise estatística

Para a comparação das variáveis qualitativas entre os grupos foi empregado o teste exato do qui-quadrado.

Para a comparação das variáveis quantitativas entre os grupos, quando os dados tinham distribuição normal, foi utilizado a ANOVA e o teste de Tukey.

Para a comparação das variáveis quantitativas que não tinham distribuição normal, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis e Dunn.

Para a comparação entre os resultados da sorologia anti-PGL-I e PCR para as RLEPs, foi utilizado o teste de McNemar.

Para a correlação entre as variáveis quantitativas, foi aplicado o coeficiente de correlação de Pearson.

Para a correlação entre as variáveis categóricas, foi aplicado o coeficiente de contingência.

O nível de significância adotado foi menor que 5% ($p < 0,05$).

3.7 Aspectos legais de bioética, biossegurança, expedições científicas, propriedade intelectual e outras determinações pertinentes

Os aspectos éticos e aqueles relativos à biossegurança foram julgados pela Comissão Científica e Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Lauro de Souza Lima de Bauru e à Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPESQ) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os seguintes tópicos foram priorizados: i) anuência formal dos pacientes envolvidos; ii) respeito à privacidade dos pacientes; iii) busca de melhoria na qualidade de assistência aos portadores de hanseníase.

A inclusão dos pacientes no estudo foi realizada em acordo com as normas estabelecidas pelo Comitê de Ética em Pesquisa Médica do Instituto Lauro de Souza Lima de Bauru e do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo (HC-USP). O trabalho de pesquisa foi conduzido de forma a contemplar as disposições contidas nas resoluções CNS nº 196/1996 sobre a pesquisa envolvendo seres humanos e atendeu às exigências éticas e científicas fundamentais. A elaboração do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) do sujeito da pesquisa e/ou seu representante legal (Anexos A e B) foi baseada nas resoluções vigentes, e seguiu as seguintes orientações: linguagem acessível, esclarecimentos do propósito do estudo e dos procedimentos necessários, confiabilidade e privacidade. Aos pacientes foi assegurada a liberdade de opção de não participarem do estudo, sem prejuízo, atraso ou interferência no seu seguimento, escolha ou realização da coleta dos exames para pesquisa propostas.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização geral dos grupos de estudo

Em acordo com os registros do SINAN e dados obtidos junto à Secretaria de Estado da Saúde de Santa Catarina, foram elencados 67 casos índices (CI), 31 pertencentes ao município de Joinville e 36 ao município de Itajaí. O grupo de CI consistia em indivíduos com o diagnóstico de hanseníase da faixa virchowiana realizado entre 1990 e 2000, que tratados com PQT-MB 24 doses receberam alta por cura. Foram identificados 246 contatos intradomiciliares (CID) relacionados aos CI em questão. Posterior à convocação de ambas as categorias, compareceram às Unidades de Saúde de Referência, para avaliação proposta no estudo, 46 (68,6%) CI e 187 (76%) CID, como observado na tabela 1. Da amostra total, a maioria (71,2%) era procedente do estado de Santa Catarina; e 111 indivíduos (20CI; 91CID) foram avaliados em Joinville e 122 em Itajaí (26CI; 96CID).

Como resultado da avaliação dos CID, 88,2% (165/187) dos indivíduos negou diagnóstico e tratamento prévios da hanseníase e não apresentavam sinais e/ou sintomas clínicos da doença, e este grupo de indivíduos foi denominado como o de contatos intradomiciliares clinicamente saudáveis (CIDs).

A outra parcela dos CID, 11,8% (22/165), constituiu daqueles contatos intradomiciliares que foram acometidos pela doença (CIDd); destes 16 (72,7%) afirmaram já ter sido diagnosticados e tratados por hanseníase; e

os demais, 6 (27,3%), compreenderam os casos novos diagnosticados durante a presente investigação (Tabela 1).

4.2 Grupo dos casos índices (CI)

O grupo foi constituído por 46 indivíduos avaliados, 34 homens (73,9%) e 12 mulheres (26,1%), idade mínima de 29 anos e máxima de 81 anos, com média de $53,7 \pm 14,5$ anos, estatisticamente superior a dos outros dois grupos, CIDs e CIDd ($p < 0,001$; ANOVA e teste de Tukey). No grupo, a prevalência do sexo masculino foi estatisticamente significativa ($p = 0,001$; teste do qui-quadrado), estabelecendo a razão homem: mulher de 2,83 (Tabela 1). Dezesete pacientes (37%) não eram naturais do estado de Santa Catarina (Tabela 1). Considerando-se o período entre 1990 e 2000, previamente estipulado para o diagnóstico e início do regime terapêutico PQT-MB 24 doses, o tempo médio após o término do tratamento foi de $11,2 \pm 3,0$ anos, mínimo de seis e máximo de 17 anos.

Tabela 1- Características dos contatos intradomiciliares clinicamente saudáveis (CIDs), contatos intradomiciliares acometidos pela doença (CIDd) e seus respectivos casos-índices (CI) multibacilares, tratados com PQT-MB e diagnosticados entre 1990 e 2000 em Joinville e Itajaí, Santa Catarina

| | CI (n=46) | CIDd (n=22) | CIDs (n=165) | Total n (%) |
|--------------------------------|------------------------|-------------|-------------------------|-------------|
| Sexo n (%) | | | | |
| Masculino | 34 (73,9) ^a | 11 (50) | 62 (37,6) | 107 (46%) |
| Feminino | 12 (26,1) | 11 (50) | 103 (62,4) ^b | 126 (54%) |
| Idade (anos) | | | | |
| Média ± DP | 53,7±14,5 ^c | 40±16,9 | 31,7±17,7 | 36,8±19,1 |
| Naturalidade n (%) | | | | |
| Santa Catarina | 29 (63) | 16 (72,7) | 121 (73,7) | 166 (71,2) |
| Outro estado | 17 (37) | 6 (27,3) | 44 (26,3) | 67 (28,8) |
| Parentesco com CI n (%) | | | | |
| Filho (a) | | 11 (50) | 85 (51,5) | 96 (41,2) |
| Pais | | 3 (13,6) | 9 (5,4) | 12 (5,1) |
| Irmão (ã) | | 2 (9) | 11 (6,7) | 13 (5,6) |
| Cônjuge | | 3 (13,6) | 25 (15,1) | 28 (12) |
| Outros | | 3 (13,6) | 35 (21,2) | 38 (16,3) |

^ap= 0,001 (χ^2); ^bp=0,002 (χ^2); ^cp<0,001 (ANOVA e teste de Tukey)

Vinte e cinco CI (54,3%; 25/46) relataram a ocorrência de reação hansênica, predominantemente do tipo 2 (97,5%): em 1 caso o evento foi a manifestação inicial da doença; e em 16 (64%) casos, os episódios reacionais ocorreram durante e após o período de tratamento; em 8 (32%) destes, somente após a conclusão do tratamento PQT-MB. Na consulta aos prontuários médicos dos CI (n=46), foi observado que em 20 (43,5%) havia

registro da avaliação do grau de incapacidade ao diagnóstico. De acordo com estes registros, em somente três casos (15%) havia ausência de incapacidade (grau zero) e 17 casos (85%) apresentavam grau de incapacidade maior ou igual a 1, sendo 2 casos (10%) com grau 2. A avaliação do grau de incapacidade na alta por cura foi realizada em seis pacientes (13%); destes, 5 casos (83,3%) apresentaram grau 2.

Entre os CI reavaliados (n=46), doze casos (26,1%) foram investigados com lesões suspeitas ou apresentavam história do reaparecimento insidioso dos sinais ou sintomas sugerindo atividade da doença. Seis eram masculinos e seis, femininos, idade média 55,4 anos \pm 12,3, diagnosticados entre 1991 e 2000. Entre estes, quatro apresentaram positividade para sorologia anti-PGL-I; dois para RLEP-130, um destes, positivo em ambos os testes. O swab do muco nasal foi negativo na coloração para BAAR em todos os indivíduos testados. Nestes indivíduos investigados, dois padrões principais foram observados na histopatologia dos fragmentos de pele obtidos por biópsia: a) infiltrado inflamatório histiocitário multivacuolar e baciloscopia negativa e/ou ausência da coloração por fucsina de Ziehl em sete indivíduos (padrão residual) [Figura 6]; b) macrófagos multivacuolizados com a presença de bacilos fragmentados ou granulados, com aspecto de poeira bacilar ou *globii* (padrão regressivo), em três indivíduos [Figura 4, 5]. Em dois CI, as alterações histopatológicas não estavam relacionadas à hanseníase, ou seja, dermatite de interface vacuolar, compatível com lúpus cutâneo discóide (CI # 118), e dermatite crônica superficial subaguda (CI # 161).

Fragmentos da biópsia cutânea de quatro CI com lesões suspeitas foram testados no ensaio de resistência bacilar na pata do camundongo. Como resultado, houve ausência de crescimento nos camundongos controles e tratados com DDS e RFM. Em decorrência da ausência do crescimento, não foram realizados os ensaios de biologia molecular para resistência às drogas.

Na investigação dos casos suspeitos (n=12), quatro casos mostraram exames laboratoriais fortemente sugestivos de atividade da doença. Em dois casos, havia critério de recidiva em acordo com a Portaria 3125 (Brasil, 2010), piora recente da função neurológica e os seguintes exames laboratoriais: a) CI #118 positividade nos testes, RLEP-130 e RLEP-372 e histopatologia de dermatite de interface vacuolar; b) CI #135 com elevado nível sérico de anti-PGL-I (0,656) (Tabela 2). Em adição, nestes dois casos, foram identificados contatos com doença em atividade, e não previamente diagnosticada ou tratada, o que representou três casos novos diagnosticados na presente investigação, como detalhado a seguir: a) CI #118 convivia com duas filhas com doença ativa: uma com hanseníase tuberculóide (CN #114) e outra com a forma dimorfa-tuberculóide (CN #112) b) CI #135 convivia com filho diagnosticado com hanseníase dimorfa-tuberculóide neural pura (CN #137) (Tabela 5). Na avaliação do conjunto das condições destes dois CI (2/46; 4,3%), foi então indicado o reinício da PQT-MB.

Baseados na suspeita clínica e nos testes realizados, houve indicação de recidiva em outros dois casos, CI#11 e CI#35. Em ambos, foi

evidenciado níveis elevados de anti-PGL-I (0,409 e 0,340) e a positividade do RLEP-130, sendo o segundo (CI #35) com lesões suspeitas e baciloscopia positiva (+2; bacilos fragmentados) na histopatologia, como detalhado na tabela 2. Em adição, na família do caso #35, todos os CIDs mostraram RLEP-130 positivo, e um destes CID em risco, com todos os testes positivos. No entanto, estes dois casos não cumpriam os critérios de recidiva da portaria 3125 (Brasil, 2010). Embora o conjunto da clínica, histopatologia e/ou exames indicassem a recidiva, quanto aos aspectos dos procedimentos, foi considerada a proposta da reavaliação com repetição dos exames e estreito monitoramento para a indicação do re-tratamento.

Entre os quatro CI considerados recidivados, houve 75% de positividade para o anti-PGL-I e 75% para RLEP-130 (Tabelas 2 e 4). **O percentual de CI recidivados soropositivos tende a ser mais elevado comparado aos CI com alta por cura, com a conclusão de tratamento por mais ou menos de 10 anos, e aos CID saudáveis (teste exato $\chi^2=6,80$; $p=0,07$).** Ainda, o percentual com positividade do RLEP-130 entre os CI recidivados é significativamente mais elevado comparado aos saudáveis (teste exato $\chi^2=8,92$; $p=0,03^*$).

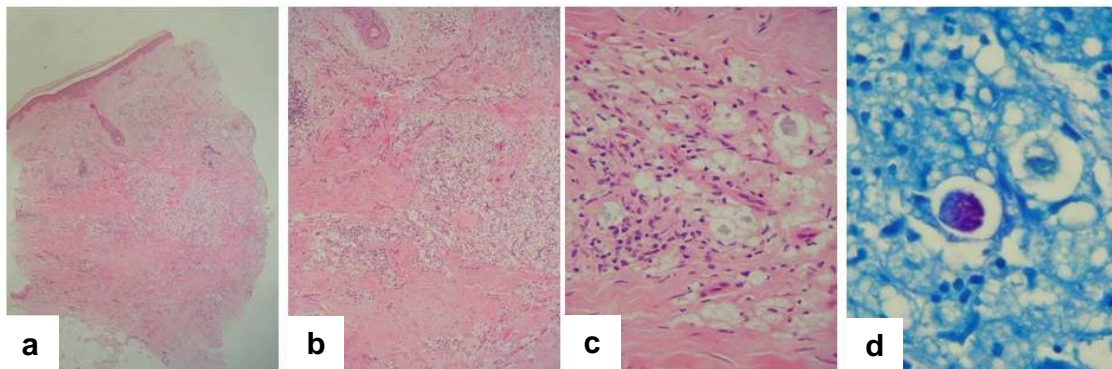


Figura 4- Hanseníase virchowiana em regressão (caso # 78): a) pele com infiltrado histiocitário xantomizado no derma superficial e profundo. (HE, 50x); **b)** infiltrado histiocitário composto de macrófagos multivacuolizados (HE, 100x); **c)** em detalhe, macrófagos multivacuolizados com material basofílico (*globii*) no interior (HE, 400x); **d)** células de Virchow contendo material bacilar parcialmente corado ou descorado no interior de vacúolo intracitoplasmático (Faraco-Fite, 1000x)

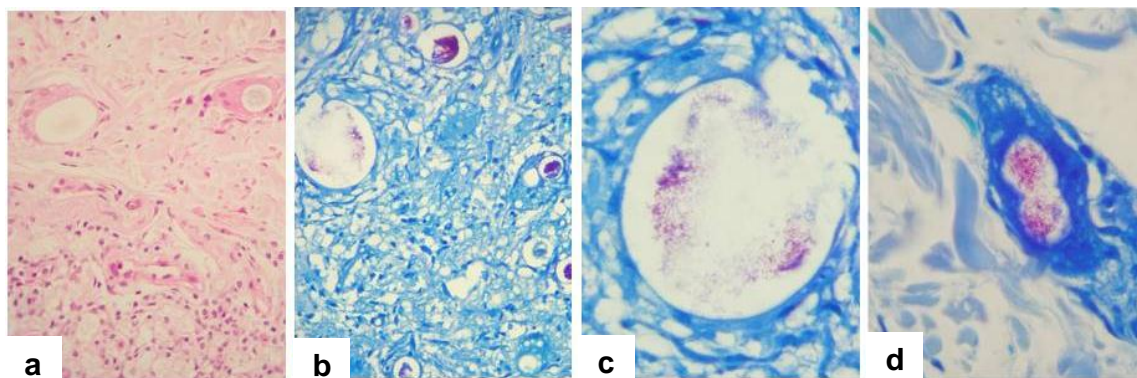


Figura 5- Hanseníase virchowiana em regressão (caso # 146): a) infiltrado histiocitário xantomizado no derma profundo, com focos de reação granulomatosa gigantocelular tipo corpo estranho englobando material basofílico (HE, 400x); **b)** células de Virchow contendo material bacilar parcialmente corado ou descorado no interior de vacúolo intracitoplasmático (Faraco-Fite, 400x); **c)** grande vacúolo contendo bacilos parcialmente corados e fragmentados. (Faraco-Fite, 1000x); **d)** células de Virchow e célula gigante tipo corpo estranho contendo bacilos fragmentados e bem corados no interior de vacúolo intracitoplasmático- baciloscopia 4+ (Faraco-Fite, 1000x)

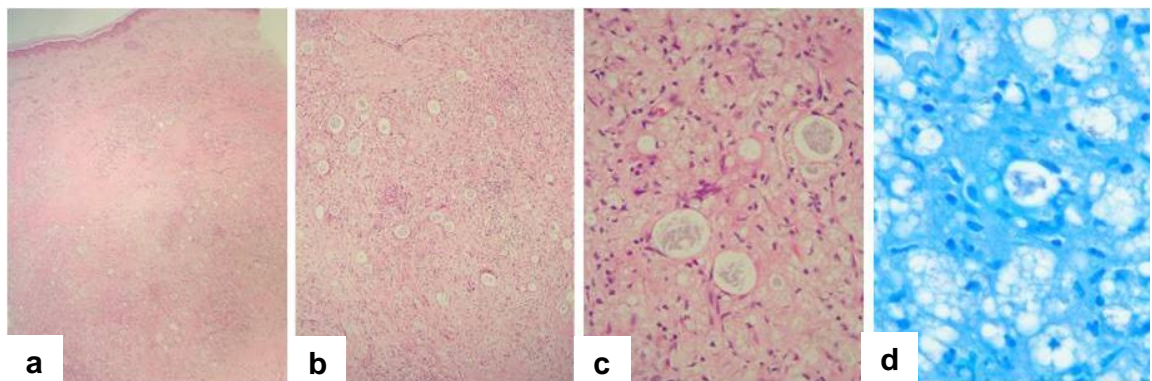


Figura 6- Hanseníase virchowiana residual (caso # 35): a) pele com infiltrado histiocitário xantomizado no derma superficial e profundo, com inúmeros vacúolos (HE, 50x); **b)** detalhes do infiltrado histiocitário xantomizado evidenciando células mononucleares de permeio e inúmeros vacúolos contendo material basofílico (HE, 100x); **c)** inúmeras células de Virchow no derma profundo, com esparsas células mononucleares, e vacúolos contendo material basofílico (HE, 400x); **d)** infiltrado macrófagico multivacuolizado contendo material bacilar descorado no interior de vacúolos intracitoplasmáticos (Faraco-Fite, 1000x)

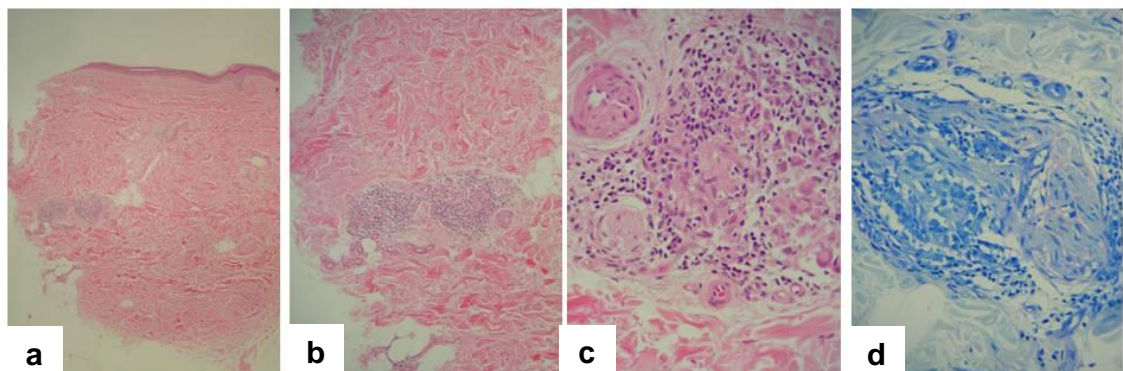


Figura 7- Hanseníase tuberculóide (caso # 10): a) pele com infiltrado inflamatório linfo-mononuclear no derma superficial e médio. (HE, 50x); **b)** infiltrado inflamatório granulomatoso ao redor de nervo no derma médio. (HE, 100x); **c)** infiltrado inflamatório granulomatoso com células epitelióides e delaminação perineural. (HE, 400x); **d)** infiltrado inflamatório granulomatoso com células epitelióides no endoneuro e destruição de ramo nervoso dérmico; baciloscopia negativa. (Faraco-Fite, 50x)

Tabela 2- Resultados dos exames laboratoriais dos casos-índices (CI) multibacilares tratados com PQT-MB com suspeita de recidiva da hanseníase, diagnosticados entre 1990 e 2000 em Itajaí e Joinville-SC

| Caso | Anti-PGL-I | RLEP-130 | RLEP- 372 | Histopatologia | |
|------------------|------------|----------|-----------|--------------------------|----------------------------|
| | | | | Baciloscopia/ bacilos | Infiltrado Inflamatório |
| 11 ^a | 0,340 | Positivo | | NR | NR |
| 13 | 0,011 | (-) | (-) | Negativa | Inespecífico |
| 35 ^a | 0,409 | Positivo | (-) | (2+)/fragmentados | Macrófagos vacuolizados |
| 78 | 0,125 | (-) | (-) | <i>Globii</i> | Macrófagos vacuolizados |
| 130 ^b | 0,371 | (-) | (-) | Negativa | Inespecífico |
| 118 ^c | 0,075 | Positivo | Positivo | Negativa | ¥ |
| 135 ^c | 0,656 | (-) | (-) | Negativa | Inespecífico |
| 146 | 0,031 | (-) | (-) | (4+)/fragmentados | Macrófagos vacuolizados |
| 151 | 0,051 | (-) | (-) | Negativa | Inespecífico |
| 161 | NR | (-) | (-) | Negativa | § |
| 183 | 0,010 | (-) | (-) | Negativa | Inespecífico |
| 193 | 0,280 | (-) | (-) | Negativa | Inespecífico |
| 250 | 0,010 | NR | NR | Negativa | Inespecífico |

Anti-PGL-I: anti-glicolípido fenólico-I, *cut-off* $\geq 0,15$; RLEP: seqüência repetitiva para genes não codificadores de proteínas específicas do *M. leprae*; (-) teste negativo; NR: Não realizado

^a **Casos #11 e #35:** indicação de recidiva, reavaliação clínico laboratorial e monitoramento para o re-tratamento

^b **Caso #130:** excluído, relato de transplante de medula

^c **Casos #118 e #135:** conviviam com doentes de hanseníase diagnosticados por ocasião do estudo e foram considerados como recidivados

¥ Dermatite de interface vacuolar; § Dermatite crônica superficial subaguda

Em sete CI, foi evidenciado tratamento progressivo com monoterapia sulfônica (DDS) ou regime DNDS. Os testes realizados neste subgrupo

foram detalhados na tabela 3, disposta a seguir. Dois casos (#31 e #40) apresentaram positividade do anti-PGL-I e um caso (#1), do RLEP-130. Apesar destes testes, não foram encontradas outras evidências da atividade da doença, e passaram a ser considerados no subgrupo CI com alta por cura. Este grupo foi analisado em conjunto com todo o grupo e em separado (tabelas 3 e 4).

Tabela 3- Resultados dos exames laboratoriais dos casos-índices (CI) tratados com regime monoterápico (DDS), ou DNDS prévio, e 24 doses de PQT-MB, diagnosticados entre 1990 e 2000 em Itajaí e Joinville-SC

| Caso | Anti-PGL-I | RLEP-130 | RLEP- 372 |
|------|--------------|-----------------|-----------|
| 1 | 0,074 | Positivo | (-) |
| 88 | 0,068 | (-) | (-) |
| 97 | 0,071 | (-) | (-) |
| 153 | 0,172 | (-) | (-) |
| 183 | 0,010 | (-) | (-) |
| 185 | 0,048 | (-) | (-) |
| 193 | 0,280 | (-) | (-) |

Anti-PGL-I: anti-glicolípido fenólico-I, *cut-off* $\geq 0,15$; RLEP: seqüência repetitiva para genes não codificadores de proteínas específicas do *M. leprae*; (-) teste negativo

Em adição, na análise geral do grupo CI, foram excluídos quatro casos: a) dois casos haviam sido previamente re-tratados como recidiva com PQT-MB (casos # 50 e # 190); b) um caso relatou transplante de medula

(caso # 130); c) em um caso foi constatado tratamento irregular e reinícios da PQT-MB (CI # 87).

Nos demais trinta e oito (90,5%) indivíduos do grupo CI, que receberam alta por cura não foram encontradas evidências clínicas da doença em atividade. Entre os 28 CI que aceitaram ser submetidos e retornaram para a leitura do teste de Mitsuda, 22 (78,6%) apresentaram o diâmetro da induração menor que 5mm, considerado como negativo.

Na amostra do subgrupo **CI após alta por cura**, o nível sérico médio do anti-PGL-I foi abaixo do *cut-off* (0,103), mas 20,6% persistiram com positividade sorológica. Em adição, os valores do nível sérico médio (0,072) e da percentagem de indivíduos sorológicos-positivos (14,3%) foram os mais baixos de todo o grupo CI, se decorridos mais de 10 anos após término da terapêutica, significativamente diferente dos CI recidivados (teste exato do $\chi^2 = 10,58$; $p = 0,03$). Por outro lado, os valores do nível sérico médio do anti-PGL-I, acima do *cut-off* (0,152), e das percentagens de positividade da sorologia anti-PGL-I (28,6%) e do RLEP-130 (30%) foram os mais elevados entre aqueles CI com período ≤ 10 anos de conclusão de tratamento (Tabela 4). Os percentuais de positividade da sorologia foram similares àqueles com tratamento prévio com DDS/DNDS (28,6%). No entanto, neste grupo, o valor médio do nível sérico do anti-PGL-I estava abaixo do *cut-off* (0,103), e o percentual do RLEP-130 de 14,0%, o mais baixo quando comparado ao dos demais do grupo de CI, e significativamente diferente daquele do grupo CI recidivado (teste exato do $\chi^2 = 8,92$; $p = 0,03$), como detalhado na tabela 4 a seguir.

Tabela 4- Resultados dos testes laboratoriais dos contatos clinicamente saudáveis (CIDs), contatos intradomiciliares acometidos pela doença (CIDd) e seus respectivos casos-índices (CI), tratados com PQT-MB e diagnosticados entre 1990 e 2000 em Itajaí e Joinville-SC

| | Anti-PGL-I positivo % (n) | Anti-PGL-I valor médio (variação) | Mitsuda negativo % (n) | RLEP-130 positivo % (n) |
|---|----------------------------------|---|------------------------------|-------------------------------|
| CI (n=46)^a | | | | |
| Recidivados (n=4) | 75,0 (3/4)^{g,h} | 0,365 (0,075-0,656) | 100 (1/1) | 75,0 (3/4)ⁱ |
| Alta por cura (n=38) | 20,6 (7/35) ^g | 0,103 (0,002-0,478) | 78,6 (22/28) | 26,7 (8/30) |
| >10 anos (n=22) | 14,3 (3/21) ^h | 0,072 (0,002-0,280) | | 25,0 (5/20) |
| ≤10 anos (n=16) | 28,6 (4/14) | 0,152 (0,023-0,478) | | 30,0 (3/10) |
| DNDS/PQT (n=7) | 28,6 (2/7) | 0,103 (0,010-0,208) | | 14,0 (1/7) ⁱ |
| CIDd (n=22) | | | | |
| Casos novos (n=6)^b | 20,0 (1/5) ^{g,h} | 0,075 (0,002-0,157) | | 50,0 (3/6) |
| Alta por cura (n=12)^c | 18,2 (2/11) | 0,098 (0,016-0,256) | 33,3 (2/6) | 27,3 (3/11) |
| PQT- MB (n=8) | 25,0 (2/8) | 0,117 (0,018-0,256) | | 25,0 (2/8) |
| >10 anos (n=3) | 0 (0/3) | 0,083 (0,018-0,127) | | 33,3 (1/3) |
| ≤10 anos (n=5) ^d | 40,0 (2/5) | 0,138 (0,018-0,256) | | 20,0 (1/5) |
| Recidivados (n=2)^e | 100 (2/2) | 0,291 (0,191-0,392) | | 100 (1/1) |
| CIDs (n=165)^f | 36,8 (46/125)^g | 0,132 (0,001-0,582) | 34,9 (30/86) | 20,5 (26/127) ⁱ |
| Total (n=233) | 34,8 (64/184) | 0,133 (0,001-0,656) | 45,1 (55/122) | 24,3 (44/181) |

Anti-PGL-I: anti-glicolípídeo fenólico-I, *cut-off* ≥ 0,15; RLEP: seqüência repetitiva para genes não codificadores de proteínas específicas do *M. leprae*; Reação de Mitsuda (-): negativa induração ≤ 5mm; HT: Hanseníase tuberculóide; HDT: Hanseníase dimorfa-tuberculóide; MB: multibacilar; PB: paucibacilar; PQT: Poliquimioterapia

^a Exclusão de quatro casos: dois casos retratados previamente com PQT-MB; um caso com relato de transplante de medula; um caso tratamento irregular com PQT-MB

^b 03 casos HT; 03 casos HDT

^c 08 casos MB; 04 casos PB; excluídos: 01 caso MB com tratamento irregular; 01 caso não avaliado

^d 02 casos tratados MDT-MB 12 doses

^e 01 caso em vigência de re-tratamento MDT-MB

^f Incluídos 11 CCs em risco, positividade em dois ou três dos testes

^g Teste exato do $\chi^2 = 6,80$; $p = 0,07$; ^h Teste exato do $\chi^2 = 10,58$; $p = 0,03$; ⁱ Teste exato do $\chi^2 = 8,92$; $p = 0,03$

Ainda, na avaliação da relação entre o tempo decorrido após a alta terapêutica dos CI e os níveis séricos de PGL-I, houve correlação negativa, estatisticamente significativa ($p=0,038$; $r= -0,32$; teste de correlação de Pearson), como ilustrado na figura 8.

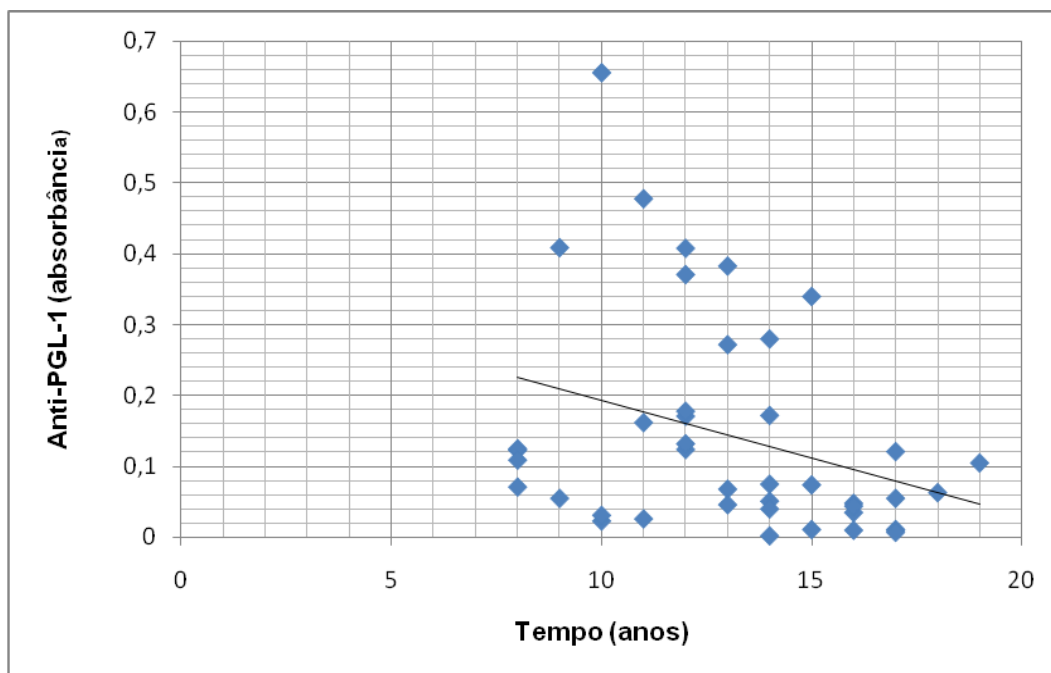


Figura 8- Níveis de anticorpos da classe IgM anti-PGL-I de casos índices (CI), tratados com PQT-MB e diagnosticados entre 1990 e 2000 em Itajaí e Joinville-SC, em acordo com o tempo decorrido do diagnóstico. ($r=-0,32$; $p=0,038$; Teste de correlação de Pearson)

4.3 Grupo dos contatos intradomiciliares (CID)

O grupo de 187 contatos intradomiciliares avaliados foi constituído por 114 (60,9%) mulheres e 73 (39,3%) homens, estabelecendo o predomínio do sexo feminino estatisticamente significativo ($p=0,001$; teste do

qui-quadrado), com a razão homem:mulher igual a 0,6 (Tabela 1). A proporção de CID:CI foi de 4,0; os contatos eram em sua maioria (64,7%; 121/187), parentes de primeiro grau (pais, irmãos ou filhos), e mais da metade dos indivíduos deste grupo era composta por filhos dos CI, entre outros graus de parentesco, como mostra a tabela 1.

4.3.1 Grupo dos contatos intradomiciliares sadios (CIDs)

O grupo de contatos intradomiciliares clinicamente sadios (CIDs), ou seja, aqueles nos quais não foram encontradas evidências clínicas de doença, foi constituído de 165 indivíduos (165/187; 88,2%) avaliados no presente estudo. Neste grupo, houve predomínio estatisticamente significativo ($p=0,002$; teste do qui-quadrado) do sexo feminino (62,4%; 103/165). A média de idade foi de $31,7 \pm 17,7$ anos, com idade mínima de 4 anos e máxima de 85 anos (Tabela 1).

Entre os indivíduos testados deste grupo, embora clinicamente sadios, houve positividade para sorologia anti-PGL-I em 36,8% dos indivíduos, com valor médio dos níveis séricos de 0,132, abaixo do *cut-off*, e a positividade para RLEP-130 em 20,5% dos indivíduos (Tabela 4).

No entanto, neste grupo CID, estavam incluídos onze indivíduos considerados em risco, ou seja, com dois ou três testes positivos; três destes, positivos em todos os testes (anti-PGL-I, RLEP-130 e RLEP-372). Excluindo os onze indivíduos em risco, a redução da frequência de

positividade do anti-PGL-I se reduz de 36,8% para 32,4%; e a do RLEP-130 de 20,5% para 14,1% (Tabela 6). A reação de Mitsuda foi negativa em 34,9% (30/86) dos CIDs testados, dentre estes, 9 casos (30%; 9/30) apresentaram a sorologia anti-PGL-I e/ou RLEP-130/372 positiva.

4.3.2 Grupo dos contatos intradomiciliares acometidos pela doença (CIDd)

Entre os 187 contatos intradomiciliares avaliados, 22 (11,8%) indivíduos foram acometidos pela hanseníase; 16 indivíduos haviam recebido diagnóstico e tratamento para hanseníase em período prévio, e 6 indivíduos (27,3%; 6/22) constituíram os casos novos detectados durante o presente estudo (Tabela 4).

No grupo CIDd, a distribuição entre os sexos foi equitativa na razão 1:1, 11 indivíduos do sexo feminino e 11 do masculino, e a média de idade foi de $40 \pm 16,9$ anos, mínima de 7 anos e máxima 73 anos (Tabela 1). Entre os entrevistados, 72,7% eram parentes de primeiro grau, e metade dos casos afetados consistiu de filhos dos casos índices, entre outros graus de parentesco (Tabela 1). O adoecimento dos contatos intradomiciliares foi observado dentro de 15 famílias, perfazendo a média de 1,46 indivíduos acometidos por família, e até quatro indivíduos afetados para um único caso índice [CI #13] (Tabela 7).

Entre os dezesseis casos de contatos intradomiciliares diagnosticados com hanseníase nos 19 anos prévios (1989-2007), foi observado o tempo médio de 8,69 anos para a ocorrência do diagnóstico; ocorreu entre 2 a 19 anos após o diagnóstico do seu respectivo CI em 13 (59,1%) casos; no mesmo ano do seu respectivo CI em 6 casos (27,3%); entre 2 a 6 anos antes do diagnóstico do CI em 3 (13,6%) casos. Dos dezesseis casos diagnosticados e tratados previamente, 11 receberam PQT-MB, 4 PQT-PB; 01 caso não foi possível obter a informação. Ainda na avaliação do grupo CID, foi evidenciado: 01 caso que seguiu com tratamento irregular, e foi excluído da análise geral da amostra do estudo; e 02 CIDd multibacilares tratados e recidivados (Tabela 4).

O tempo médio decorrido desde a conclusão do tratamento para estes dezesseis casos foi de 9,6 anos, variando entre 3 e 17 anos. O registro da avaliação do grau de incapacidade foi observado: em 50% dos casos (8 doentes), grau maior que 1 em 3 casos (37,5%) ao diagnóstico; e em 1 doente (6,2%) na alta por cura. Quatro pacientes (18,2%) relataram a ocorrência das reações, principalmente na forma de neurite de longa duração (75%).

Entre os casos novos (CN) detectados no grupo CID três casos apresentaram lesões únicas (casos #10, #106, #114) e foram considerados tuberculóides, ou paucibacilares quando não realizada a biópsia ou baciloscopia. Três casos com comprometimento de um único (CN #65) ou mais de um tronco nervoso (CN #137), ou várias placas hipocrômicas-eritematosas (CN #112) e foram considerados como dimorfo-tuberculóides ou dimorfos (Tabela 5). Dentre estes CN, a positividade da sorologia foi baixa (20%), distintamente da elevada percentagem (50%) da positividade do RLEP-130, como indicado nas tabelas 4 e 6.

Em subsequente e adicional reavaliação: caso #112, evoluiu com reação tipo 1 na 12ª dose da PQT-MB; caso #114, regressão da lesão em raquete do membro inferior esquerdo com tratamento PQT-PB; caso #137, desaparecimento dos sintomas e negatização dos níveis de anti-PGL-I após o término do tratamento.

Tabela 5- Aspectos clínicos e laboratoriais dos casos novos (CN) detectados entre os comunicantes intradomiciliares (CID) dos casos-índices (CI), tratados com PQT-MB e diagnosticados entre 1990 e 2000 em Itajaí e Joinville-SC

| Caso | Sinais/Sintomas | Forma clínica | Histopatologia (baciloscopia) | Anti-PGL-I | RLEP -130 | Outros |
|------|--|------------------|--|--------------|------------|--|
| 10 | Placa delimitada em tronco | HT | HT (-) | 0,002 | (-) | |
| 65 | Dor e espessamento de nervo fibular E | HD Neural | NR | NR | (-) | ML-flow (+1) |
| 106 | Placa hipocrômica em antebraço E | HT | HT (-) | 0,009 | (+) | |
| 112 | Placas eritemato-hipocromicas | HD | Infiltrado linfocitário perineural (-) | 0,140 | (+) | ML-flow (+2) ENM: múltiplos nervos acometidos |
| 114 | Lesão em raquete, espessamento do n. tibial posterior MIE | HT | NR | 0,068 | (+) | ML-flow (-) |
| 137 | Hipoestesia do hálux, espessamento dos nervos tibial, fibular e sural à E | HD Neural | NR | 0,157 | (-) | (-) |

HT: hanseníase tuberculóide; HD: hanseníase dimorfa; (-) teste negativo; n: nervo; ENM: eletroneuromiografia; NR: Não realizado; Anti-PGL-I: anti-glicolípido fenólico-I, *cut-off* \geq 0,15; RLEP: seqüência repetitiva para genes não codificadores de proteínas específicas do *M. leprae*; HT: hanseníase tuberculóide; HD: hanseníase dimorfa; (-) teste negativo

Na amostra reduzida do grupo CIDd, a ausência de positividade do anti-PGL-I foi observada em CIDd tratados >10 anos, contrariamente à significativa frequência de positividade do RLEP-130 (33,3%). Os valores médios dos níveis sérico do anti-PGL-I foram abaixo do *cut-off* em todos os subgrupos dos CID, excluídos os CID recidivados (Tabela 4). Na totalidade dos CIDd considerados recidivados (n=2) foi observada a positividade dos testes (anti-PGL-I e RLEP-130), em adição o valor médio do nível sérico do anti-PGL-I estava acima do *cut-off* (0,291).

4.4 Comparação dos indivíduos da amostra distribuídos segundo condições da doença e do tratamento

Quando os pacientes, CI e CIDd foram todos agrupados e distribuídos segundo condições da doença e do tratamento, as frequências mais elevadas de positividade para anti-PGL-I e para RLEP-130, 83,3% e 80%, respectivamente, foram observadas entre os **casos recidivados** agrupados (CI ou CIDd). Este subgrupo foi o único que apresentou valor médio do nível sérico do anti-PGL-I acima do *cut-off* (0,328), distintamente de todos os demais grupos que o mantiveram abaixo do *cut-off*. A frequência da positividade para anti-PGL-I foi, comparativamente: a) **superior** nos MB com período ≤ 10 anos de alta por cura (33,3%), incluídos aqueles tratados 12 doses de PQT, similar e discretamente elevada no grupo CID clinicamente

saudáveis (36,8%), incluídos indivíduos em risco; b) **intermediária** entre casos novos (20%), em maioria pacientes PB, e similar na amostra geral de pacientes MB com alta por cura (20,6%); c) **inferior** entre os CI com intervalo >10 anos após término de PQT-MB (12,5%). A positividade para o RLEP-130 foi elevada entre casos novos (50%), a despeito da baixa frequência de positividade da sorologia (20%) e do diagnóstico das formas paucibacilares. Valores similares da frequência de positividade para RLEP-130 foram observados entre os CI com alta por cura (26,3%), aqueles com períodos superiores (26,1%) ou inferiores (26,7%) a 10 anos de conclusão do tratamento, e CID saudáveis (20,5%), quando incluídos os indivíduos sob condição de risco (positividade em mais de dois testes empregados). Os valores percentuais da frequência de positividade para RLEP-130 foram mais baixos e similares (14%) entre aqueles tratados previamente com DDS/DNDS e PQT-MB e o grupo CIDs (14,1%), quando excluídos aqueles CID em risco, como detalhado na tabela 6.

Tabela 6- Resultados dos testes laboratoriais dos contatos intradomiciliares clinicamente saudáveis (CIDs), contatos intradomiciliares acometidos pela doença (CIDd) e seus respectivos casos índices (CI) tratados com PQT-MB entre 1990 e 2000, em Itajaí e Joinville-SC, agrupados por categorias

| Categoria^a | Anti-PGL-I sérico (+) % (n) | Anti-PGL-I média (variação) | Reação de Mitsuda (-) % (n) | RLEP-130 (+) % (n) |
|---|--|--|--|-----------------------------------|
| Recidivados (n=6) | 83,3 (5/6)^f | 0,328 (0,075-0,656) | 100 (1/1) | 80,0 (4/5)^g |
| Alta por cura PQT- MB (n=46) | 21,4 ^f (9/42) | 0,110 (0,002-0,478) | | 26,3 ^g (10/38) |
| >10 anos (n=25) | 12,5 (3/24) | 0,077 (0,002-0,280) | | 26,1 (6/23) |
| ≤10 anos (n=21) ^b | 33,3 (6/18) | 0,145 (0,018-0,478) | | 26,7 (4/15) |
| DNDS/PQT (n=7) | 28,6 (2/7) | 0,103 (0,010-0,208) | | 14,0^g (1/7) |
| Casos novos (n=6)^c | 20,0 (1/5) | 0,075 (0,002-0,157) | | 50,0 (3/6) |
| CIDs (n=165) | 36,8^f (46/125) | 0,132 (0,001-0,582) | 34,9 (30/86) | 20,5 ^g (26/127) |
| CIDs^d | 32,4 (37/114) | | | 14,1 (16/114) |
| Total (n=233) | 34,8 (64/184) | 0,133 (0,001-0,656) | 45,1 (55/122) | 24,3 (44/181) |

Anti-PGL-I: anti-glicolípídeo fenólico-I, *cut-off* ≥ 0,15; RLEP: seqüência repetitiva para genes não codificadores de proteínas específicas do *M. leprae*; Reação de Mitsuda (-): negativa induração ≤ 5mm; HT: hanseníase tuberculóide; HDT: hanseníase dimorfa-tuberculóide; MB: multibacilar; PB: paucibacilar; PQT: Poliquimioterapia

^a Amostra total: CI (n=46) e CIDd (n=22), exclusão de seis casos: dois casos retratados previamente com PQT-MB; um caso com relato de transplante de medula; dois casos tratamento irregular com PQT-MB, um caso não avaliado

^b 02 casos tratados MDT-MB 12 doses

^c 03 casos HT; 03 casos HDT

^d Excluídos 11 CID em risco, positividade em dois ou três dos testes

^f Teste exato $\chi^2 = 10,29$; $p = 0,01$; ^g Teste exato $\chi^2 = 11,64$; $p = 0,02$

Na avaliação de toda a amostra, não foi observada associação entre a positividade do anti-PGL-I e RLEP-130 (coeficiente de contingência = 0,07; $p=0,426$).

Quando agrupados segundo as condições da doença e do tratamento, o percentual de CI recidivados (CI e CIDd) soropositivos é significativamente mais elevado comparado àqueles dos grupos: CI com alta por cura, com a conclusão de tratamento por mais ou menos de 10 anos, e aos CID saudáveis (**teste exato $\chi^2= 10,29$; $p= 0,01$**). O percentual com positividade do RLEP-130 entre os CI recidivados é significativamente mais elevado comparado aos CI com alta por cura, com a conclusão de tratamento por mais ou menos de 10 anos, e aos CID saudáveis (teste exato $\chi^2= 11,64$; $p= 0,02^*$).

4.5 Resultados do ensaio PCR para RLEP-130/372 nas famílias

As famílias foram agrupadas em acordo com a presença ou ausência de CID afetado além do CI (Tabelas 7 e 8). Das 46 famílias, 15 (32,6%) apresentaram contatos intradomiciliares afetados previamente ou diagnosticados durante o presente estudo. Destas, 13 famílias foram testadas para PCR-RLEP-130, RLEP-372 e sorologia anti-PGL-I, e em apenas uma família (7,7%), os indivíduos foram negativos em todos os testes. Em uma particular família (#13), quatro indivíduos foram afetados (Tabela 7).

Tabela 7- Resultados dos testes laboratoriais (anti-PGL-I, RLEP-130 e RLEP-372) dos casos-índices (CI) e seus respectivos contatos intradomiciliares clinicamente saudáveis (CIDs), agrupados por famílias (n=13) COM contatos intradomiciliares afetados e registrados entre 1990-2008

| #Família, ano do diagnóstico do CI, CID afetados n (%) | CI | | CIDs n (%) | | |
|--|------------|--------------|----------------|--------------|--------------|
| | Anti-PGL-I | RLEP 130/372 | Anti-PGL-I (+) | RLEP 130 (+) | RLEP 372 (+) |
| 11, 1989, 2 (40) ^a | (-) | (-) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 4 ^c , 1991,1(11,1) | (-) | (-) | 3 (60) | 2 (22) | 2 (22) |
| 36, 1991, 1 (33,3) | (-) | (-) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 20, 1992, 1 (50) ^a | (-) | (-) | 0 (0) | 1 (50) | 0 (0) |
| 39, 1992, 2 (50) | (-) | Positivo | 1 (25) | 1 (100) | 0 (0) |
| 19 ^b ,1994, 2 (28,6) ^a | (-) | Positivo | 2 (28,6) | 3 (42,9) | 0 (0) |
| 10, 1995, 1 (6,2) | (-) | (-) | 2 (20) | 0 (0) | 0 (0) |
| 12, 1996, 1 (50) | (-) | (-) | 1 (50) | 0 (0) | 0 (0) |
| 21, 1996, 1 (25) | Positivo | (-) | 0 (0) | 2 (50) | 0 (0) |
| 23 ^b , 1998, 1 (14,3) ^a | Positivo | (-) | 4 (57,1) | 0 (0) | 0 (0) |
| 13 ^c , 1999, 4 (50) ^a | (-) | (-) | 2 (66,7) | 3 (100) | 0 (0) |
| 27, 1999, 1 (20) | (-) | Positivo | 1 (25) | 0 (0) | 0 (0) |
| 17, 2000, 1 (20) | (-) | (-) | 1 (33,3) | 1 (20) | 0 (0) |

Anti-PGL-I: anti-glicolípido fenólico-I, *cut-off* $\geq 0,15$; RLEP: seqüência repetitiva para genes não codificadores de proteínas específicas do *M. leprae*

^aCaso novo diagnosticados no presente estudo; ^bCaso índice recidivado

^cCaso índice com baciloscopia positiva

Perdas no processamento técnico do material no ensaio PCR (n=3)

Nas 22 famílias **sem contatos previamente afetados** ou diagnosticados durante o estudo, em apenas 3 (13,6%) havia negatividade dos testes realizados (RLEP-130, RLEP-372 e anti-PGL-I) em todos os

indivíduos, CI e CID. Em cinco famílias (22,7%), a despeito da negatividade do CI em todos os testes realizados, ao menos um CID clinicamente saudável foi positivo em um dos testes (Tabela 8).

Tabela 8- Resultados dos testes laboratoriais (anti-PGL-I, RLEP 130 e RLEP 372) dos casos índices (CI) e seus respectivos contatos intradomiciliares clinicamente saudáveis (CIDs), agrupados por famílias (n=22), SEM contatos afetados registrados entre 1990-2008*

| Família, ano do diagnóstico CI | CI | | CIDs n(%) | | |
|--------------------------------|------------|--------------|----------------|--------------|--------------|
| | Anti-PGL-I | RLEP 130/372 | Anti-PGL-I (+) | RLEP130 (+) | RLEP 372 (+) |
| 23, 1990 | (-) | (-) | 1 (33,3) | 0 (0) | 0 (0) |
| 38, 1992 | (-) | (-) | 1 (33,3) | 0 (0) | 0 (0) |
| 1, 1993 | (-) | Positivo | 0 (0) | 1 (20) | 0 (0) |
| 3, 1993 | Positivo | Positivo | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 6, 1993 | (-) | (-) | 0 (0) | 2 (40) | 1 (20) |
| 5, 1994 | (-) | Positivo | 1 (25) | 3 (75) | 0 (0) |
| 40 ^a , 1994 | Positivo | (-) | 1 (100) | 0 (0) | 0 (0) |
| 30, 1994 | (-) | (-) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 31, 1994 | Positivo | (-) | 2 (66,7) | 0 (0) | 0 (0) |
| 37, 1994 | (-) | (-) | 2 (100) | 0 (0) | 0 (0) |
| 16, 1995 | Positivo | (-) | 1 (100) | 0 (0) | 0 (0) |
| 41, 1995 | Positivo | (-) | 3 (60) | 3 (100) | 2 (66,7) |
| 24, 1995 | (-) | (-) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 25 ^a , 1996 | Positivo | (-) | 2 (66,7) | 0 (0) | 0 (0) |
| 33, 1996 | Positivo | (-) | 2 (66,7) | 0 (0) | 0 (0) |
| 35, 1996 | (NR) | (-) | 3 (100) | 0 (0) | 0 (0) |
| 26, 1997 | Positivo | (-) | 1 (33,3) | 0 (0) | 0 (0) |
| 2, 1998 | (-) | Positivo | 0 (0) | 3 (60) | 1 (20) |
| 29, 1998 | (-) | (-) | 2 (40) | 0 (0) | 0 (0) |
| 8, 1999 | Positivo | Positivo | 1 (33,3) | 3 (100) | 1 (33,3) |
| 7, 2000 | (-) | Positivo | 1 (33) | 2 (40) | 0 (0) |
| 15, 2000 | (-) | (-) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |

Anti-PGL-I: anti-glicolípídeo fenólico-I, *cut-off* $\geq 0,15$; RLEP: seqüência repetitiva para genes não codificadores de proteínas específicas do *M. leprae*; NR: não realizado

^aCasos índices com baciloscopia positiva;

Perdas no processamento técnico do material no ensaio PCR (n=9)

A coincidência da negatividade para RLEP-130 entre os CI e CID saudáveis ocorreu em 63,6% das famílias sem CID não afetado; valor reduzido para 38,5% nas famílias com CID acometido pela doença. Já as frequências da negatividade da sorologia coincidentes entre CI e CID saudáveis foram similares entre famílias sem (27,3%) e com (23%) CID acometidos.

Quando todas as famílias foram agrupadas (n=35) apenas cinco famílias (14,3%) apresentavam o CI e os seus CIDs com negatividade em todos os ensaios laboratoriais.

4.6 Avaliação das variáveis sócio-econômicas dos grupos de estudo

Em todos os grupos de estudo, houve predomínio de indivíduos com nível inferior de escolaridade, ≤ 8 anos de estudo, com significância estatística ($p < 0,05$; teste de Kruskal-Wallis) no grupo de CI (91,3%) e semelhanças entre os grupos CIDs (64,8%) e CIDd (68,2%), como observado na tabela 9.

Não houve diferenças estatisticamente significantes pelo teste de Kruskal-Wallis, entre os três grupos CI, CIDs e CIDd em relação a renda familiar, número de cômodos por moradia, ou na qualidade das instalações sanitárias (tabelas 9 e 10).

Tabela 9- Condições culturais, econômicas e sanitárias dos casos-índices (CI), tratados entre 1990 e 2000 em municípios de Santa Catarina, seus contatos intradomiciliares saudáveis (CIDs) e contatos intradomiciliares acometidos pela doença (CIDd)

| | CI n (%) | CIDs n (%) | CIDd n (%) | Total n (%) |
|--------------------------------------|------------|-------------|------------|-------------|
| Escolaridade | | | | |
| (anos de estudo) | | | | |
| ≤ 8 anos | 42 (91,3)* | 107 (64,8)* | 15 (68,2)* | 164 (70,4) |
| > 8 anos | 4 (8,7) | 58 (35,2) | 7 (31,8) | 69 (29,6) |
| Renda familiar | | | | |
| (salário mínimo) | | | | |
| Zero a dois | 20 (43,5) | 58 (35,2) | 7 (31,8) | 85 (36,5) |
| Entre 2 e 4 | 8 (17,4) | 21 (12,7) | 8 (36,4) | 37 (15,9) |
| > 4 | 18 (39,1) | 57 (34,5) | 5 (22,7) | 80 (34,3) |
| Sem informação | 0 | 29 (17,6) | 2 (9,1) | 31 (13,3) |
| Acesso a rede de esgoto n (%) | | | | |
| Rede pública | 19 (41,3) | 47 (28,5) | 7 (31,8) | 73 (31,3) |
| Fossa séptica | 26 (56,5) | 85 (51,5) | 15 (68,2) | 126 (54,1) |
| Céu aberto | 1 (2,2) | 7 (4,2) | 0 | 8 (3,4) |
| Sem informação | 0 | 26 (15,8) | 0 | 26 (11,2) |

*p<0,05 (teste de Kruskal-Wallis e Dunn)

Tabela 10- Condições habitacionais dos casos índices (CI), contatos intradomiciliares saudáveis (CIDs) e contatos intradomiciliares acometidos pela doença (CIDd)

| | CI | CIDs | CIDd |
|---|------------------|----------------|-------------|
| | média (variação) | | |
| Número de cômodos no domicílio (exceto cozinha e banheiro) | 3,8 (1-7) | 4,0 (2-8) | 3,8 (2-7) |
| Número de moradores no domicílio | 3,5 (1-12) | 4,4 (2-12) | 4,0 (2-8) |
| Tempo médio de moradia em Santa Catarina (anos) | 39 (6-75) | 28,3 (0,02-66) | 32,8 (7-73) |

No grupo CIDs, 107 indivíduos (64,8%) referiram permanência no domicílio e convívio com o CI tratado, 17 (10,3%) relataram mudança da situação do convívio com o CI, 14 (8,5%) desconheciam a doença do CI, 158 (95,7%) referiram conhecer alguém com hanseníase, além do CI, e em 27 (16,3%) esta informação não pode ser obtida.

Entre os CIDd, 14 indivíduos (63,6%) ainda moravam com o CI, 2 (9,1%) referiram mudança, 5 (22,7%) desconheciam a doença no CI e de 1 paciente, esta informação não pode ser obtida.

5 DISCUSSÃO

Em hanseníase, pouco se sabe sobre os fatores que levam ao desenvolvimento da doença ou à cura a partir da infecção pelo *M. leprae*, assim como acerca das suas rotas de transmissão. A infecção pelo bacilo parece ser bem mais prevalente do que a doença propriamente dita (Baumgart et al., 1993). O entendimento destes processos poderia ser de auxílio no controle, por meio da redução consistente da incidência da doença, que se mantém elevada em alguns países.

Em 1997, Santa Catarina tornou-se o segundo estado brasileiro a atingir a meta de eliminação da hanseníase como problema de saúde pública (SES/SC, 2010). No período, as taxas de casos novos detectados por 100.000 habitantes no estado apresentaram decréscimo lento, atingindo valores inferiores a 5,0 a partir de 1996, e inferiores a 4,0 após 2005. Em 2009, SC foi o segundo estado com menor taxa de detecção de casos novos por 100.000 habitantes no Brasil, de 3,04, nível ainda considerado médio (2,0 a 9,99 por 100.000 habitantes). Os índices de detecção em menores de 15 anos no período têm sido menores que 0,50 por 100.000 habitantes (baixo) desde 1996, com exceção em 2003. Entretanto, a partir de 2006, a percentagem dos casos novos de hanseníase avaliados com grau de incapacidade 2 (GIF 2) ao diagnóstico tem sido alto ($\geq 10\%$) e crescente, o que posicionou o estado, em 2009, entre os seis com os percentuais mais elevados de GIF 2 (SES/SC, 2010). A ocorrência de índices elevados e crescentes para o GIF 2 nos casos novos avaliados nos últimos anos (2006-2008) em SC é indicativa do crescimento da prevalência oculta. A prevalência oculta pode ser estimada

por meio do cálculo do percentual de casos novos avaliados com grau de incapacidade >1 (GIF1 e GIF2), sobre o número de casos novos no ano. A somatória das percentagens dos cinco anos progressos consiste na estimativa da prevalência oculta do ano em questão. (OPAS, 1998; Suárez e Lombardi, 1997).

O diagnóstico precoce da hanseníase, e o tratamento adequado dos indivíduos afetados, ainda são os meios mais eficazes de interromper a transmissão e a progressão da doença, evitando as incapacidades físicas e suas conseqüências físicas, psíquicas e sociais. No entanto, o diagnóstico da doença é dependente da manifestação de sinais e sintomas, e é considerado tardio quando o seu reconhecimento, por parte do doente ou profissional da saúde, ocorre após um ano da instalação. Entre outras causas, a ausência da suspeita da doença pode levar ao atraso considerável do diagnóstico (Lockwood e Reid, 2001; da Silva Souza e Bacha, 2003; Alves et al., 2010; Spencer et al., 2011). Cerca de 70% dos casos de hanseníase podem ser diagnosticados pela presença de lesões de pele com distúrbios de sensibilidade, mas outros 30%, principalmente virchowianos, não apresentam estes sinais e sintomas (Saunderson e Groenen, 2000), e quando sintomáticos, já possuem carga bacilar acima na ordem de milhões de bacilos (Pfaltzgraff e Ramu, 1994). Em áreas não endêmicas, a condição de doença incomum reduz a possibilidade da presunção do diagnóstico, o que implica no seu retardo; e progressivamente especialistas e profissionais treinados na área se tornam escassos (Lockwood e Reid, 2001).

O treinamento contínuo de profissionais e a descentralização das ações de assistência e vigilância são estratégias essenciais para o efetivo controle de doença crônica e insidiosa como a hanseníase. A tendência à centralização da assistência especializada aos portadores de hanseníase tem sido proposta, e no estado de SC atualmente está concentrada em 17% das unidades de saúde. No estudo, cenários distintos foram observados em Joinville e Itajaí. Enquanto em Joinville, a maioria dos casos notificados (78,8%) residia no município, em Itajaí, este percentual foi de apenas 57,9%. Este achado indica que a unidade de saúde de referência em Itajaí atenda a outros municípios, doentes que buscam assistência pouco distante do seu local de residência, o que pode limitar acesso ao diagnóstico precoce.

Na análise dos dados demográficos da amostra de CI do estudo, doentes com hanseníase da faixa virchowiana, tratados regular e sucessivamente com PQT-MB 24 doses, entre 1990 e 2000, houve predomínio estatisticamente significativo do sexo masculino ($p=0,001$), razão homem: mulher de 2,83, em concordância com a literatura (Noordeen, 1994; Sansarricq, 1995; Varkevisser et al., 2009). Da amostra, a maioria (63%) dos doentes procedia do estado de Santa Catarina.

A baciloscopia tem se constituído em exame complementar útil ao diagnóstico e na classificação operacional para a finalidade de tratamento. No entanto, a sua negatividade não implica na ausência da doença, como nos casos indeterminados e tuberculóides (Pfaltzgraff e Ramu, 1994; Opromolla, 2000). A histopatologia da lesão de pele ou do segmento neural acometido consiste em exame auxiliar fundamental para o diagnóstico da

doença nas suas várias formas clínicas, com exceção da hanseníase indeterminada, onde é inespecífica na maior parte dos casos (Opromolla, 2000). Em campo, geralmente, há indisponibilidade de exames auxiliares ao diagnóstico, e a baciloscopia, ainda que tecnicamente simples comparada à histologia, exige treinamento e controle de qualidade (Cellona et al., 1993; Cardona-Castro et al., 2008). Outros exames complementares e as provas de imunidade frente ao bacilo podem auxiliar na classificação e na orientação terapêutica. Entre estas, a reação de Mitsuda e a sorologia anti-PGL-I, que se correlacionam respectivamente inversa ou diretamente com a carga bacilar (Ridley, 1974; Moura et al. 2008).

No presente estudo, a negatividade (menor que 5 mm) na maioria (78,6%) dos CI testados para a reação de Mitsuda é concordante com o diagnóstico da faixa virchowiana e a opção do uso da terapêutica multibacilar, como previamente definido pelos profissionais locais.

Doentes da faixa virchowiana com índice bacilar maior que 4+ são mais suscetíveis à recidiva e/ou falha terapêutica (Jamet e Ji, 1995); nestes indivíduos, bacilos latentes poderiam sobreviver em locais relativamente protegidos do sistema imune, como ramos nervosos e que, após muitos anos, voltariam a se multiplicar.

Para aqueles (n=2) que contemplavam critérios de recidiva da Portaria 3125 (Brasil, 2010b), especificamente a piora recente da função neurológica, foi reiniciada a PQT-MB; e para aqueles com ausência de critérios (n=2), foi proposta a reavaliação e/ou o monitoramento clínico-

laboratorial estreito. Cumpre ressaltar que a Portaria vigente não contempla exames laboratoriais adicionais, tais como a sorologia e testes moleculares, que poderiam ser úteis como ferramentas para o diagnóstico de recidiva incipiente ou precoce. Ainda, entre os casos considerados recidivados (n=4), em dois CI houve encontro do convívio com doentes sem diagnóstico, paucibacilares (HT) ou com baixa carga bacilar (HDT), além da totalidade de contatos com exames positivos (RLEP-130) ou contato com todos os testes positivos (CID em risco), fortalecendo a possibilidade de foco ativo de infecção. Justifica-se que a busca ativa da recidiva e os exames laboratoriais, complementares ao exame clínico, contribuiu para o aumento da frequência da recidiva (8,7%; 4/46). Ressalta-se que, neste estudo prevalece a elevada percentagem de cura (91,3%) da PQT-MB 24 doses para multibacilares, embora inferior aos registros da literatura (WHO, 1994). No grupo dos CI considerados recidivados (n=4), houve a mais elevada frequência de positividade para o anti-PGL-I (75%) e para RLEP-130 (75%), o que pode indicar o auxílio dos exames laboratoriais para tal finalidade.

Deve ser ressaltado que a soropositividade para anti-PGL-I pode ser um indicador precoce de recidiva (Chin-A-Lien et al., 1992; Buhner-Sékula et al., 2001; Wu et al., 2002). Admite-se que o diagnóstico precoce de recidiva, e não da infecção, consista a maior utilidade da sorologia (Barros e Oliveira, 2000). No Brasil, em estudo pioneiro de pacientes MBs submetidos à PQT/OMS de 24 doses fixas, com média de 50 meses pós-alta, testados por ELISA, demonstrou-se alto percentual de positividade para o anti-PGL-I, e associação significativa com IB positivo. A forma virchowiana,

o índice baciloscópico positivo e anti-PGL-I com DO (densidade ótica) > de 0,2 até 0,8 foram fatores implicados no risco de recidiva (Oliveira, 1996). Uma maior proporção de pacientes virchowianos permaneceu soropositiva ao final de dois anos de tratamento, comparados aos dimorfo-tuberculóides (Roche et al, 1993).

Desde que a resposta humoral IgM é precoce e de curta duração, a partir do contato com o antígeno, é pressuposto que o contato recente com bacilos provindos de focos externos seja responsável pela produção da resposta humoral tipo IgM. No entanto, deve ser ainda considerado que a exposição crônica, contínua ou descontínua, aos bacilos vivos ou latentes do próprio indivíduo, também poderia induzir a resposta imune humoral, com níveis séricos mantidos, ainda que do tipo IgM, por persistente ativação de células B de memória.

Recente revisão de Racine e Winslow (2009) descreve uma série de trabalhos, indicativos de que a IgM também possa ser um componente importante na defesa do hospedeiro contra patógenos intracelulares. Desde que nichos intracelulares ocupados por patógenos não são acessíveis aos anticorpos, o contato patógeno-anticorpo ocorreria durante a eclosão das células e a transferência do patógeno de célula para célula. A imunidade mediada por IgM tem sido considerada transitória, mas recentes estudos começam a alterar esta noção. Alguns destes estudos acumularam evidências de que IgM possa ser produzida por células B-1 de memória durante reinfecção, e não por persistência de anticorpos. Múltiplos subtipos de células B e outros mecanismos seriam responsáveis pela manutenção da

resposta IgM de longa duração, por meio das células B memória e/ou plasmoblastos de vida longa (Racine e Winslow, 2009)

Estas recentes considerações poderiam justificar nossos achados da manutenção da positividade do anti-PGL-I nos vários grupos estudados, acrescentando a possibilidade da estimulação persistente por fontes do bacilo, também provenientes de sítios protegidos no próprio indivíduo, além dos focos externos.

Naqueles CI após alta por cura, sem evidências ou suspeita clínica da doença, o nível sérico médio do anti-PGL-I foi abaixo do *cut-off* (0,103), mas 20,6% persistiram com positividade sorológica. Como esperado, os valores do nível sérico médio (0,072) e da percentagem de indivíduos sorologicamente positivos (14,3%) foram os mais baixos de todo o grupo CI, quando decorridos mais de 10 anos após término da terapêutica. Contrariamente, os valores do nível sérico médio do anti-PGL-I, acima do *cut-off* (0,152), e das percentagens de positividade da sorologia anti-PGL-I (28,6%) e do RLEP-130 (30%), foram os mais elevados entre aqueles CI com período ≤ 10 anos da conclusão de tratamento. Quando separados do grupo, aqueles com tratamento prévio com DDS/DNDS, o valor médio do nível sérico estava abaixo do *cut-off* (0,103), e os percentuais de positividade da sorologia (28,6%) e do RLEP-130 (14,0%), **superior e inferior**, respectivamente, comparados àqueles com mais de 10 anos após a conclusão da terapêutica exclusiva PQT-MB.

Em adição, a avaliação da relação entre o tempo decorrido após a alta terapêutica dos CI, e dos níveis séricos de anti-PGL-I, mostrou

correlação negativa ($p=0,038$; $r= -0,32$), em concordância com a literatura (Bach et al., 1986; Roche et al., 1993; Cho et al., 2001).

Estudos têm mostrado que, na maioria dos pacientes, os títulos de anticorpo anti-PGL-I caem mais lentamente que os títulos do antígeno, a queda é maior no primeiro ano do tratamento (em até 50%), para depois ocorrer mais lentamente (Bach et al., 1986; Roche et al., 1993; Cho et al., 2001). Deste modo, a sorologia anti-PGL-I tem sido proposta para monitorar o seguimento dos doentes durante ou ao término do tratamento (Cellona et al., 1993; Oskam et al., 2003; Moura et al., 2008). Corroborando que a soropositividade pode levar vários anos para negativar (Gelber et al, 1989), baixos títulos de anticorpos anti-PGL-I (-IgM) puderam ser detectados em cerca de 50% dos doentes, mesmo após mais de 10 anos de tratamento, e em concordância com nossos resultados; essa positividade parece persistir em parcela dos doentes tratados há mais de 10 anos, ainda que haja a correlação negativa entre o tempo de tratamento dos CI e os títulos de IgM anti-PGL-I.

É fato bem conhecido que a capacidade de *clearance* bacilar depende da habilidade do macrófago em processar e eliminar o bacilo e seus fragmentos, por meio da formação do granuloma. Em geral, a eliminação dos bacilos, em pacientes virchowianos, ocorre na ordem de 0,6 a 1+ (escala de Ridley) por ano. Assim, o DNA bacilar, proveniente de fragmentos dos bacilos vivos ou latentes, pode ser detectado na corrente sanguínea, por técnicas de PCR, por anos após a alta medicamentosa.

O DNA residual poderia ainda ter um papel nas reações hansênicas tardias (Donoghue et al., 2001).

O contato intradomiciliar com doentes multibacilares implica no mais alto risco do desenvolvimento da doença, mas não é *per se* o fator determinante (Fine et al., 1997). O risco de adoecimento estaria também relacionado aos polimorfismos genéticos de suscetibilidade, refletindo a interação do binômio suscetibilidade-exposição no desenvolvimento da doença (Bechelli e Rotberg, 1956; Sansarricq, 1995; Moet et al, 2006; Durães et al., 2010). Na amostra do estudo, pouco mais de 10% dos contatos intradomiciliares de CI multibacilares, em sua maioria constituída por filhos (50%), desenvolveram a doença, representando a taxa de ataque de 6,2 casos/1000 indivíduos/ano, em concordância com achados de Doull et al (1936).

Distintamente do grupo dos CI, entre os CID houve predomínio do sexo feminino ($p=0,001$). Este achado é indicativo de que as mulheres tenham atendido mais prontamente ao convite para a participação do estudo, por disponibilidade ou maior cuidado à saúde. Interessantemente, quando avaliados os contatos que adoeceram (CIDd), há equidade na proporção homem:mulher (1:1). A proporção entre os sexos pode ser variável, e alguns países têm registrado elevada prevalência da doença ou taxas até superiores entre as mulheres (Noordeen, 1994); a distribuição entre os sexos parece estar relacionada às suas representações sociais e à mobilidade geográfica dos indivíduos (Varkevisser et al., 2009).

A efetividade das ações de vigilância é medida pela busca ativa de casos e elevado percentual do exame dos comunicantes intradomiciliares. O diagnóstico pode ser considerado precoce ou minimamente oportuno quando o CID é detectado no mesmo ano do seu respectivo CI, o que ocorreu em menos de um terço dos casos da amostra. Na expressiva maioria dos CID acometida, a doença foi detectada entre 2 a 19 anos após o diagnóstico do CI, o que representa o longo período de incubação da doença, assim como o de vigilância do CID após exposição à alta carga bacilar, população de maior risco do adoecimento. O diagnóstico pode ser considerado tardio (13,6%) naqueles em que a detecção do CI (multibacilar) ocorreu posteriormente, em até quatro anos, ao diagnóstico do CID; ou naqueles que foram diagnosticados em decorrência do presente estudo. Como resultado do estudo, a detecção de CN elevou-se em pouco mais de 30%, no valor da percentagem de CID acometidos pela doença, no entanto, na condição de paucibacilares, estabelecendo-se assim o diagnóstico precoce. Racionalmente, o CID é o grupo de risco que potencialmente se beneficiaria com exames laboratoriais voltados para a detecção precoce, medidas efetivas de prevenção, ou seguimento regular e prolongado.

De certo modo, a centralização da assistência especializada em unidades de referência, estratégia utilizada em áreas de baixa endemia, pode dificultar o acesso e gerar dificuldades no exame dos contatos e o diagnóstico precoce (Shen et al., 2010), o que poderia estar ocorrendo na região de Itajaí, onde expressiva percentagem dos doentes (42,1%) eram procedentes de outros municípios.

Certos da possibilidade do longo período de incubação da doença e na falta de ferramentas laboratoriais e das medidas efetivas de prevenção, é racional considerar, no momento, o seguimento prolongado como um dos principais meios para o diagnóstico como ou sem monitoramento laboratorial, para o qual a centralização da assistência pode ser limitante. O período do diagnóstico da doença para a maioria dos CID e a detecção de novos casos por ocasião da pesquisa reforça a relevância da manutenção do seguimento dos contatos intradomiciliares, removendo os obstáculos que se interpõem para ações de vigilância.

Em adição ao exame clínico-dermatológico, outra estratégia de prevenção preconizada pelo Ministério da Saúde é a vacinação BCG-ID para os contatos intradomiciliares. No entanto, o efeito da vacinação BCG na prevenção da hanseníase é temporário, sendo maior no período de 5 anos, reduzido após o período de 5-16 anos, e ausente após os 40 anos (Setia et al., 2006; Rodrigues et al., 2007).

A possibilidade da doença não estar expressa em um único exame, e os riscos do adoecimento no futuro, são consideráveis para os indivíduos susceptíveis e/ou aqueles expostos à alta carga bacilar. No entanto, as chances de um contato intradomiciliar desenvolver a doença são difíceis de prever, desde que não há prevenção efetiva (Almeida et al., 2004; Richardus e Habbema, 2007).

Neste contexto, exames laboratoriais sensíveis e específicos seriam de grande valor para detectar pacientes com hanseníase na fase

precoce, e para monitorar indivíduos ou grupos em maior risco, principalmente naqueles sem cicatriz de BCG, negativos para o teste de Mitsuda e com sorologia para PGL-I positiva (Goulart et al., 2008).

Há expectativas que futuras pesquisas possam provir e aprimorar exames complementares úteis ao diagnóstico precoce, na definição ou monitoramento dos indivíduos com maior risco de adoecimento.

Interessantemente, não há impacto na redução no percentual de positividade para anti-PGL-I (36,8%) se excluído os indivíduos de risco (32,4%; n=11), ou seja, com dois ou três testes positivos (anti-PGL-I, RLEP-130 e RLEP-372), mas a redução da frequência da positividade para RLEP-130 é mais marcante, de 20,5% para 14,1% dos indivíduos. A reação de Mitsuda foi negativa em 34,9% (30/86) dos CIDs testados, dentre estes, 9 casos (30%; 9/30) apresentaram a sorologia anti-PGL-I e/ou RLEP-130/372 positiva.

Considerando-se as características da resposta imune humoral mediada por IgM (precoce e de curta duração), e tomando-se por base os nossos resultados, pode ser aventado que a exposição ao antígeno bacilar seja recente, e provinda de bacilos vivos ou latentes. Ainda haveria a possibilidade do contato contínuo ou intermitente, por meio da circulação ou recirculação de bacilos, ou de antígenos bacilares, provindos do próprio paciente, ou de outros indivíduos, para promover tal resposta. Ambas as pressuposições poderiam explicar a elevada frequência da resposta imune

humoral mediada por IgM, e as similaridades de dois grupos com condições distintas, CI tratados ou CID saudáveis.

Como anteriormente explícito, por meio dos testes laboratoriais, foram categorizados 11 indivíduos em risco: 8 com médio e 3 com alto risco de desenvolver a doença, os quais foram positivos para dois e três testes laboratoriais, respectivamente. Considerou-se, particularmente, como em alto risco, cinco casos Mitsuda-negativos, com positividade para RLEP-130, RLEP-372 ou anti-PGL-I, onde julgamos que o monitoramento clínico e laboratorial possa ser fortemente recomendado por um período mínimo de cinco anos.

A soropositividade para o PGL-I entre os contatos de pacientes com hanseníase indica infecção subclínica, e é proporcional à exposição à carga bacilar (Menzel et al., 1987; Desforges et al., 1989; Moura et al., 2008). Pode chegar até a 18,4%, sendo mais alta nos contatos de pacientes MBs que, quando soropositivos, têm um risco mais alto de desenvolver hanseníase MB do que os soronegativos; os contatos soropositivos podem ter risco 7 vezes maior de desenvolver, em até 6 anos, qualquer forma de hanseníase, quando comparados aos contatos soronegativos (Douglas et al., 2004; Moura et al., 2008).

O encontro de elevada concentração de CID soropositivos, em determinados núcleos familiares, seria indicativo do monitoramento, por meio do seguimento clínico-laboratorial, sendo os indivíduos persistentemente

positivos elegíveis para o uso da quimioprofilaxia, como estratégia adicional ao uso BCG, já preconizado entre as ações de prevenção.

A detecção de anticorpos anti-PGL-I pode indicar infecção ativa ou passada pelo *M. leprae*, mesmo na ausência de sinais clínicos (Chanteau et al., 1987; Douglas et al., 2004; Moura et al., 2008). Interessantemente, em grupos distintos, CID saudáveis e CI com a conclusão do tratamento em menos de 10 anos, foram observadas algumas semelhanças: os níveis médios do título do anti-PGL-I abaixo do *cut-off* (0,132 e 0,145), frequência de positividade do anti-PGL-I (36,8% e 33,3%) e do RLEP-130 (26,7% e 20,5%).

Desde que analisada em conjunto com outros elementos clínicos, laboratoriais e epidemiológicos, a sorologia anti-PGL-I consiste em ferramenta útil. Os títulos mantêm estreita relação com carga bacilar, mas também com nível da exposição geral na comunidade: em áreas de alta endemia a soropositividade pode não discriminar contatos intradomiciliares de pacientes com hanseníase daqueles não-contactantes, mas em áreas de baixa endemia pode haver diferenças significativas em contatos intradomiciliares e não-contactantes (Moura et al., 2008).

Já que a frequência e a distribuição da soropositividade tem seu maior poder discriminatório entre comunicantes e não-comunicantes de doentes em áreas de baixa endemia ou não-endêmicas, o estado de SC passa a ser interessante campo de estudo e de aplicação do método sorológico para monitoramento dos contatos intradomiciliares. Por outro lado,

não foi observada correlação entre a soropositividade e a taxa de detecção em estudo com crianças em idade escolar, provindas de três estados com diferentes níveis incidência da doença, que incluiu três municípios de Santa Catarina [Itajaí, Tubarão e Laguna] (Buhner-Sékula et al., 2008b).

As restrições para o uso isolado de um exame laboratorial, como a sorologia anti-PGL-I, são reconhecidas, e há consenso de que a avaliação clínica e laboratorial conjunta permita maior precisão para estabelecer o diagnóstico (Frota et al., 2010). No entanto, na ausência de outros exames laboratoriais disponíveis no trabalho de campo em países endêmicos, a sorologia poderia auxiliar no diagnóstico e na classificação operacional, e ainda no monitoramento dos comunicantes e dos indivíduos com risco de recidiva (Brett et al., 1986; Buhner-Sékula et al., 2007; Moura et al., 2008). Em especial, a avaliação dos comunicantes intradomiciliares, transversal ou longitudinal, poderia prover dados para a quimioprofilaxia (van Brakel et al., 2010).

A presença do bacilo ou de seus fragmentos na mucosa nasal não permite confirmar o diagnóstico da doença, de forma isolada (Martins et al., 2010). O carreamento do bacilo na mucosa nasal, detectado por técnica de PCR, pode ser encontrado em até 8% dos contatos saudáveis provenientes de área não endêmica (Cardona-Castro et al., 2008), possivelmente representando contaminação transitória do ambiente (Klatser et al., 1993), já que não se mantém positivo após 2 anos de seguimento, mesmo em áreas endêmicas (Hatta et al., 1995).

A amostra é reduzida, mas as freqüências mais elevadas de positividade para o RLEP-130 foram observadas entre os CI recidivados (75 a 80%) e CN (50%), ainda que PBs. Comparativamente, há similaridade nas freqüências do RLEP-130, em grupos distintos, CI com término do tratamento em tempo maior (26,1%) ou menor (26,7%) de 10 anos em menos ou, CID saudáveis (20,5%), situações que devem ser mais amplamente exploradas.

No estudo, não houve correlação entre os níveis de PGL-I e positividade para RLEP, concordante com os achados de van Beers et al. (1994), realizado em área endêmica, e também de Bang et al. (2009).

Considerando-se isoladamente os resultados indicativos do carreamento nasal do bacilo, detectado pelo método PCR, em um terço das famílias havia mais de um indivíduo com PCR-positivo para o *M. leprae*. O encontro de vários indivíduos PCR-positivos, concentrados em oito famílias, pode indicar elevada circulação de bacilos no ambiente, além de sugerir que indivíduos estejam eliminando bacilos no núcleo familiar.

Embora possa ser presumido que a detecção do bacilo no muco nasal consista em infecção recente, é possível que o método PCR tenha sido ultrasensível, para detectar fragmentos bacilares que estavam sendo eliminados de células previamente infectadas. Se, por um lado, a mais elevada percentagem de positividade (50 a 100%) foi encontrada em indivíduos com doença em atividade (casos novos e recidivados), também houve o encontro de positividade em 26% dos casos MBs tratados há mais de 10 anos. Como é presumível baixa circulação do bacilo em áreas

não endêmicas, a análise conjunta de dados é mais o razoável a ser considerado.

Pouco pode ser concluído com base no tamanho amostral de casos novos (n=6); no entanto, a percentagem de positividade mais elevada (50%) pelo método PCR no muco nasal, assim como a inferior da sorologia para anti-PGL-I (20%), sugerem a presença do bacilo precedendo a resposta imune humoral. Estes resultados fortalecem que as vias respiratórias superiores como rota para entrada do bacilo na infecção. A negatividade da baciloscopia no muco nasal nas formas PBs pode resultar na baixa sensibilidade deste exame para tal propósito.

De fato, a negatividade em todos os exames laboratoriais dos CI e CID saudáveis foi observada apenas em três famílias (13,6%; 3/22), sem CID afetado, e em duas (15,4%; 2/13) daquelas com CID afetado entre 1990 e 2008. Nas demais, houve o encontro de ao menos um CID apresentando sorologia ou PCR positiva. Este achado corrobora a elevada infectividade do bacilo. Nesta condição, as possibilidades já citadas devem ser consideradas: a continuidade da resposta imune humoral do CID, por contato recente e repetido com o bacilo, por circulação e recirculação de bacilos no indivíduo previamente adoecido ou saudável, ou no ambiente, oriundo de foco desconhecido ou não diagnosticado.

Em recente investigação acerca dos fatores de risco para o adoecimento entre os contatos, os fatores biológicos e sociais seriam aqueles associados com a coprevalência da hanseníase, enquanto os

fatores relacionados à carga bacilar e proximidade com o caso índice seriam associados ao surgimento de casos incidentes ao longo do tempo (Sales et al, 2011).

De qualquer modo, as várias questões surgidas a partir de nossos resultados, tais como a persistência da positividade da sorologia e da detecção do bacilo pelo método PCR, merecem ser exploradas em estudos subseqüentes com adicionais ou novas ferramentas. Sabe-se que o bacilo pode ficar viável no muco nasal por 7 a 9 dias (Rees e Young, 1994), mas esta colonização não é permanente na maioria dos casos (Hatta et al., 1995). Entretanto, se fizermos analogia com outras bactérias, há indivíduos onde o bacilo se instala sem necessariamente provocar infecção, e em alguns destes a sua presença poderia desencadear resposta imune humoral, ou a mesmo a exacerbação desta resposta humoral naqueles previamente sensibilizados.

Nos ensaios para as seqüências repetitivas para a RLEP-130 e RLEP-372, foi observado que o fragmento menor mostrou maior sensibilidade, em concordância com os achados de Goulart et al. (2007). Fragmentos de DNA maiores são mais instáveis e, embora específicos, podem se originar de bacilos viáveis ou mortos. A presença de fragmentos de DNA bacilar na mucosa nasal, tanto em casos índices tratados (26,7%) quanto em indivíduos aparentemente saudáveis (20,5%), pode sugerir a lentidão de eliminação de resíduos do DNA bacilar via muco nasal, ou uma contaminação por bacilos no ambiente, provenientes de caso não diagnosticado. Nossos resultados são concordantes com os achados de Cardona-Castro et al. (2008), que encontraram 31% de positividade para o

bacilo nos ensaios de PCR em mucosa nasal de contatos intradomiciliares de área “pós-eliminação” da Colômbia.

A variabilidade na positividade para a PCR, relatada na literatura, tem sido explicada pela diferença entre os *primers*, tamanhos dos fragmentos e/ou técnicas utilizadas. Os ensaios de PCR para a RLEP são mais sensíveis, quando comparados àqueles direcionados para uma única seqüência de cópias, como os que codificam a proteína de 18kDa ou de 36kDa, resultando ainda em 30 vezes mais DNA amplificado. Entretanto, não se sabe a significância clínica deste DNA residual (Donoghue et al., 2001; Kang et al., 2003; Goulart et al., 2007).

Há consistentes evidências da associação entre a hanseníase e a pobreza e sua distribuição geográfica, desigualdade social e urbanização descontrolada (Kerr-Pontes et al. 2004; Queiroz et al., 2010). O grau de escolaridade pode ser empregado como um dos critérios para a medida do *status* sócio-econômico. No Brasil, mais de 70% dos casos novos de hanseníase, detectados entre 2001-2009, possuíam apenas ensino fundamental ou eram analfabetos (Brasil, 2009b). Em concordância com os achados do estudo, baixo grau de escolaridade foi observado na maioria dos CI, comparados aos demais grupos ($p < 0,05$).

A falta do conhecimento acerca da doença, do acesso aos serviços de saúde e a escassez dos sinais/sintomas nos virchowianos poderiam influenciar na demora do diagnóstico (Lockwood e Reid, 2001; da Silva Souza e Bacha, 2003; Alves et al., 2010; Spencer et al., 2011).

No desenvolvimento do estudo, surpreendeu a observação de que em cerca de um quarto dos CID afetados pela doença desconheciam os antecedentes da doença no seu respectivo CI. Este fato revela como ainda está presente o receio do preconceito e do estigma da doença que, segundo Borenstein et al. (2008), persistem no estado de SC desde a época do asilamento compulsório; este fator pode ter influído no atraso do exame e diagnóstico do contato.

Finalmente, deve ser ressaltado que os programas de controle de hanseníase contemplam outras estratégias além do tratamento multimedicamentoso, tais como a avaliação dos comunicantes intradomiciliares e a indicação da BCG intradérmica em acordo com o histórico vacinal. O seguimento clínico e idealmente o monitoramento laboratorial incrementariam a detecção precoce de novos casos entre os contatos em famílias, em particular entre aquelas de risco, ou aqueles do convívio de casos-índices com elevada carga bacilar. Estas estratégias são potencialmente mais exeqüíveis em áreas com reduzida prevalência, e particularmente valiosas para a manutenção do controle na fase de pós-eliminação.

6 CONCLUSÕES

Cenário: O estado de Santa Catarina na fase de pós-eliminação mantém níveis estáveis de detecção de casos novos. Em 2008, os índices de detecção geral, em menores de 15 anos por 100.000 habitantes e de grau 2 de incapacidade no diagnóstico foram médio, baixo e alto, respectivamente.

Neste cenário epidemiológico, onde estão inseridos os municípios de Itajaí e Joinville, locais de desenvolvimento do presente estudo, pode ser concluído que:

- a) A recidiva entre pacientes da amostra tratados com PQT-MB 24 doses, tempo médio da conclusão de $11,2 \pm 3,0$ anos, foi baixa, prevalecendo alta percentagem de cura.
- b) Em dois casos de reativação da doença, os ensaios realizados para a investigação da resistência bacilar em camundongos resultaram negativos, e possivelmente decorrem da baixa concentração de bacilos viáveis.
- c) O tempo do diagnóstico, de 2 anos e em até 19 anos após o seu respectivo CI, para a expressiva maioria dos indivíduos acometidos caracteriza o longo tempo de incubação da doença, e a necessidade do seguimento prolongado.
- d) A identificação de CI multibacilares diagnosticados em período muito posterior (2-6 anos) aos seus contatos, indicativa do atraso no diagnóstico, e o acréscimo na detecção de casos novos durante a intervenção do presente estudo, corroboram o fortalecimento nas estratégias de vigilância.

-
- e) Os valores superiores da freqüência da positividade para anti-PGL-I entre os CI recidivados e do nível sérico médio (acima do *cut-off*) distingue significativamente àqueles observados no grupo de CI >10 anos após término de PQT-MB, inferiores na freqüência da positividade e no nível sérico médio do anti-PGL-I (abaixo do *cut-off*).
 - f) A correlação negativa entre os níveis séricos de anti-PGL-I e o tempo decorrido após a alta terapêutica dos CI corrobora a eficácia do tratamento e a queda lenta e progressiva dos níveis sorológicos ao longo dos anos.
 - g) Os valores das freqüências da positividade para anti-PGL-I, comparativamente superiores e similares entre os MB com período ≤ 10 anos de alta por cura e os CID clinicamente saudáveis, são indicativos de longo tempo de eliminação, alta infectividade do bacilo, e de possível resposta sorológica mantida, ainda que tipo IgM.
 - h) A baixa freqüência da positividade para anti-PGL-I entre os casos novos, em sua maioria PB, e entre os CI com alta por cura estabelece características sorológicas condizentes com baixa população de bacilos (vivos, latentes ou mortos / fragmentados), quer pela condição imune-específica, precocidade do diagnóstico ou pós-terapêutica, respectivamente, a despeito das diferenças entre os grupos.

- i) A soropositividade anti-PGL-I (IgM) parece perdurar em parcela dos indivíduos, nos diferentes grupos de estudo, como possível resultado do maior envolvimento de células B memória, além da resposta de curta duração, por: a) estímulo persistente por bacilos (vivos ou latentes), ou antígeno bacilar, provindos do próprio indivíduo- CI tratado, CID saudável portador ou de foco de infecção não-determinado;
- j) A frequência de positividade significativamente superior nos ensaios da PCR para RLEP-130 comparada à da RLEP-372 indica maior sensibilidade da primeira sequência para detecção do *M.leprae*.
- k) A frequência da positividade superior para RLEP-130 entre casos novos, em sua maioria PB, é indicativa da elevada sensibilidade do método PCR para detecção do DNA bacilar, e recente infecção ou eliminação, ainda que pela cavidade nasal, o que pode fortalecer esta como a rota de entrada/ transmissão do bacilo,
- l) O encontro dos valores similares da frequência de positividade para RLEP-130 entre: i) CI com alta por cura, em períodos superiores ou inferiores a 10 anos de conclusão do tratamento, e ii) CID saudáveis, incluídos os indivíduos sob condição de risco (positividade em mais de dois testes empregados), ou seja diferentes condições (doença tratada ou infecção) pode ser entendido como recente contaminação ou eliminação de bacilos, ou persistência de restos do DNA bacilar na cavidade nasal.

- m) Interessantemente, a queda da frequência de positividade para RLEP-130, quando excluídos os indivíduos de risco do grupo CID saudáveis, sugere: a transitoriedade da condição comparada à sorologia; a possibilidade de que indivíduos categorizados como em risco, estejam de fato eliminando bacilos ou com a doença incipiente; a elevada sensibilidade do método e a sua utilidade para estabelecimento do risco e estudo de populações.
- n) Os resultados do presente estudo indicam fortemente que os testes laboratoriais anti-PGL-I e PCR para RLEP-130 possam auxiliar, além de ter aplicação proveitosa na detecção das recidivas, no monitoramento da terapêutica e no seguimento de doentes, e dos contatos e famílias em risco de adoecimento, em particular aqueles no convívio dos casos com altos índices baciloscópicos.
- o) Apesar do controle da endemia na região do estudo, há indícios de baixa auto-estima e preconceito entre os doentes, que omitiram a doença de seus familiares, o que pode ter influenciado no atraso do diagnóstico daqueles que posteriormente adoeceram.
- p) O processo de centralização da assistência à hanseníase pode ser constatado, principalmente em Itajaí, pelo número de atendimentos daqueles não procedentes do próprio município. Desde que longe do seu município, há de se refletir que a limitação do acesso aos serviços especializados possa retardar o diagnóstico precoce.

- q) Os programas de controle de hanseníase contemplam outras estratégias além do tratamento multimedicação entre os quais:
- i) a avaliação dos comunicantes intradomiciliares e
 - ii) o seguimento clínico, idealmente com a adição do monitoramento laboratorial.
- Estas estratégias seriam potencialmente mais exeqüíveis em áreas com reduzida prevalência, e particularmente valiosas para a manutenção do controle na fase de pós-eliminação.

7 ANEXOS

ANEXO A**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA****UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO- HCFMUSP****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (Paciente)**

Eu _____, recebi informações sobre a participação voluntária do estudo **“Avaliação da eficácia da poliquimioterapia 24 doses em pacientes multibacilares com hanseníase na faixa virchowiana, em cidades do Estado de Santa Catarina, e reavaliação dos comunicantes dos pacientes diagnosticados entre 1990 e 2000”**, cuja finalidade será avaliar a eficácia do tratamento e investigar os casos de reaparecimento da hanseníase.

Se houver suspeita do reaparecimento da hanseníase, deverei me submeter aos exames que buscam detectar a presença da bactéria e a confirmação do diagnóstico, incluídos: **biópsia**, com retirada de dois fragmentos de pele, sob anestesia local; **baciloscopia**, com incisão superficial da pele e raspagem da base do corte realizado em lesão suspeita, orelhas, joelhos e cotovelos; e um **exame complementar**, usando cotonetes para coleta de secreção do nariz. Para avaliar como meu organismo se defende, produz anticorpos e reage contra a bactéria, será realizada: coleta de cerca de 5ml sangue da veia periférica do antebraço, para **exame sorológico** e a **reação cutânea** de Mitsuda. Todos esses procedimentos são **padrões** para investigação da doença, o que é um benefício, pois irão avaliar eficácia do tratamento e não irão prejudicar minha saúde. Há desconforto e dor mínima das picadas da

agulha para a anestesia local, a coleta de sangue e a reação de Mitsuda, bem como para a realização da baciloscopia, mas os riscos de infecção local são mínimos ou desprezíveis. Fui informado que o único benefício será confirmar a eficácia do tratamento, porque está sendo testada a hipótese de que a doença possa reaparecer mesmo após vários anos do seu término. Somente ao final do estudo, saberei sobre o benefício de repetir estes exames, quais seriam os mais importantes para diagnosticar a doença e com que frequência as bactérias estão resistindo ao tratamento. Também fui informado que, em qualquer etapa do estudo, terei acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o DR. JAISON ANTONIO BARRETO, que pode ser encontrado no endereço INSTITUTO LAURO DE SOUZA LIMA-BAURU-SP, Telefone(s) (14) 31035854/31035888. Se eu tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entrarei em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11)3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: (11) 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br.

Compreendi que posso livremente interromper minha participação no estudo em qualquer momento, sem necessidade de justificar minha decisão, e que isso não trará qualquer consequência ao meu atendimento e tratamento. Compreendi, também, que será preservado o sigilo de minha identidade, e as informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, sem a identificação isolada de qualquer participante do estudo. Fui informado que terei conhecimento

sobre os meus exames e os resultados da pesquisa, se assim desejar. Compreendi que não terei despesas e compensações financeiras por participar, em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. Declaro, também, que fui informado que o material coletado será guardado, e que, caso necessite ser utilizado em nova pesquisa, serei comunicado para novo consentimento. Acredito ter sido suficientemente esclarecido a respeito das informações que li, ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Avaliação da eficácia da poliquimioterapia 24 doses em pacientes multibacilares com hanseníase na faixa virchowiana, em cidades do Estado de Santa Catarina, e reavaliação dos comunicantes dos pacientes diagnosticados entre 1990 e 2000”. Eu discuti com o DR JAISON ANTONIO BARRETO sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo, e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades, prejuízos, ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal

Data ____/____/____

Assinatura da testemunha, para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Data ____/____/____

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou de seu representante legal, para a participação neste estudo _____

Dr. Jaison Antonio Barreto, ____/____/____ *Médico Responsável pela Pesquisa*

ANEXO B**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (Contato)**

Eu _____, recebi informações para a participação voluntária do estudo **“Avaliação da eficácia da poliquimioterapia 24 doses em pacientes multibacilares com hanseníase na faixa virchowiana, em cidades do Estado de Santa Catarina, e reavaliação dos comunicantes dos pacientes diagnosticados entre 1990 e 2000”**, cuja finalidade será investigar o aparecimento da doença entre comunicantes dos pacientes tratados.

Após cuidadoso exame clínico, se houver suspeita de hanseníase, deverei me submeter aos exames que buscam detectar a presença da bactéria e a confirmação do diagnóstico, incluídos: **biópsia**, com retirada de dois fragmentos de pele com anestesia local; **baciloscopia**, com incisão superficial da pele e raspagem da base do corte realizado em lesão suspeita, orelhas, joelhos e cotovelos; e um **exame complementar**, usando cotonetes para coleta de secreção do nariz. Para avaliar como meu organismo se defende, produz anticorpos e reage contra a bactéria, será realizada coleta de cerca de 5ml sangue da veia periférica do antebraço, para **exame sorológico** e a **reação cutânea** de Mitsuda. Todos esses procedimentos são **padrões** para investigação da doença, o que é um

benefício, pois irão avaliar eficácia do tratamento e não irão prejudicar minha saúde. Há desconforto e dor mínima das picadas da agulha para a anestesia local, a coleta de sangue e a reação de Mitsuda, bem como para a realização da baciloscopia, mas os riscos de infecção local são mínimos ou desprezíveis. Fui informado que o benefício será detectar a presença da doença de forma precoce.

Também fui informado que, em qualquer etapa do estudo, terei acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o DR JAISON ANTONIO BARRETO, que pode ser encontrado no endereço INSTITUTO LAURO DE SOUZA LIMA-BAURU-SP, Telefone(s) (14)31035854/31035888. Se eu tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entrarei em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11) 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: (11) 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br.

Compreendi que posso livremente interromper minha participação no estudo em qualquer momento, sem necessidade de justificar minha decisão, e que isso não trará qualquer consequência ao meu atendimento e tratamento. Compreendi, também, que será preservado o sigilo de minha identidade, e as informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, sem a identificação isolada de qualquer participante do estudo. Fui informado que terei conhecimento sobre os meus exames e os

resultados da pesquisa, se assim desejar. Compreendi que não terei despesas e compensações financeiras por participar, em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. Declaro, também, que fui informado que o material coletado será guardado, e que, caso necessite ser utilizado em nova pesquisa, serei comunicado para novo consentimento. Acredito ter sido suficientemente esclarecido a respeito das informações que li, ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Avaliação da eficácia da poliquimioterapia 24 doses em pacientes multibacilares com hanseníase na faixa virchowiana, em cidades do Estado de Santa Catarina, e reavaliação dos comunicantes dos pacientes diagnosticados entre 1990 e 2000”. Eu discuti com o DR JAISON ANTONIO BARRETO sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo, e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades, prejuízos, ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha, para casos de pacientes
menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos Data ____ / ____ / ____
ou portadores de deficiência auditiva ou visual

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e
Esclarecido deste paciente ou de seu representante legal, para a
participação neste estudo _____

Dr. Jaison Antonio Barreto, ____ / ____ / ____ *Médico Responsável pela Pesquisa*

ANEXO C



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Controle de Doenças
INSTITUTO 'LAURO DE SOUZA LIMA'
Rod. Cte. João Ribeiro de Barros, Km 225/226 - Bauru- SP -
CEP: 17034-971 - Caixa Postal 3021 - Fone: (14) 31035940 FAX: (14) 3103.5914

Bauru, 27 de Maio de 2008

Ílmo Sr.

DR. JOSÉ FERNANDO CASQUEL MONTI

Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa

Instituto Lauro de Souza Lima


Bauru - SP

**REF: JUSTIFICATIVA PARA A EXECUÇÃO DO PROJETO EM CIDADES DO
ESTADO DE SANTA CATARINA**

Prezado Senhor,

Em virtude da não anuência da Secretaria de Saúde do Estado do Rio Grande do Sul em participar do projeto "AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA POLIQUIMIOTERAPIA 24 DOSES EM PACIENTES MULTIBACILARES COM HANSENÍASE NA FAIXA VIRCHOVIANA EM MUNICÍPIOS DE SANTA CATARINA E REAVALIAÇÃO DOS COMUNICANTES DOS PACIENTES DIAGNOSTICADOS ENTRE OS ANOS DE 1990 E 2000", ficou decidido, pelo Coordenador do projeto, Dr. Jaison Antônio Barreto, em conjunto com o Diretor Técnico do Instituto Lauro de Souza Lima, Dr. Marcos da Cunha Lopes Virmond, a sua realização em um Estado da Federação com características epidemiológicas similares em relação à Eliminação da Hanseníase como problema de Saúde Pública.

Esta decisão foi prontamente aceita pela DAHW, principal órgão financiador do projeto, e este também foi prontamente aceito pela Secretaria de Estado da Saúde de Santa Catarina.


Dr Jaison Antônio Barreto
Coordenador do Projeto

ANEXO D

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE

INSTITUTO LAURO DE SOUZA LIMA

Caixa Postal 3021 – CEP: 17034-971 – Bauru – SP – Brasil
Fone: 55 14 3103-5852 – 3103-5856
Fax: 55 14 3103-5914 – 3103-5856

COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA

OF.: C.E.P. nº 015/2008

Bauru, 28 de maio de 2008

Ilmo. Sr.

Jaison Antonio Barreto

Prezado Senhor

O projeto de pesquisa intitulado “Avaliação da eficácia da poliquimioterapia 24 doses em pacientes multibacilares na faixa virchoviana em Municípios de Santa Catarina e reavaliação dos comunicantes dos pacientes diagnosticados entre 1990 e 2000”, protocolo nº 153/08, foi apreciado neste Comitê de Ética em Pesquisa, recebeu parecer favorável e foi considerado APROVADO, na reunião realizada em 27/05/08.

Aproveitamos a oportunidade para reiterar nossos protestos do mais elevado apreço.

Atenciosamente



Dra. Ida Maria Foschiani Dias Baptista

Vice - Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
Instituto Lauro de Souza Lima

ANEXO E

INSTITUTO LAURO DE SOUZA LIMA

Rodovia Comandante João Ribeiro de Barros, km 225/226 - Bauru - SP.
CEP: 17034-971 - Caixa Postal 3021
Fone (14) 3103-5900 - Fax (14) 3103-5914

COMISSÃO CIENTÍFICA

Bauru, 13 de Outubro de 2008.

Ilmo. Sr.

Ms. JAISON ANTONIO BARRETO

Assunto: processo 153/07

Prezado Senhor:

Informamos a Vossa Senhoria que o projeto nº. 153/08, intitulado "AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA POLIQUIMIOTERAPIA 24 DOSES EM PACIENTES MULTIBACILARES NA FAIXA VIRCHOVIANA EM MUNICÍPIOS DE SANTA CATARINA E REAVALIAÇÃO DOS COMUNICANTES DOS PACIENTES DIAGNOSTICADOS ENTRE 1990 E 2000", foi aprovado pela Comissão Científica do Instituto Lauro de Souza Lima.

Atenciosamente,



FÁTIMA REGINA VILANI MORENO

Representante da Comissão Científica

ANEXO F

N. identificação indivíduo:

Caso índice ()

Contato ()

FORMULÁRIO DE- ENTREVISTA

1. Data (entrevista): ___/___/___

Cidade: _____

2. Nome: _____ Idade _____ Sexo _____

Data de nascimento ___/___/___ Estado Civil _____

Naturalidade _____ Estado _____ Procedência _____ Estado _____

Telefone para contato _____

3. Nome dos pais: _____

4. Há quanto tempo mora na cidade: Anos: ___ Meses: ___

5. Quantas pessoas moram no seu endereço atual? _____

6. Conhece ou conheceu alguém com hanseníase?

1.Sim () 2. Não () 9. Não sabe informar ()

7. Já morou ou mora com outras pessoas com esta doença?

1.Sim () 2. Não () 9. Não sabe informar ()

8. Há quanto tempo mora ou morou com paciente com hanseníase ? Anos: _____ Meses: _____

Especificar quem e quantas pessoas _____

9. **Para Pacientes com a doença prévia ou atual:** Já teve ou tem hanseníase?

1.Sim () (ano de diagnóstico e forma clínica) _____

2. Não ()

Se Caso novo (descrever lesões e sintomas)9.1. **Para Casos Tratados:** Fez o tratamento completo? 1.Sim () 2.Não ()

Houve reações? 1.Sim () Especificar _____ 2.Não ()

Grau de incapacidade no diagnóstico e na alta: _____

9.2. Qual o esquema terapêutico 1. PQT/PB () 2. PQT/MB ()

3. Outros (Especificar qual e por quanto tempo) _____

10. Qual o curso mais elevado que o(a) senhor(a) concluiu?

1. Alfabetização básica ()

6. Universidade concluída ()

2. Fundamental incompleto ()

7. Pós-graduação concluída ()

3. Fundamental completo ()

8. Analfabeto ()

4. Ensino Médio incompleto ()

9. Não sabe informar / não se aplica ()

5. Ensino Médio completo ()

11. Qual sua situação trabalhista, no momento?

- | | | |
|----------------------------|--------------|--------------|
| 1. Desempregado | 1. Sim (___) | 2. Não (___) |
| 2. Empregado | 1. Sim (___) | 2. Não (___) |
| 3. Autônomo | 1. Sim (___) | 2. Não (___) |
| 4. Afastado/Licença Saúde | 1. Sim (___) | 2. Não (___) |
| 5. Estudante | 1. Sim (___) | 2. Não (___) |
| 6. Empregador | 1. Sim (___) | 2. Não (___) |
| 7. Aposentado/ Pensionista | 1. Sim (___) | 2. Não (___) |

8. Outros (especificar): _____

9. Não sabe informar (___)

12. A renda familiar é aproximadamente:

- | | |
|--|--|
| 1. Menos que um salário mínimo (___) | 4. De 4 a 6 salários (inclusive) (___) |
| 2. De 1 a 2 salários (inclusive) (___) | 5. Mais que 6 salários (___) |
| 3. De 2 a 4 salários (inclusive) (___) | 9. Não sabe informar (___) |

13. Sua residência tem água encanada:

1. Sim (___) 2. Não (___)
9. Não sabe informar / Não se aplica (___)

14. O esgoto da sua casa é do tipo:

1. Fossa (___) 2. Céu aberto (___) 3. Rede pública (___) 9. Não sabe informar / Não se aplica (___)

15. A casa do(a) senhor(a) tem quantos cômodos (contando quarto e sala) : _____

9. Não sabe informar / Não se aplica (___)

TESTES REALIZADOS E MATERIAL COLETADO (controle interno)

- | | | |
|-------------------------|--------------|---------------|
| 1. Mitsuda | 1. Sim (___) | ..2.Não (___) |
| 2. Swab nasal | 1. Sim (___) | 2.Não (___) |
| 3. Sangue com EDTA | 1. Sim (___) | 2.Não (___) |
| 4. Biópsia (formol) | 1. Sim (___) | 2.Não (___) |
| 5. Biópsia (inoculação) | 1. Sim (___) | 2.Não (___) |
| 6. ML-Flow..... | 1. Sim (___) | 2.Não (___) |
| 7. Baciloscopia | 1. Sim (___) | 2.Não (___) |

Observações: _____

8 REFERÊNCIAS

Abraham S, Mozhi NM, Joseph GA, Kurian N, Rao PS, Job CK. Epidemiological significance of first skin lesion in leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1998; 66(2):131-9.

Almeida EC, Martinez AN, Maniero VC, Sales AM, Duppre NC, Sarno EN, Santos AR, Moraes MO. Detection of *Mycobacterium leprae* DNA by polymerase chain reaction in the blood and nasal secretion of Brazilian household contacts. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004; 99(5):509-11.

Alves CJ, Barreto JA, Fogagnolo L, Contin LA, Nassif PW. Evaluation of the degree of incapacity of patients with a diagnosis of leprosy at a dermatology service in the state of São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010;43(4):460-1.

Andrade AR, Grossi MA, Bühner-Sékula S, Antunes CM. Seroprevalence of ML Flow test in leprosy contacts from State of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008; 41(suppl 2):56-9.

Andrade VLG. *Evolução da hanseníase no Brasil e perspectivas para sua eliminação como um problema de saúde pública*. Tese. Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1996.181p.

WHO. Andrade V. Implementation of WHO MDT in Brazil. Multidrug therapy against leprosy: development and implementation over the past 25 years / [editor]: H. Sansarricq. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2004. 190 p.

Araujo RRDF, Oliveira MHP. A irregularidade dos portadores de hanseníase ao serviço de saúde. *Hansenol Int*. 2003; 28(1):71-8.

Avelleira JCR, Marques AB, Viana FR, Andrade VLG. Eficácia da MDT no tratamento de pacientes hansenianos paucibacilares – resultados preliminares. *Hansenol Int.* 1989;14(2):107-11.

Avelleira JCR, Vianna FR, Boechat AM, Alves LM, Madeira S. Persistência de bacilos viáveis em pacientes de hanseníase multibacilar altamente bacilíferos após 12 doses do esquema poliquimioterápico (PQT/OMS). *Hansenol Int.* 2003;28(1):44-8.

Bach MA, Wallach D, Flageul B, Hoffenbach A, Cottenot F. Antibodies to phenolic glycolipid-1 and to whole *Mycobacterium leprae* in leprosy patients: evolution during therapy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1986;54(2): 256-67.

Balagon MF, Cellona RV, Cruz E, Burgos JA, Abalos RM, Walsh GP, Saunderson PR, Walsh DS. Long-term relapse risk of multibacillary leprosy after completion of 2 years of multiple drug therapy (WHO-MDT) in Cebu, Philippines. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;81(5):895-9.

Bang PD, Suzuki K, Phuong le T, Chu TM, Ishii N, Khang TH. Evaluation of polymerase chain reaction-based detection of *Mycobacterium leprae* for the diagnosis of leprosy. *J Dermatol.* 2009;36(5):269-76.

Baohong J. Drug susceptibility testing of *Mycobacterium leprae*. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1987;55(4 Suppl):830-5.

Baohong J. Does there exist a subgroup of MB patients at greater risk of relapse after MDT? *Lepr Rev.* 2001;72(1):3-7.

Barkataki P; Kumar S; Rao OS. Knowledge of and attitudes to leprosy among patients and community members: a comparative study in Uttar Pradesh, India. *Lepr Rev.* 2006;77(1):62-8.

Barreto JA, Carvalho CV, Cury Filho M, Garbino JA, Nogueira MES, Soares CT. Hanseníase multibacilar com baciloscopia dos esfregaços negativa: a importância de se avaliar todos os critérios antes de se definir a forma clínica. *Hansenol Int.* 2007;32(1):75-9.

Barreto JA, Nogueira ME, Diorio SM, Bühner-Sékula S. Leprosy serology (ML Flow test) in borderline leprosy patients classified as paucibacillary by counting cutaneous lesions: an useful tool. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008;41(suppl 2):45-7.

Barros RPC, Oliveira MLW. Detecção de anticorpos específicos para o antígeno glicolípide fenólico-1 do *M. leprae* (anti PGL-1IgM): aplicações e limitações. *An bras Dermatol*, 75(6):745-753, 2000.

Baumgart KW, Britton WJ, Mullins RJ, Basten A, Barnetson RS. Subclinical infection with *Mycobacterium leprae* - a problem for leprosy control strategies. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1993;87(4):412-5.

Bechelli LM, Fernández JLM, Domínguez VM, Rotberg A, Chaussinand R, Hale JH, Ross H, Souza Campos N. Comision de Inmunologia. In: *Memoria del VI Congreso Internacional de Leprologia*; octubre de 1953, Madrid. Madrid; 1953. p. 96-104.

Bechelli LM, Rotberg A. *Compêndio de Leprologia*. 2a ed. Rio de Janeiro: SNL; 1956.

Bechelli LM. Hanseníase. In: Veronesi, R. *Doenças Infecciosas e Parasitárias*. 8a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991. p.346-66.

Beiguelman B. A reação de Mitsuda oitenta anos depois. *Hansenol Int*. 1999; 24(2):144-61.

Beyene D, Aseffa A, Harboe M, Kidane D, Macdonald M, Klatser PR, Bjune GA, Smith WC. Nasal carriage of *Mycobacterium leprae* DNA in healthy individuals in Lega Robi village, Ethiopia. *Epidemiol Infect*. 2003;131(2):841-8.

Borenstein MS, Padilha MI, Costa E, Gregório VRP, Koerich AME, Ribas DL. Hanseníase: estigma e preconceito vivenciados por pacientes institucionalizados em Santa Catarina (1940-1960). *Rev Bras Enferm*. 2008;61(esp):708-12.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia para o Controle da Hanseníase. Brasília. 2002.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde: Situação Epidemiológica da Hanseníase no Brasil. 2008. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_novembro.pdf. Acesso em dezembro de 2010.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Hanseníase no Brasil. 2009a. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/caderno_de_indicadores_hansenise_brasil2001a2008.pdf. Acesso em dezembro de 2010.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de Controle da Hanseníase – PNCH. Relatório de Gestão. 2009b.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Programa Nacional de Controle da Hanseníase – PNCH. Hanseníase. Informações Técnicas. 2009c. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31205. Acesso em março de 2011.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Programa Nacional de Controle da Hanseníase – PNCH. Hanseníase. Situação Epidemiológica. 2010a. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/graf4_coef_det_br_1994_2009_11210.pdf. Acesso em março de 2011.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Programa Nacional de Controle da Hanseníase – PNCH. Hanseníase. Situação Epidemiológica. 2010b. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/tab17_perc_cont_nov_han_regist_2000_2009_01.pdf. Acesso em março de 2011.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Programa Nacional de Controle da Hanseníase – PNCH. Hanseníase. Situação Epidemiológica. 2010c. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/graf28.pdf>. Acesso em março de 2011.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Programa Nacional de Controle da Hanseníase – PNCH. Hanseníase. Situação Epidemiológica. 2010d. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/graf25_casos_han_seg_etaria_br2001_a_2009.pdf. Acesso em março de 2011.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2010e. Disponível em http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portaria_n_3125_hanseniose_2010.pdf. Acesso em dezembro de 2010.

Brennan PJ, Barrow WW. Evidence for species-specific lipid antigens in *Mycobacterium leprae*. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1980;48:382-7.

Brett SJ, Payne SN, Gigg J, Burgess P, Gigg R. Use of synthetic glycoconjugates containing the *Mycobacterium leprae* specific and immunodominant epitope of phenolic glycolipid I in the serology of leprosy. *Clin Exp Immunol*. 1986;64:476-83.

Brito MFM, Ximenes RAA, Gallo MEN, Bührer-Sékula S. Association between leprosy reactions after treatment and bacterial load evaluated using anti PGL-I serology and bacilloscopy. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008; 41(suppl 2):67-72.

Britton WJ, Lockwood DN. Leprosy. *Lancet*. 2004; 363:1209–19.

Bührer-Sékula S, Cunha MG, Foss NT, Oskam L, Faber WR, Klatser PR. Dipstick assay to identify leprosy patients who have an increased risk of relapse. *Trop Med Int Health*. 2001; 6(4):317-23.

Bührer-Sékula S, Visschedijk J, Grossi MA, Dhakal KP, Namadi AU, Klatser PR, Oskam L. The ML flow test as a point of care test for leprosy control programmes: potential effects on classification of leprosy patients. *Lepr Rev*. 2007; 78(1):70-9.

Buhrer-Sékula S. PGL-I leprosy serology [editorial]. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008a; 41(suppl 2):3-5.

Buhrer-Sékula S, van Beers S, Oskam L, Lecco R, Madeira ES, Dutra MAL, Luis MC, Faber WR, Klatser PR. The relation between seroprevalence of antibodies against phenolic glycolipid-1 among school children and leprosy endemicity in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008b;41(suppl 2): 81-8.

Cambau E, Bonnafous P, Perani E, Sougakoff W, Ji B, Jarlier V. Molecular detection of rifampin and ofloxacin resistance for patients who experience relapse of multibacillary leprosy. *Clin Infect Dis.* 2002;34(1):39-45.

Cardona-Castro N, Beltrán-Alzate JC, Manrique-Hernández R. Survey to identify *Mycobacterium leprae*-infected household contacts of patients from prevalent regions of leprosy in Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2008;103(4):332-6.

Cellona RV, Walsh GP, Fajardo TT Jr, Abalos RM, de la Cruz EC, Guido-Villahermosa L, Felicio-Balagon MV, Steenbergen GJ, Douglas JT. Cross-sectional assessment of ELISA reactivity in leprosy patients, contacts, and normal population using the semisynthetic antigen natural disaccharide octyl bovine serum albumin (ND-O-BSA) in Cebu, The Philippines. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1993; 61(2):192-8.

Cellona RV, Balagon MF, dela Cruz EC, Burgos JA, Abalos RM, Walsh GP, Topolski R, Gelber RH, Walsh DS. Long-term efficacy of 2 year WHO multiple drug therapy (MDT) in multibacillary (MB) leprosy patients. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 2003;71(4):308-19.

Cestari TF. *Hanseníase na infância: Estudo epidemiológico e clínico-evolutivo dos casos ocorridos em menores de 8 anos no estado do Rio Grande do Sul no período de 1940 a 1988* [dissertação]. Rio de Janeiro: Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro; 1990.

Chanteau S, Cartel JL, Guidi C, Plichart R, Bach MA. Seroepidemiological study on 724 household contacts of leprosy patients in French Polynesia using disaccharide-octyl-BSA as antigen. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1987;55(4):626-32.

Chatterjee BR. Carrier state in leprosy. *Lepr India.* 1976;48(suppl 4): 643-4.

Chin-a-Lien RA, Faber WR, van Rens MM, Leiker DL, Naafs B, Klatser PR. Follow-up of multibacillary leprosy patients using a phenolic glycolipid-I-based ELISA. Do increasing ELISA-values after discontinuation of treatment indicate relapse? *Lepr Rev.* 1992;63(1):21-7.

Cho SN, Cellona RV, Villahermosa LG, Fajardo TT Jr, Balagon MV, Abalos RM, Tan EV, Walsh GP, Kim JD, Brennan PJ. Detection of phenolic glycolipid I of *Mycobacterium leprae* in sera from leprosy patients before and after start of multidrug therapy. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001;8(1):138-42.

Clark-Curtiss JE, Docherty MA. A species-specific repetitive sequence in *Mycobacterium leprae* DNA. *J Infect Dis.* 1989;159(1):7-15.

Cole ST, Supply P, Honoré N. Repetitive sequences in *Mycobacterium leprae* and their impact on genome plasticity. *Lepr Rev.* 2001;72(4):449-61.

Convit J, Borges R, Ulrich M, Aranzazu N, Pinarði ME, Parra JJ. Leprosy vaccines. *Hansenol Int.* 2003;28(1):13-8.

Cunha SS, Alexander N, Barreto ML, Pereira ES, Dourado I, Maroja MF, Ichihara Y, Brito S, Pereira S, Rodrigues LC. BCG revaccination does not protect against leprosy in the Brazilian Amazon: a cluster randomised trial. *PLoS Negl Trop Dis.* 2008;2(2):e167.

da Silva Souza C, Bacha JT. Delayed diagnosis of leprosy and the potential role of educational activities in Brazil. *Lepr Rev.* 2003; 74(3):249-58.

Desforges S, Bobin P, Brethes B, Huerre M, Moreau JP, Bach MA. Specific anti-M leprae PGL-I antibodies and Mitsuda reaction in the management of household contacts in New Caledonia. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1989;57(4):794-800.

Dharmendra. Classifications of leprosy. In: Hastings RC, editor. *Leprosy.* 2nd ed. New York: Churchill Livingstone; 1994. p.179-90.

Donoghue HD, Holton J, Spigelman M. PCR primers that can detect low levels of Mycobacterium leprae DNA. *J Med Microbiol.* 2001;50(2):177-82.

Douglas JT, Cellona RV, Fajardo TT Jr, Abalos RM, Balagon MV, Klatser PR. Prospective study of serological conversion as a risk factor for development of leprosy among household contacts. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2004;11(5):897-900.

Doull JA, Rodriguez JN, Guinto RS. A field study of leprosy in Cebu. *Int J Lepr.* 1936;4:141-70.

Drutz DJ, Chen TSN, Lu WH. The continuous bacteraemia of lepromatous leprosy. *N Eng J Med*. 1972;287:159-164.

Durães SM, Guedes LS, Cunha MD, Magnanini MM, Oliveira ML. Epidemiologic study of 107 cases of families with leprosy in Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brazil. *An Bras Dermatol*. 2010;85(3):339-45.

Fermer C, Kristiansen BE, Sköld O, Swedberg G. Sulfonamide resistance in *Neisseria meningitidis* as defined by site-directed mutagenesis could have its origin in other species. *J Bacteriol*. 1995;177(16):4669-75.

Fine PE, Sterne JA, Pönnighaus JM, Bliss L, Sauti J, Chihana A, Munthali M, Warndorff DK. Household and dwelling contact as risk factors for leprosy in northern Malawi. *Am J Epidemiol*. 1997;146(1):91-102.

Frota CC, Freitas MV, Foss NT, Lima LN, Rodrigues LC, Barreto ML, Kerr LR. Seropositivity to anti-phenolic glycolipid-I in leprosy cases, contacts and no known contacts of leprosy in an endemic and a non-endemic area in northeast Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2010;104(7):490-5.

Fujiwara T, Hunter SW, Sho SN, Aspinall GO, Brennan PJ. Chemical synthesis and serology of disaccharides and trisaccharides of phenolic glycolipid antigens from the leprosy bacillus and preparation of a disaccharide protein conjugate for serodiagnosis of leprosy. *Infect Immun*. 1984; 43:245-52.

Gelber RH, Li F, Cho SN, Byrd S, Rajagopalan K, Brennan PJ. Serum antibodies to defined carbohydrate antigens during the course of treated leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1989;57(4):744-51.

Gillis TP, Williams DL. Dapsone resistance in *Mycobacterium leprae*. *Lepr Rev*. 2000; 71 Suppl:S91-5.

Goulart IM, Arbex GL, Carneiro MH, Rodrigues MS, Gadia R. [Adverse effects of multidrug therapy in leprosy patients: a five-year survey at a Health Center of the Federal University of Uberlândia]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2002;35(5):453-60.

Goulart IM, Cardoso AM, Santos MS, Gonçalves MA, Pereira JE, Goulart LR. Detection of *Mycobacterium leprae* DNA in skin lesions of leprosy patients by PCR may be affected by amplicon size. *Arch Dermatol Res*. 2007;299(5-6):267-71.

Goulart IM, Bernardes Souza DO, Marques CR, Pimenta VL, Gonçalves MA, Goulart LR. Risk and protective factors for leprosy development determined by epidemiological surveillance of household contacts. *Clin Vaccine Immunol*. 2008;15(1):101-5.

Grosset JH, Guelpa-Lauras CC, Bobin P, Brucker G, Cartel JL, Constant-Desportes M, Flageul B, Frédéric M, Guillaume JC, Millan J. Study of 39 documented relapses of multibacillary leprosy after treatment with rifampin. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1989;57(3):607-14.

Grossi MAF, Leboeuf MAA, Andrade ARC, Buhrer-Sekula S, Antunes CMF. Risk factors for ML Flow seropositivity in leprosy patients. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008; 41(suppl 2):39-44.

Guelpa-Lauras CC, Grosset JH, Constant-Desportes M, Brucker G. Nine cases of rifampin-resistant leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1984;52(1):101-2.

Guinto RS, Cellona RV, Fajardo TT, de la Cruz EC. Primary dapsone-resistant leprosy in Cebu, Philippines. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1981;49(4):427-30.

Hartskeerl RA, de Wit MY, Klatser PR. Polymerase chain reaction for the detection of *Mycobacterium leprae*. *J Gen Microbiol.* 1989;135(9):2357-64.

Hastings RC. Therapeutics in Leprosy: State of Art. *Hansenol Int.* 1998; Special Congress:51-8.

Hatta M, van Beers SM, Madjid B, Djumadi A, de Wit MY, Klatser PR. Distribution and persistence of *Mycobacterium leprae* nasal carriage among a population in which leprosy is endemic in Indonesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1995;89(4):381-5.

Honore N, Cole ST. Molecular basis of rifampin resistance in *Mycobacterium leprae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37(3):414-8.

Jacobson RR, Hastings RC. Rifampin-resistant leprosy. *Lancet.* 1976; 2(7998):1304-5.

Jamet P, Ji B. Relapse after long-term follow up of multibacillary patients treated by WHO multidrug regimen. Marchoux Chemotherapy Study Group. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1995;63: 195–201.

Jardim MR, Antunes SLG, Simons B, Wildenbeest JG, Nery JA, Illarramendi X, Moraes MO, Martinez AM, Oskam L, Faber WR, Sarno EN, Sampaio EP, Buhner-Sekula S. Role of PGL-I antibody detection in the diagnosis of pure neural leprosy. *Lepr Rev.* 2005; 76:232-40.

Job CK, Chehl SK, Hastings RC. New findings on the mode of entry of *Mycobacterium leprae* in nude mice. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1990;58(4):726-9.

Job CK. Pathology of leprosy. In: Hastings RC, editor. *Leprosy*. 2nd ed. New York: Churchill Livingstone; 1994. p. 193-224.

Job CK, Jayakumar J, Kearney M, Gillis TP. Transmission of leprosy: a study of skin and nasal secretions of household contacts of leprosy patients using PCR. *Am J Trop Med Hyg.* 2008;78(3):518-21.

Jopling WH, McDougall AC. *Manual de hanseníase*. 4a ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 1991.

Kai M, Matsuoka M, Nakata N, Maeda S, Gidoh M, Maeda Y, Hashimoto K, Kobayashi K, Kashiwabara Y. Diaminodiphenylsulfone resistance of *Mycobacterium leprae* due to mutations in the dihydropteroate synthase gene. *FEMS Microbiol Lett.* 1999;177(2):231-5.

Kampirapap K, Singtham N, Klatser PR, Wiriawipart S. DNA amplification for detection of leprosy and assessment of efficacy of leprosy chemotherapy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1998;66(1):16-21.

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*. *Clin Exp Dermatol.* 2003;28(4):420-4.

Kerr-Pontes LR, Montenegro AC, Barreto ML, Werneck GL, Feldmeier H. Inequality and leprosy in Northeast Brazil: an ecological study. *Int J Epidemiol.* 2004;33(2):262-9.

Klatser PR, van Beers S, Madjid B, Day R, de Wit MY. Detection of *Mycobacterium leprae* nasal carriers in populations for which leprosy is endemic. *J Clin Microbiol.* 1993;31(11):2947-51.

Leiker DL, McDougall AC. *Guia técnico baciloscopia da hanseníase* 2a. ed. Würzburg: DAHW, 1987.

Limalde S, Opromolla DV. First results on the treatment of leprosy with rifamycin SV. *Chemotherapy.* 1963;10:668-78.

Linder K, Zia M, Kern WV, Pfau RK, Wagner D. Relapses vs. reactions in multibacillary leprosy: proposal of new relapse criteria. *Trop Med Int Health.* 2008;13(3):295-309.

Lockwood DN, Reid AJ. The diagnosis of leprosy is delayed in the United Kingdom. *QJM.* 2001;94(4):207-12.

Lockwood DN, Suneetha S. Leprosy: too complex a disease for a simple elimination paradigm. *Bull World Health Organ.* 2005;83(3):230-5.

Martins AC, Miranda A, Oliveira ML, Bühner-Sékula S, Martinez A. Nasal mucosa study of leprosy contacts with positive serology for the phenolic glycolipid 1 antigen. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2010;76(5):579-87.

Matsuoka M, Kashiwabara Y, Namisato M. A *Mycobacterium leprae* isolate resistant to dapsone, rifampin, ofloxacin and sparfloxacin. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 2000; 68(4):452-5.

Meima A, Smith WC, van Oortmarssen GJ, Richardus JH, Habbema JD. The future incidence of leprosy: a scenario analysis. *Bull World Health Organ.* 2004;82(5):373-80.

Menezes e Silva, CHP. *Bacteriologia – um texto ilustrado.* Rio de Janeiro:Eventos; 1999.

Menzel S, Harboe M, Bergsvik H, Brennan PJ. Antibodies to a synthetic analog of phenolic glycolipid-I of *Mycobacterium leprae* in healthy household contacts of patients with leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1987;55(4):617-25.

Michalany NS, Michalany J. Histopatologia da reação de Mitsuda em adultos sadios não comunicantes de hansenianos. *Hansenol Int.* 1983;105-23.

Moet FJ, Pahan D, Schuring RP, Oskam L, Richardus JH. Physical distance, genetic relationship, age, and leprosy classification are independent risk factors for leprosy in contacts of patients with leprosy. *J Infect Dis.* 2006;193(3):346-53.

Moura RS, Calado KL, Oliveira MLW, Buhner-Sékula S. Leprosy serology using PGL-I: a systematic review. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008; 41(suppl 2):11-8.

Narain JP, Dash AP, Parnell B, Bhattacharya SK, Barua S, Bhatia R, Savioli L. Elimination of neglected tropical diseases in the South-East Asia Region of the World Health Organization. *Bull World Health Organ.* 2010;88(3):206-10.

Neves RG. *Hanseníase: Contribuição aos parâmetros de classificação* [tese professor titular]. Rio de Janeiro: Departamento de Medicina Clínica, Universidade Federal Fluminense; 1986.

Noordeen SK. The epidemiology of leprosy. In: Hastings RC, editor. *Leprosy*. 2nd ed. New York: Churchill Livingstone; 1994. p. 29-45.

Oliveira MLW. *Cura da hanseníase: magnitude das recidivas na Brasil, estudo de coortes de diferentes esquemas terapêuticos e fatores de risco*. [Tese]. Faculdade de Medicina: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1996.

Opromolla DVA. Terapêutica da hanseníase. *Medicina Ribeirão Preto.* 1997;30:345-50.

Opromolla DVA. A questão das 12 doses da poliquimioterapia para a hanseníase [editorial]. *Hansenol Int.* 1999,24(2):97-99.

Opromolla DVA, editor. *Noções de Hansenologia*. Bauru: Centro de Estudos Reynaldo Quagliato; 2000.

Opromolla DVA. O estigma [editorial]. *Hansenol Int.* 2002;27(1):1-2.

Opromolla DVA, Ura S. Manutenção da endemia hansenica. *Hansenol Int.* 2003;28(1):85-88.

Oskam L, Slim E, Bühner-Sékula S. Serology: recent developments, strengths, limitations and prospects: a state of the art overview. *Lepr Rev.* 2003;74(3):196-205.

OPS/OMS. Organização Panamericana de Saúde/Organização Mundial de Saúde. *Hanseníase Hoje* - Boletim Eliminação da Hanseníase das Américas. n^o 6, novembro de 1998.

Pattyn SR, Ursi D, Ieven M, Grillone S, Raes V. Detection of *Mycobacterium leprae* by the polymerase chain reaction in nasal swabs of leprosy patients and their contacts. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1993;61(3):389-93.

Penna G; Pinto LF; Soranz D; Glatt R. High incidence of diseases endemic to the Amazon region of Brazil, 2001-2006. *Emerg Infect Dis.* 2009;15(4):626-32.

Penna ML, Temporão JG, Grossi MA, Penna GO. Leprosy control: knowledge shall not be neglected. *J Epidemiol Community Health.* 2011;65(6):473-4.

Pettit JH, Rees RJ. Sulphone resistance in leprosy: an experimental and clinical study. *Lancet.* 1964;2(7361):673-4.

Pfaltzgraff RE, Ramu G. Clinical Leprosy. In: Hastings RC, editor. *Leprosy.* 2nd ed. New York: Churchill Livingstone; 1994. p. 237-87.

Pinto Neto JM, Villa TCS. Características epidemiológicas dos comunicantes de hanseníase que desenvolveram a doença, notificados no Centro de Saúde de Fernandópolis (1993 a 1997). *Hansenol Int.* 1999;24(2):129-136.

Plikaytis BB, Gelber RH, Shinnick TM. Rapid and sensitive detection of *Mycobacterium leprae* using a nested-primer gene amplification assay. *J Clin Microbiol.* 1990;28(9):1913-7.

Queiroz JW, Dias GH, Nobre ML, De Sousa Dias MC, Araújo SF, Barbosa JD, Bezerra da Trindade-Neto P, Blackwell JM, Jeronimo SM. Geographic information systems and applied spatial statistics are efficient tools to study Hansen's disease (leprosy) and to determine areas of greater risk of disease. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;82(2):306-14.

Rabello FE. Clinical aspects: The polar concept. In: Latapi F, Saúl A, Rodríguez O, Browne SG. *Leprosy. Proceedings of the XI International Leprosy Congress.* Amsterdam: Excerpta Médica; 1978. p. 63-7.

Racine R, Winslow GM. IgM in microbial infections: taken for granted? *Immunol Lett.* 2009 August 15; 125(2): 79–85.

Ramu G, Desikan KV. A follow up study of borderline tuberculoid leprosy under sulphone monotherapy. *Indian J Lepr.* 1988;60(1):26-33.

Rees RJW, Pearson JMH, Waters MFR. Experimental and clinical studies on rifampicin on treatment of leprosy. *Br Med J.* 1970;1:89-92.

Rees RJW, Young DB. The microbiology of leprosy. In: Hastings RC, editor. *Leprosy.* 2nd ed. New York: Churchill Livingstone; 1994. p. 49-83.

Richardus JH, Habbema JD. The impact of leprosy control on the transmission of *M. leprae*: is elimination being attained? *Lepr Rev.* 2007;78(4):330-7.

Ridley DS. Histological classification and the immunological spectrum of leprosy. *Bull World Health Organ.* 1974;51(5):451-65.

Ridley DS. *La biopsia de piel en la lepra.* 2a ed. Suíça: CIBA-GEIGY; 1987.

Rinke de Wit TF, Bekelie S, Osland A, Wieles B, Janson AA, Thole JE. The *Mycobacterium leprae* antigen 85 complex gene family: identification of the genes for the 85A, 85C, and related MPT51 proteins. *Infect Immun.* 1993;61(9):3642-7.

Roche PW, Britton WJ, Failbus SS, Neupane KD, Theuvenet WJ. Serological monitoring of the response to chemotherapy in leprosy patients. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1993;61(1):35-43.

Rodrigues LC, Kerr-Pontes LR, Frietas MV, Barreto ML. Long lasting BCG protection against leprosy. *Vaccine.* 2007;25(39-40):6842-4.

Sales AM, Ponce de Leon A, Du"ppre NC, Hacker MA, Nery JAC, et al. Leprosy among Patient Contacts: A Multilevel Study of Risk Factors. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5(3): e1013. doi:10.1371/journal.pntd.0001013

Sansarricq H, coordination. *La Lepre.* Paris:Ellipses; 1995.

Santos AR, De Miranda AB, Sarno EN, Suffys PN, Degrave WM. Use of PCR-mediated amplification of *Mycobacterium leprae* DNA in different types of clinical samples for the diagnosis of leprosy. *J Med Microbiol.* 1993;39(4):298-304.

Santos AR, Goes Filho JT, Nery JA, Duppre NC, Gallo ME, Suffys PN, Degrave WM. Evaluation of PCR mediated DNA amplification in non-invasive biological specimens for subclinical detection of *Mycobacterium leprae*. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 1995;11(2):113-20.

Santos AR, Nery JC, Duppre NC, Gallo ME, Filho JT, Suffys PN, Degrave WM. Use of the polymerase chain reaction in the diagnosis of leprosy. *J Med Microbiol*. 1997;46(2):170-2.

Santos AS, Castro DS, Falqueto A. Fatores de risco para transmissão da hanseníase. *Rev Bras Enferm*. 2008;61(esp):738-43.

Saunderson P, Groenen G. Which physical signs help most in the diagnosis of leprosy? A proposal based on experience in the AMFES project, ALERT, Ethiopia. *Lepr Rev*. 2000;71(1):34-42.

Scollard DM, Gillis TP, Williams DL. Polymerase chain reaction assay for the detection and identification of *Mycobacterium leprae* in patients in the United States. *Am J Clin Pathol*. 1998;109(5):642-6.

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.

Sekar B, Elangeswaran N, Jayarama E, Rajendran M, Kumar SS, Vijayaraghavan R, Anandan D, Arunagiri K. Drug susceptibility of *Mycobacterium leprae*: a retrospective analysis of mouse footpad inoculation results from 1983 to 1997. *Lepr Rev*. 2002;73(3):239-44.

SES/SC. Secretaria de Estado da Saúde do Estado de Santa Catarina. Departamento de Vigilância Epidemiológica. 2010.

Sengupta U. Experience and lessons from the use of lepromin and *Mycobacterium leprae*-specific serology. *Lepr Rev.* 2000;71 Suppl:S63-6.

Setia MS, Steinmaus C, Ho CS, Rutherford GW. The role of BCG in prevention of leprosy: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2006;6(3):162-70.

Shen J, Zhou M, Xu X, Ray A, Zhang G, Yan L. A big challenge in case finding at low endemic situation: analysis on 1462 new leprosy patients detected in China in 2007. *Lepr Rev.* 2010;81(3):176-83.

Shepard CC. The experimental disease that follows the injection of human leprosy bacilli into foot-pads of mice. *J Exp Med.* 1960;112(3):445-54.

Shepard CC, McRae DH. *Mycobacterium leprae* in mice: minimal infectious dose, relationship between staining quality and infectivity, and effect of cortisone. *J Bacteriol.* 1965;89:365-72.

Silva EA, Iyer A, Ura S, Lauris JR, Naafs B, Das PK, Vilani-Moreno F. Utility of measuring serum levels of anti-PGL-I antibody, neopterin and C-reactive protein in monitoring leprosy patients during multi-drug treatment and reactions. *Trop Med Int Health.* 2007;12(12):1450-8.

Smith WC, Smith CM, Cree IA, Jadhav RS, Macdonald M, Edward VK, Oskam L, van Beers S, Klatser P. An approach to understanding the transmission of *Mycobacterium leprae* using molecular and immunological methods: results from the MILEP2 study. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 2004;72(3):269-77.

Souza CS. Hanseníase: formas clínicas e diagnóstico diferencial. *Medicina Ribeirão Preto.* 1997; 30: 325-334.

Spencer JS, Kim HJ, Wheat WH, Chatterjee D, Balagon MV, Cellona RV, Tan EV, Gelber R, Saunderson P, Duthie MS, Reece ST, Burman W, Belknap R, Mac Kenzie WR, Geluk A, Oskam L, Dockrell HM, Brennan PJ; on behalf of the IDEAL Consortium. Analysis of antibody responses to *Mycobacterium leprae* phenolic glycolipid I, lipoarabinomannan, and recombinant proteins to define disease subtype-specific antigenic profiles in leprosy. *Clin Vaccine Immunol*. 2011;18(2):260-267.

Stefani MM, Martelli CM, Gillis TP, Krahenbuhl JL; Brazilian Leprosy Study Group. In situ type 1 cytokine gene expression and mechanisms associated with early leprosy progression. *J Infect Dis*. 2003;188(7): 1024-31.

Suárez REG, Lombardi C. Estimado de prevalencia de lepra. *Hansenol Int*. 1997;22(2):31-4.

Swain JP; Mishra S; Jena S. Prevalence of leprosy among household contacts of leprosy cases in western Orissa. *Indian J Lepr*. 2004;76(1):19-29.

Talhari S, Neves RG. *Hanseníase*. 3a ed. Manaus: Tropical; 1997.

van Beers SM, Izumi S, Madjid B, Maeda Y, Day R, Klatser PR. An epidemiological study of leprosy infection by serology and polymerase chain reaction. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1994;62(1):1-9.

van Brakel W, Cross H, Declercq E, Deepak S, Lockwood D, Saunderson P, Smith WC, Batty J, Nahodilova L, Soutar D, Augustine V, Ebenso B; ILEP Technical Commission. Review of leprosy research evidence (2002-2009) and implications for current policy and practice. *Lepr Rev*. 2010; 81(3):228-75.

Varkevisser CM, Lever P, Alubo O, Burathoki K, Idawani C, Moreira TM, Patrobas P, Yulizar M. Gender and leprosy: case studies in Indonesia, Nigeria, Nepal and Brazil. *Lepr Rev.* 2009;80(1):65-76.

Waters M. Is it safe to shorten multidrug therapy for lepromatous (LL and BL) leprosy to 12 months. *Lepr Rev.* 1998;69(2):110-1.

WHO. Chemotherapy of Leprosy for Control Programmes: Report of a WHO Study Group. Geneva, 1982, 36p. WHO/Technical Report Series, 675.

WHO. *Laboratory techniques for leprosy.* Geneva: WHO; 1987.

World Health Assembly, *Elimination of leprosy: resolution of the 44th World Health Assembly.* Geneva: World Health Organization; 1991 (Resolution No. WHA 44.9).

WHO. The Leprosy Unit Division of Control of Tropical Diseases. Risk of relapse in Leprosy. WHO/CTD/LEP/94.1, 1994.

World Health Organization. Um guia para eliminar a hanseníase como problema de saúde pública. Genebra, 1^o edição, p. 61, 1995.

WHO. Multidrug Therapy Against Leprosy – Development and Implementation Over the Past 25 Years. (WHO/CDS/CPE/CEE/2004.46). 2004, WHO, Geneva.

WHO. Global Strategy for Further Reducing the Leprosy Burden and Sustaining Leprosy Control Activities (Plan Period: 2006–2010) (WHO/CDS/CPE/CEE/2005.53). 2005, WHO, Geneva.

WHO. Global leprosy situation, 2006. *Wkly Epidemiol Rec.* 2006;81(32):309-16.

WHO. Global leprosy situation, beginning of 2008. *Wkly Epidemiol Rec.* 2008;83(33):293-300.

WHO. Leprosy fact sheet (revised in February 2010). *Wkly Epidemiol Rec.* 2009;85(6):46-8.

WHO. Surveillance of drug resistance in leprosy: 2009. *Wkly Epidemiol Rec.* 2010a;85(29):281.

WHO. Global leprosy situation, 2010. *Wkly Epidemiol Rec.* 2010b;85(35):337-48.

Williams DL, Gillis TP, Booth RJ, Looker D, Watson JD. The use of a specific DNA probe and polymerase chain reaction for the detection of *Mycobacterium leprae*. *J Infect Dis.* 1990 Jul;162(1):193-200.

Williams DL, Spring L, Harris E, Roche P, Gillis TP. Dihydropteroate synthase of *Mycobacterium leprae* and dapsone resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(6):1530-7. Erratum in: *Antimicrob Agents Chemother.* 2001 Feb;45(2):647.

Woods SA, Cole ST. A rapid method for the detection of potentially viable *Mycobacterium leprae* in human biopsies: a novel application of PCR. *FEMS Microbiol Lett.* 1989;53(3):305-9.

Wu Q, Yin Y, Zhang L, Chen X, Yu Y, Li Z, Yu H, Lu C, Feng S, Li X, Huo W, Ye G. A study on a possibility of predicting early relapse in leprosy using a ND-O-BSA based ELISA. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 2002;70(1):1-8.

Zenha EM, Ferreira MA, Foss NT. Use of anti-PGL-1 antibodies to monitor therapy regimes in leprosy patients. *Braz J Med Biol Res.* 2009;42(10):968-72