



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS**

**ANA ROSA BOTELHO PONTES**

**USO DE TÉCNICA DE BIOLOGIA MOLECULAR PARA DETECÇÃO DO  
*Mycobacterium leprae*, EM COMBINAÇÃO COM A AVALIAÇÃO  
DERMATONEUROLÓGICA, NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DOS CONTATOS  
INTRADOMICILIARES DE HANSENÍASE.**

**BELÉM  
2016**



**ANA ROSA BOTELHO PONTES**

**USO DE TÉCNICA DE BIOLOGIA MOLECULAR PARA DETECÇÃO DO  
*Mycobacterium leprae*, EM COMBINAÇÃO COM A AVALIAÇÃO  
DERMATONEUROLÓGICA, NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DOS CONTATOS  
INTRADOMICILIARES DE HANSENÍASE.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Pará, Núcleo de Medicina Tropical, como requisito parcial para obtenção do Título de doutor em Doenças Tropicais, área de Patologia das Doenças Tropicais, orientado pela Profa. Dra. Edna Aoba Yassui Ishikawa.

**BELÉM  
2016**

**Dados internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**  
**Biblioteca do Instituto de Ciências da Saúde /UFPA**

---

Pontes, Ana Rosa Botêlho.

Uso de técnica de biologia molecular para detecção do *Mycobacterium leprae*, em combinação com a avaliação dermatoneurológica, no diagnóstico precoce dos contatos intradomiciliares de hanseníase/ Ana Rosa Botêlho Pontes; orientadora, Edna Aoba Yassui Ishikawa – 2016.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Núcleo de Medicina Tropical, Belém, 2016.

1. Doença. 2. Hanseníase - Diagnóstico. 3. Hanseníase – Tratamento. 4. Reação em Cadeia de Polimerase. 5. *Mycobacterium leprae*. I. Título.

CDD: 22. ed. : 616.998

---



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS

ANA ROSA BOTELHO PONTES

**USO DE TÉCNICA DE BIOLOGIA MOLECULAR PARA DETECÇÃO DO  
*Mycobacterium leprae*, EM COMBINAÇÃO COM A AVALIAÇÃO  
DERMATONEUROLÓGICA, NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DOS CONTATOS  
INTRADOMICILIARES DE HANSENÍASE.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Doenças Tropicais do  
Núcleo de Medicina Tropical/UFPA

Aprovada em:

**Banca Examinadora:**

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Edna Aoba Yassui Ishikawa  
Orientadora NMT/UFPA

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luisa Carício Martins  
Membro NMT/UFPA

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maisa Silva de Sousa  
Membro NMT/UFPA

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Marília Brasil Xavier  
Membro NMT/UFPA

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ângela Maria Ferreira  
Membro UEPA

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carla Andrea Avelar Pires  
Membro UFPA (Suplente)

À minha mãe Rosinha, que apesar de pouco estudo trabalhou e lutou incessantemente para que os filhos recebessem educação, pois acreditava que somente o estudo acarretaria uma vida melhor, sendo a principal incentivadora na minha formação.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, por ter me concedido saúde, força e sabedoria e me guiado no caminho do saber, permitindo que alcançasse mais esta vitória em minha vida.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Edna Aoba Yassui Ishikawa, minha orientadora, por quem tenho grande admiração e respeito não apenas pela sua competência profissional, mas, sobretudo, pela pessoa compreensiva e humana que é; pelos ensinamentos e pela oportunidade de me tornar uma profissional mais qualificada.

Ao meu marido João Luiz, pai e esposo exemplar, pela compreensão, dedicação, paciência, amor e companheirismo, sempre presente em todos os momentos de minha vida.

As minhas queridas filhas Natália, Raissa e Isabela, pelo incentivo, apoio, carinho e amor que sempre me deram.

A minha mãe Rosinha, mulher de fibra, corajosa, lutadora e visionária que tinha na vida um ideal: a educação dos filhos e que me repassou valores indispensáveis para o ser humano.

Aos meus amados irmãos Francisco, Fernando, Marileno, Benedito, Waldecy, Acenildo e Cibitinho (*in memoriam*) pela convivência, amor, união e amizade.

A minha irmã Ângela pelo carinho, amor e humanização com todos aqueles que necessitam de ajuda e por ter cuidado de nossa mãe enquanto finalizava esta tese.

À amiga Ana Cristina Moreira pelo apoio, dedicação e disponibilidade no decorrer deste estudo.

Às minhas sobrinhas Thais e Amanda Brilhante pelo estímulo e carinho.

Ao amigo Yago pela presteza, colaboração e parceria de conhecimento científico e que tanto me auxiliou na padronização de todas as reações de PCR sempre que requisitei.

À grande amiga Alcinéa Marinho Corrêa que por tantos anos me dedicou sua amizade e sempre participou da minha vida e de minha família.

À Prof<sup>a</sup> Doutora Márcia Bragança, pelo apoio incondicional, oportunidades profissionais e pelas demonstrações de afeto e amizade sincera.

À amiga Marlyene Gomes, enfermeira da Unidade de Saúde Paraíso dos Pássaros, pelo apoio, dedicação e parceria de conhecimento técnico no atendimento aos pacientes.

À amiga Mônica Custódia, Enfermeira da Unidade de Saúde de Jaderlândia pela oportunidade e atenção com que me acolheu durante o levantamento prévio de dados sobre os pacientes de hanseníase daquela unidade.

À Secretaria Municipal de Saúde de Belém por ter autorizado a execução dessa pesquisa em unidades de saúde sob sua jurisdição.

À Enfermeira Elisângela, pelo apoio, acolhimento e parceria no atendimento dos pacientes na UBS do Guamá.

Às Enfermeiras Luanda, Cecília e Helena (UBS Jurunas) pela colaboração e apoio durante o atendimento dos pacientes e pela sensibilidade em compartilharem o seu espaço profissional para que esta pesquisa se concretizasse.

À competente Secretária do Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais - Maria do Socorro Cardoso – pela dedicação, compromisso e disponibilidade demonstrada durante o meu percurso acadêmico no NMT.

Ao Senhor Ademir pela disponibilidade e dedicação e por providenciar, diariamente, a abertura do laboratório de biologia molecular do NMT para que eu pudesse realizar o processamento das amostras.

Às bolsistas: Priscila Cristina de Sousa e Raquel Raqueline Reis de Oliveira, pela dedicação, responsabilidade e comprometimento durante a coleta de dados deste estudo, demonstrando profissionalismo e interesse pela pesquisa, por quem tenho grande admiração e afeto.

Às bolsistas: Maria de Nazaré Oliveira Guedes e Larissa Rodrigues Dias pela presteza, dedicação e empenho durante a coleta de dados para este estudo, evidenciando maturidade profissional, responsabilidade e visibilidade para a pesquisa.

As minhas amigas do CESUPA: Marúcia, Darla, Sol, Socorro, Nazaré, Nilda, Ivonete, Regina, Jocileide, Odinéa, Patrícia, Mônica, Marlyene, Alcinéa, Conceição, Belém, Hilma, Margarete e Adelaide pela convivência, respeito, amizade e união.

À amiga Luciana Rosa pelo apoio durante a formatação deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, por aceitarem o convite para avaliação desta tese e pelas valiosas contribuições.

A todos os pacientes e seus contatos envolvidos nesta pesquisa, por me concederem a oportunidade de adquirir novos conhecimentos em prol da melhoria da qualidade de vida dos hansenianos.

Ao Núcleo de Medicina Tropical pela infraestrutura do laboratório de biologia molecular e apoio incondicional na viabilização deste trabalho.

À Universidade Federal do Pará por ter concedido esta oportunidade de me qualificar, no sentido de contribuir com o fortalecimento do ensino de graduação e pós-graduação na região amazônica.

Ao CNPq por ter proporcionado o apoio financeiro para o desenvolvimento desta pesquisa.

A todos aqueles que de forma direta ou indireta cooperaram para o planejamento, operacionalização e finalização desta pesquisa.

*“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.*

(Marthin Luther King).

## RESUMO

O propósito deste estudo foi aplicar a técnica da biologia molecular em amostra de secreção nasal de contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase, em combinação com a avaliação dermatoneurológica, na melhoria do diagnóstico precoce da hanseníase. O estudo foi realizado em unidades municipais de saúde de Belém-PA, no período de fevereiro de 2013 a abril de 2015. A amostra foi constituída de 154 contatos intradomiciliares e 58 casos índices de hanseníase, totalizando 212 sujeitos. A coleta de dados se deu por meio de ficha epidemiológica, avaliação dermatoneurológica e exame da cicatriz de BCG. Foi coletada uma amostra de secreção nasal de cada sujeito para a PCR. Nos casos índices, a PCR positiva prevaleceu na faixa etária de 40-59 anos (35,0%); na forma MB (80,0%); casos com 7 a 9 lesões de pele (35,0%) e com ausência de nervos espessados (40,0%). Todos os casos índices positivos para a PCR evidenciaram sinais e sintomas de hanseníase (34,5%) e a maioria não possuía cicatriz de BCG (65,0 %). Entre os contatos, a PCR positiva incidiu no sexo feminino (63,9 %); na faixa etária de 20 a 39 anos (44,4 %); renda familiar de um salário mínimo (47,2 %); ocupação de estudante (33,3 %) e no ensino médio completo (36,1 %). A maior evidência de positividade da PCR nos casos índices e contatos foi na forma multibacilar, respectivamente (37,2 % e 25,6 %). Comprova-se uma concordância altamente significativa entre os sinais e sintomas clínicos com a PCR na secreção nasal dos contatos multibacilares, indicando que se estes vierem a adoecer há maior probabilidade de reproduzirem a mesma forma operacional dos casos índices. O maior percentual de PCR positiva foi nos contatos com ausência de cicatriz de BCG (25,8 %). A associação entre os sinais e sintomas e a PCR indica que os contatos com PCR positivo têm 07 vezes mais chance de apresentar sinais e sintomas de hanseníase. Ao estimar o risco potencial para o desenvolvimento da hanseníase nos contatos identificou-se 22 (14,3%) em risco intermediário e 06 (3,9 0%) no alto risco. Cento e quarenta e quatro (144) contatos referiram convívio diário com o caso índice (93,5 %) e destes 36 (25,0 %) foram positivos para a PCR. Verifica-se que com a evolução do tratamento dos casos índices há redução da positividade da PCR, em ambas as formas operacionais. Na correlação entre a PCR e o grau de incapacidade dos casos índices, o grau 1 foi mais prevalente (55,0 %). A detecção do DNA do *M. leprae* na secreção nasal de contatos intradomiciliares, por PCR, em associação com a avaliação dermatoneurológica eleva a efetividade do diagnóstico precoce na hanseníase, contribuindo com o controle da doença na comunidade.

Palavras Chave: Hanseníase. *Mycobacterium leprae*. Secreção nasal. Reação em Cadeia de Polimerase. Contatos intradomiciliares.

## ABSTRACT

The purpose of this study was to apply the technique of molecular biology in nasal secretion sample from household contacts of leprosy patients, in combination with dermatological and neurological assessments, improving the early diagnosis of leprosy. The study was conducted in health municipal units of Belém-PA, from February 2013 to April 2015. The sample consisted of 154 household contacts and 58 index cases of leprosy, totaling 212 subjects. Data collection was through epidemiological record, dermatologic and neurological evaluations and BCG scar examination. A nasal secretion sample from each subject for the PCR was collected. In index cases, positive PCR was in the age group of 40-59 years (35.0%), in multibacillary (MB) form (80,0%); cases with 7 to 9 skin lesions (35.0%) and with no enlarged nerves (40.0%). All positive index PCR cases show signs and symptoms of leprosy (34.5%) and most do not have BCG scar (65.0%). Among the contacts, positive PCR prevailed in females (63.9%); in the age group 20-39 years (44.4%); family income of a minimum wage (47.2%); student occupation (33.3%) and completed high school (36.1%). The strongest evidence of positive PCR in index cases and contacts was in multibacillary, respectively (37.2% and 25.6%). Proves to be a highly significant correlation between clinical signs and symptoms with PCR in nasal secretion of multibacillary contacts, indicating that if they get sick are more likely to reproduce the same operating way of index cases. The highest percentage of positive PCR was in contact with the absence of BCG scar (25.8%). The association between the signs, symptoms and PCR indicates that contacts with positive PCR have 07 times more likely to show signs and symptoms of leprosy. In estimating the potential risk for the development of leprosy in contacts, we identified 22 (14.3%) at intermediate risk and 06 (3.9% 0) at high risk. One hundred and forty-four (144) contacts said that they have daily contact with the index case (93.5%) and of these 36 (25.0%) were positive for PCR. The treatment of index cases led to a reduction of PCR positivity in both modes of operation. The correlation between PCR and the degree of disability of the index cases, grade 1 was more prevalent (55.0%). *M. leprae* DNA detection in the nasal secretion of household contacts for PCR, in association with dermatological and neurological assessments, raises the effectiveness of early diagnosis of leprosy, contributing to the control of the disease in the community.

**Keywords:** Leprosy, *Mycobacterium leprae*, Nasal Secretion, Polymerase Chain Reaction, Household Contacts.

## LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Quadro 1	Países que notificaram mais de 1000 novos casos de hanseníase no período de 2005-2013.....	29
Figura 1	Taxa de prevalência de hanseníase no Brasil, por 10 mil habitantes, em 2010.....	30
Figura 2	Espectro clínico da hanseníase.....	32
Figura 3	Padrão de resposta na hanseníase.....	36
Quadro 2	Distribuição dos contatos registrados e examinados de casos novos de hanseníase residentes em Belém, no ano de 2012.....	45
Figura 4	Fluxograma de triagem dos contatos intradomiciliares e casos índices de hanseníase, coleta de dados clínicos e de material biológico.....	49
Figura 5	Imagem da amplificação do gene da $\beta$ -globina humana em amostra de secreção nasal de contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase e casos índice .....	51
Figura 6	Imagem da amplificação do gene do <i>M. leprae</i> em amostra de secreção nasal utilizando os iniciadores LP1 e LP2.....	52
Figura 7	Risco potencial estimado para o desenvolvimento da hanseníase em contatos intradomiciliares de hanseníase, baseado na PCR em amostra de secreção nasal, sinais e sintomas de hanseníase e cicatriz da BCG. 2015.....	62

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Associação da PCR de secreção nasal de casos índices de hanseníase, com variáveis sócioepidemiológicas. 2013-2015.....	55
Tabela 2	Associação entre a PCR em amostra de secreção nasal de contatos intradomiciliares de hanseníase e as variáveis socioeconômicas. 2013-2015.....	57
Tabela 3	Prevalência de positividade de DNA do <i>M. leprae</i> por PCR em amostra de secreção nasal e casos índices de hanseníase e seus contatos intradomiciliares, de acordo com a classificação operacional. Belém. 2013-2015.....	59
Tabela 4	Concordância entre sinais e sintomas clínicos e a positividade da PCR de contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase, com a PCR. 2013-2015.....	60
Tabela 5	Associação entre a prevalência da positividade da PCR na secreção nasal de contatos intradomiciliares com a quantidade de cicatriz vacinal. 2013-2015.....	61
Tabela 6	Fatores de risco potencial estimado para o desenvolvimento da hanseníase em contatos intradomiciliares de hanseníase, baseado na PCR em amostra de secreção nasal, sinais e sintomas de hanseníase e ausência de cicatriz da BCG. 2013-2015.....	63
Tabela 7	Associação da PCR em secreção nasal dos contatos intradomiciliares com a frequência de convívio com o caso índice, 2013-2015.....	64

Tabela 8	Correlação entre a PCR, na secreção nasal com o tempo de tratamento dos casos Índices, por classificação operacional. 2013-2015.....	65
Tabela 9	Associação entre a PCR e o grau de incapacidade dos casos índices, 2013-2015.....	66

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

a.C	Antes de Cristo
BAAR	Bacilo álcool ácido resistente
β-globina humana.	Beta-Globina Humana
BB	Bordeline bordeline
BCG	Bacillus Calmette-Guérin
BL	Borderline lepromatosa
BT	Borderline tuberculóide
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTPs	Deoxinucleotídeos
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ELISA	Ensaio imunoenzimático
HD	Hanseníase dimorfa
HI	Hanseníase indeterminada
Hab	Habitantes
HLA	Antígeno leucocitário humano (Human lymphocyte antigens)
HLA-DR	Antígeno leucocitário humano de classe II, alelo DR
HT	Hanseníase tuberculóide
HV	Hanseníase virchowiana
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular 1
IFN-γ	Interferon gama
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina de cadeia γ

IL-10	Interleucina 10		
IL-2	Interleucina 2		
IL-4	Interleucina 4		
IL-5	Interleucina 5		
KCl	Cloreto de potássio		
L	Lepromatosa		
LL	Lepromatosa- lepromatosa		
<i>M. leprae</i>	<i>Mycobacterium leprae</i>		
MB	Multibacilar		
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade (major histocompatibility complex)		
MHD	Mal de Hansen dimorfa		
MHI	Mal de Hansen indeterminada		
MHT	Mal de Hansen tuberculóide		
MHV	Mal de Hansen virchowiana		
Mm	Micrômetro		
MS	Ministério da Saúde		
NK	Células natural killer		
ng	Nanograma		
OD	Lóbulo da orelha direita		
OE	Lóbulo da orelha esquerda		
OMS	Organização Mundial da Saúde		
Pb	Pares de base		
PB	Paucibacilar		
PBS	Tampão fosfato salino		

PQT	Poliqumioterapia
PCR	Reação em cadeia mediada pela polimerase
PCR-M	PCR multiplex
PGL-1	Glicolípido – fenólico 1
Primer	s Iniciadores
RNI	Reativos intermediários do nitrogênio
rpm	Rotações por minuto
ROI	Reativos intermediários do oxigênio
Swab	Cotonete
TAE	Tampão Tris – EDTA
TCD4 +	Linfócitos
TCD8 +	Linfócitos
TGF- $\beta$	Fator transformador do crescimento-beta
Th1	Células T auxiliares - subdivisão das células T CD4+.
Th2	Células T auxiliares - subdivisão das células T CD4+
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral - alfa
TT	Tuberculóide
$\mu$ L	Microlitro
$\mu$ g	Micrograma
$\mu$ m	Micrômetro
USA	Estados Unidos da América
UV	Radiação Ultravioleta
16S rRNA	Sequências de genes de 16 <u>S</u> do RNA ribossômico

## SUMÁRIO

1.	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	21
2.	<b>OBJETIVOS.....</b>	23
2.1.	<b>Geral.....</b>	23
2.2.	<b>Específicos.....</b>	23
3.	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	25
3.1.	<b>Histórico da hanseníase.....</b>	25
3.2.	<b>Epidemiologia.....</b>	26
3.3.	<b>Transmissão.....</b>	30
3.4.	<b>Classificação da doença.....</b>	30
3.5.	<b>Tratamento.....</b>	33
3.6.	<b>Imunopatologia.....</b>	33
3.7.	<b>Estratégias de prevenção da hanseníase.....</b>	36
3.8.	<b>Diagnóstico da hanseníase.....</b>	38
3.8.1	<i>Clínico e Laboratorial.....</i>	38
3.8.2.	<i>Diagnóstico Molecular.....</i>	40
4.	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	43
4.1.	<b>Tipo de estudo e população.....</b>	43
4.2.	<b>Cenário do estudo.....</b>	43
4.3.	<b>Critérios de inclusão.....</b>	44
4.4.	<b>Critérios de exclusão.....</b>	44
4.5	<b>Registro de dados .....</b>	44
4.5.1	<i>Sócio-epidemiológicos.....</i>	44
4.5.2	<i>Dados Clínicos.....</i>	45
4.5.2.1	<i>Avaliação dermatoneurológica.....</i>	45
4.5.2.2	<i>Avaliação do grau de incapacidade .....</i>	46

4.5.2.3	Avaliação da cicatriz da vacina BCG ( <i>Bacillus Calmette-Guérin</i> ).....	46
<b>4.6</b>	<b>Coleta e processamento de material biológico.....</b>	<b>47</b>
<b>4.7</b>	<b>Extração de DNA de amostra de secreção nasal.....</b>	<b>48</b>
<b>4.8</b>	<b>Reação em cadeia da polimerase.....</b>	<b>49</b>
4.8.1	<i>Amplificação do Gene <math>\beta</math>-globina Humana.....</i>	49
4.8.2	<i>Amplificação do elemento específico repetitivo do <i>M. leprae</i> (RLEP).....</i>	50
4.8.3	<i>Eletroforese em gel de agarose.....</i>	51
<b>4.9</b>	<b>Fatores de risco.....</b>	<b>51</b>
<b>4.10</b>	<b>Aspectos éticos.....</b>	<b>52</b>
<b>4.11</b>	<b>Análise dos dados.....</b>	<b>52</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>53</b>
<b>5.1</b>	<b>Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) e variáveis ligadas aos casos índices de hanseníase e seus contatos intradomiciliares.....</b>	<b>53</b>
5.1.1	<i>Associação da PCR de casos índices de hanseníase com as variáveis sócio-epidemiológicas dos casos índices.....</i>	53
5.1.2	<i>Associação da PCR de contatos intradomiciliares de hanseníase com as variáveis sócio-econômicas (sexo, idade, renda familiar, ocupação e escolaridade).....</i>	55
5.1.3	<i>Reação em Cadeia de Polimerase e Classificação Operacional dos Casos Índices de Hanseníase.....</i>	57
5.1.4	<i>Reação em Cadeia de Polimerase e Fatores de Risco entre os contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase.....</i>	58
5.1.4.1	Concordância entre os sinais e sintomas clínicos dos contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase com a positividade da PCR.....	58
5.1.4.2	Associação entre a prevalência da positividade da PCR na secreção nasal de contatos intradomiciliares com a quantidade de cicatriz vacinal.....	59

5.1.4.3	Risco relativo entre a positividade da PCR e sinais e/ou sintomas clínicos da hanseníase nos contatos intradomiciliares.....	60
5.1.4.4	Fatores de risco potencial estimado para o desenvolvimento da hanseníase em contatos intradomiciliares de hanseníase.....	61
<b>5.2</b>	<b>Reação em Cadeia de Polimerase e variáveis ligadas aos casos índices.....</b>	<b>63</b>
5.2.1	<i>Associação da PCR com a frequência de Convívio com o Caso Índice.....</i>	63
5.2.2	<i>Correlação entre PCR, Tempo de Tratamento e Grau de Incapacidade.....</i>	63
<b>6.</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>66</b>
<b>7.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>76</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>78</b>
	<b>APÊNDICE A - FICHA EPIDEMIOLÓGICA DOS CONTATOS INTRADOMICILIARES E CASOS ÍNDICES.....</b>	<b>88</b>
	<b>ANEXO A - FORMULÁRIO DE AVALIAÇÃO SIMPLIFICADA- FRENTE.....</b>	<b>90</b>
	<b>ANEXO B - TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA.....</b>	<b>92</b>
	<b>ANEXO C - PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DO DNA EM SECREÇÃO NASAL.....</b>	<b>94</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica, causada pelo bacilo *Mycobacterium leprae* (*M.leprae*), que afeta predominantemente a pele, nervos periféricos e membranas mucosas, apesar da redução de sua prevalência no mundo, ainda é considerada uma das endemias de prioridade pela Organização Mundial da Saúde (OMS) por causar incapacidades e deformidades que marginalizam e interrompem a capacidade produtiva de milhares de pacientes.

Com a introdução da poliquimioterapia (PQT) recomendada pela OMS, em 1982, houve um declínio na prevalência mundial da hanseníase (OMS, 1989), entretanto, as regiões das Américas e Sudeste da Ásia estão entre àquelas com maior prevalência global da doença. Dentre os países com maior detecção de novos casos da hanseníase no ano de 2012, se encontra o Brasil, ocupando o segundo lugar e considerado como área endêmica da doença (OMS, 2013).

Apesar da redução do coeficiente de hanseníase no Pará, o Estado ainda apresenta um padrão de alta endemicidade e ocupa a quarta maior prevalência da hanseníase no Brasil e, a capital, Belém apresentou 27,3 casos/100 mil habitantes em 2010, avaliada como padrão de alta endemicidade (BRASIL, 2011a).

A hanseníase, em particular a forma multibacilar, é altamente contagiosa e infecciosa, devendo propagar-se para diversos contatos de pacientes antes mesmo do diagnóstico clínico. Os contatos dos multibacilares que moram na mesma casa do paciente apresentam maior risco de contrair a infecção quando comparados aos contatos residentes nas áreas vizinhas (BAKKER et al, 2004; CASTRO et al, 2008).

A detecção precoce de pacientes com hanseníase é prioridade para alcançar o controle e a eliminação da doença e o Ministério da Saúde (MS) preconiza a vigilância dos contatos dos portadores de hanseníase por meio da avaliação clínica, vacinação com BCG e ações educativas. Todavia, essas estratégias não atingem o percentual recomendado pelo MS em realizar exame de 80% dos contatos da doença e o acompanhamento dos contatos por vários anos, tendo em vista o longo período de incubação da hanseníase, tornando-se mais difícil o controle da doença. Assim, a identificação de fatores de risco entre contatos infectados para desenvolver a doença seria de grande valia na eliminação dessa doença.

É extremamente importante determinar a função da fonte subclínica na transmissibilidade da infecção na população, especialmente no momento de redução

da prevalência da doença e nessa fase de eliminação aplicar ferramentas laboratoriais que possibilitem detectar a infecção pelo *M. leprae* em sua fase inicial e que sirvam para o monitoramento dos contatos no risco de desenvolver a doença (CHO; BRENNAN, 1999). Assim, a descoberta de testes capazes de diagnosticar infecção precoce em regiões endêmicas, com o intuito de identificar grupos de risco, monitorar a doença e realizar medidas preventivas ou profiláticas, constitui um dos maiores desafios na pesquisa da hanseníase (BRENNAN, 2000).

Desde a década de noventa, estudo usando a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) em amostras de secreção nasal exibe evidências de que a maioria dos pacientes multibacilares carrega o *M. leprae* em suas narinas e que o transporte do bacilo ocorre entre pessoas saudáveis vivendo em áreas endêmicas de hanseníase. Esse carregamento deve causar impacto no controle da hanseníase, devendo ser um importante fenômeno do ponto de vista da saúde pública (DE WIT et al, 1993).

Deste modo, o presente estudo teve como intuito detectar precocemente portadores de hanseníase usando a técnica da PCR em secreção nasal de contatos intradomiciliares de casos de hanseníase em combinação com a avaliação dermatoneurológica, entre os contatos atendidos nas Unidades Básicas de Saúde do Paraíso dos Pássaros, Guamá e Jurunas, localizadas no município de Belém, no Estado do Pará, com fins de possibilitar um diagnóstico precoce da doença, assim como a identificação dos contatos com alto risco de desenvolver a hanseníase.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral

- Aplicar a técnica da biologia molecular em amostra de secreção nasal de contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase, em combinação com a avaliação dermatoneurológica, na melhoria do diagnóstico precoce da hanseníase.

### 2.2 Específicos

- Determinar a associação da positividade da PCR em amostra de secreção nasal dos casos índices de hanseníase com dados sócio-epidemiológicos;

- Conferir a relação entre a positividade da PCR em amostra de secreção nasal dos contatos intradomiciliares de hanseníase e as variáveis sócio-econômicas;

- Determinar a prevalência do DNA do *M. leprae*, por PCR, na secreção nasal de casos índices de hanseníase e seus contatos intradomiciliares;

- Avaliar a concordância entre sinais e sintomas clínicos de contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase, com o resultado positivo da PCR;

- Verificar a associação entre a prevalência da positividade da PCR de contatos intradomiciliares e a quantidade de cicatriz da vacina de BCG;

- Detectar os contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase com fatores de risco de desenvolver a doença;

- Identificar casos de infecção subclínica pela PCR, em combinação com a avaliação dermatoneurológica, entre os contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase;

- Verificar a relação da positividade da PCR dos contatos intradomiciliares com a frequência de convívio com os seus casos índices;

- Averiguar a correlação entre a positividade da PCR, com o tempo de tratamento; grau de incapacidade dos casos índices;

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Histórico da hanseníase

É uma das enfermidades mais antigas que afeta o homem, conhecida largamente por lepra, e supõe-se ser originária da Ásia, entretanto, há autores que assinalam a África como lugar de sua procedência não havendo consenso de sua verdadeira origem (BRASIL, 1989).

Os textos antigos que abordam sobre a doença, por vezes não trazem uma descrição clara e precisa de sua clínica, possibilitando conflitos com relação a sua história e evolução nas diversas regiões do mundo no decorrer dos anos (EIDT, 2004).

O ingresso da hanseníase nas Américas, provavelmente, se deu pelos colonizadores, por volta dos séculos XVI e XVII, haja vista a inexistência de vestígios da doença entre as tribos indígenas do Novo Mundo. No Brasil os primeiros documentos de registro da doença são dos primórdios do século XVII em que mencionam a assistência aos doentes, no Rio de Janeiro, em 1696, pelo governador Artur de Sá e Menezes (OPROMOLLA, 2000).

Em 1926, em sessões na Academia Brasileira de Medicina, Eduardo Rabello defendeu o isolamento domiciliar dos pacientes, como medida de controle principal contra a doença, contudo essa medida não se mostrou efetiva no controle da endemia e contribuiu para aumentar o estigma e o pavor relacionados à doença (QUEIROZ et al, 1997).

Com a criação da Campanha Nacional do Controle da Hanseníase após o ano 30 observa-se uma nova abordagem deste problema que culminou com o aparecimento da sulfona, um antibiótico sem muitos efeitos colaterais e que proporcionaria a cura da doença. O sistema de confinamento passou a ser misto, com a presença de colônias, hospitais no centro e moradias no entorno. A partir da década de 80 os asilos foram desativados como parte da política de saúde do Brasil, sendo os pacientes reintegrados ao seio familiar (QUEIROZ et al, 1997).

Posteriormente, houve a propagação da doença para outros estados do Brasil, com casos identificados na Bahia e no Pará, ocasião em que as autoridades da época pediram providências a Portugal, sem terem sido, contudo, correspondidas (BRASIL, 1989).

A doença atingiu a Amazônia Brasileira pelo estado do Pará, no início do século XIX, e o restante do país com a intensa migração para os diversos estados, incluindo as regiões Sul e Sudeste (ANGELUCCI et al., 2007).

Dados oficiais apontam que a hanseníase é um problema histórico no Pará. A intensa migração populacional para o norte do Brasil, intensificada após a década de 1970 com a implantação de grandes projetos desenvolvidos na região, tem sido apontada como um fator complicador para o controle da hanseníase (BRASIL, 2011b).

O Pará mantém a tendência da doença e contribui significativamente para o índice brasileiro. Nesse estado, a endemia está distribuída de forma heterogênea, com maior concentração nas regiões sul, sudeste, em alguns municípios localizados ao oeste e nordeste do Estado e na região metropolitana de Belém (BRASIL, 2011b). Uma explicação para a maior endemicidade dessas regiões é o elevado fluxo migratório.

O município de Belém convive com a hanseníase desde o século XVIII e destaca-se o Leprosário do Tucunduba como o primeiro hospital de internamento compulsório no Estado do Pará, localizado em um bairro periférico ao norte da cidade, hoje localizado no bairro do Guamá (FERREIRA et. al., 2009).

No Pará, particularmente na região metropolitana de Belém, segundo informações publicadas no Diário do Pará em 2007, o Estado manteve a média dos últimos 5 anos, cerca de 7.000 novos casos de hanseníase detectados em todo o Estado (SILVA, 2009).

### **3.2 Epidemiologia**

A estratégia global de controle da hanseníase, baseada na detecção precoce da doença, e o tratamento, usando a terapia multidrogas, tem tido efeito dramático no número de pacientes hansenianos registrados para o tratamento, mas não tem demonstrado efeito na interrupção da transmissão (SMITH et al, 2004).

A eliminação da hanseníase é definida quanto uma redução na prevalência de pacientes de hanseníase em terapia antibacteriana para menos de 1 caso por 10.000 habitantes; o que indica que a doença não está tão longe de ser considerada um problema de saúde pública (OMS, 2006). Embora a prevalência da hanseníase

tenha declinado desde o início da terapia multidroga, a incidência não tem acompanhado esse declínio durante o mesmo período (CASTRO et al, 2008).

Baseado nos dados oficiais dos Ministérios da Saúde dos países endêmicos, a detecção anual global da hanseníase mostrou uma tendência no declínio desde o ano de 2001. Durante o ano de 2012 foi registrado um total global de 232.857 novos casos, havendo um aumento de 6.231 em relação ao ano de 2011 (OMS, 2013). Já no ano de 2013 registrou-se 215.656 casos novos no mundo, com redução de 17.201 casos novos. Quatorze países notificou mais de 1000 novos casos de hanseníase durante o período de 2005-2013 e três países são responsáveis por 81% dos casos novos globais da doença no ano de 2013 são eles: Índia, Brasil e Indonésia, considerados os mais endêmicos de hanseníase (Quadro 1). A prevalência registrada mundialmente no final do primeiro trimestre de 2014 foi de 180.618 casos (OMS, 2014).

O MS, em agosto de 2011 assumiu o compromisso de eliminar a hanseníase como problema de saúde pública, em nível nacional até 2015, com o intuito de se ter menos de 1 caso por 10.000 habitantes. A estratégia para alcance dessa meta baseia-se, essencialmente, no aumento da detecção precoce e na cura dos casos diagnosticados. Em 2010, o Brasil apresentou 1,56 casos para cada 10.000 habitantes, correspondendo a 29.761 casos em tratamento. Neste mesmo ano, o Brasil detectou 34.894 casos novos de hanseníase, correspondendo a um coeficiente de detecção geral de 18,2/100.000 habitantes (BRASIL, 2013).

O Brasil registrou uma redução de novos casos detectados de 38.410 em 2005 para 33.303 em 2012. Desses, 20.990 são casos de hanseníase multibacilares (MB) e 12.313 de casos paucibacilares (PB). Embora o Brasil tenha apresentado redução significativa de sua prevalência de 16,4 por 10.000/ hab em 1985 para 1,56 casos por 10.000/hab em 2010 não conseguiu atingir a meta de menos de um caso a cada 10.000 habitantes por município, permanecendo em segundo lugar em número de caso, perdendo somente para a Índia, sendo atestado como área endêmica (OMS, 2013).

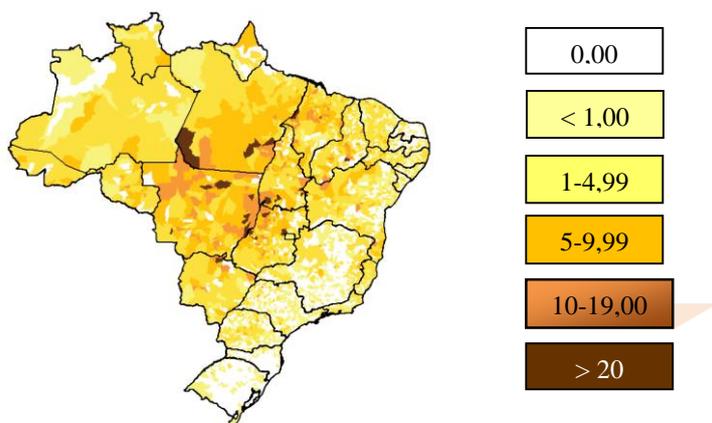
Quadro 1– Países que notificaram mais de 1000 novos casos de hanseníase no período de 2005-2013.

Países	Nº de novos casos detectados								
	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Bangladesh	7 882	6 280	5 357	5 249	5 239	3 848	3 970	3 688	3 141
Brasil	38 410	44 436	39 125	38 914	37 610	34 894	33 955	33 303	31 044
Costa do Ivore	NR	976	1 204	998	884	NR	770	1 030	1 169
República Democrá Ticado	10 369	8 257	8 820	6 114	5 062	5 049	3 949	3 607	3 744
Congo									
Etiópia	4 698	4 092	4 187	4 170	4 417	4 430	NR	3 776	4 374
Índia	1169 709	139 252	137 685	134 184	133 717	126 800	127 295	134 752	126 913
Indonésia	19 695	17 682	17 723	17 441	17 260	17 012	20 023	18 994	16 856
Madagascar	2 709	1 536	1 644	1 763	1 572	1 520	1 577	1 474	1 569
Myanmar	3 571	3 721	3 637	3 365	3 147	2 936	3 082	3 013	2 950
Nepal	6 150	4 235	4 436	4 708	4 394	3 118	3 184	3 492	3 225
Nigéria	5 024	3 544	4 665	4 899	4 219	3 913	3 623	3 805	3 385
Filipinas	3 130	2 517	2 514	2 373	1 795	2 041	1 818	2 150	1 729
Sri Lanka	1 924	1 993	2 024	1 979	1 875	2 027	2 178	2 191	1 990
República Unida de Tanzânia	4 237	3 450	3 105	3 276	2 654	2 349	2 288	2 528	2 005
Total Global	299 036	265 661	258 133	249 007	244 796	228 474	226 626	232 857	215 656

Fonte: OMS, 2014

As regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste são avaliadas as mais endêmicas, com áreas de importante manutenção da transmissão da doença (BRASIL, 2013). Cinco estados apresentam coeficiente de prevalência acima de 03 casos por 10.000/ habitantes são eles: Mato Grosso, Tocantins, Maranhão, Pará e Rondônia. Três estados registraram a menor taxa de prevalência quais sejam: Rio Grande Sul com 0,12/10 mil habitantes; Santa Catarina - 0,29/10 mil e São Paulo - 0,34/10 mil (BRASIL, 2013). A Figura 1 mostra a taxa de prevalência de hanseníase no Brasil por 10 mil habitantes.

Figura 1 - Taxa de prevalência de hanseníase no Brasil, por 10 mil habitantes, em 2010.



Fonte: Sinan/SVS-MS/2010

O Estado do Pará registrou importante redução do coeficiente de prevalência da hanseníase, contudo ainda se encontra com 4,2 casos/10 mil habitantes, tornando-se necessária a intensificação das ações para eliminação da doença por apresentar padrão de alta endemicidade, conforme os parâmetros de prevalência do MS. As áreas mais endêmicas encontram-se concentradas em municípios localizados a leste na divisa com o Maranhão e a sudoeste na divisa com o Mato Grosso. Acrescenta-se ainda que o Estado do Pará tem a maior concentração dos municípios com prioridade para a vigilância em hanseníase e considerado de grande importância epidemiológica para o alcance da meta de eliminação da doença (BRASIL, 2011b).

A seguir, apresentam-se os parâmetros do monitoramento da hanseníase preconizados pelo MS por 10.000 habitantes (Brasil, 2014).

Hiperendêmico:  $\geq 20,0/10.000$  hab.

Muito alto: 10,0 a 19,9/10.000 hab.

Alto: 5,0 a 9,9/10.000 hab.

Médio: 1,0 a 4,9/10.000 hab.

Baixo:  $<1,0/10.000$  hab.

### 3.3 Transmissão

Considera-se o homem como a única fonte de infecção da hanseníase. O contágio dá-se através do contato direto com uma pessoa doente, não tratada que o elimina para o meio exterior o bacilo de Hansen, contagiando pessoas suscetíveis. Dentre as pessoas que adoecem estão os paucibacilares (PB) que apresentam resistência ao bacilo e abrigam uma pequena quantidade deles no organismo, insuficiente para infectar outras pessoas. Um quantitativo menor de pessoas suscetíveis ao bacilo, que se multiplica no organismo e o elimina para o exterior, podendo infectar outras pessoas, são os multibacilares (MB), avaliados como a fonte de infecção e sustentação da cadeia epidemiológica da doença (OMS, 2002).

Existem diversas teorias sobre a forma de transmissão da hanseníase e a mais aceita se dá pelas vias aéreas superiores (mucosa nasal e orofaringe) de uma pessoa doente, sem tratamento, que elimina o bacilo para o meio exterior infectando outras pessoas suscetíveis. Estima-se que 90% da população apresente defesa natural contra o *M. leprae* e sabe-se que a susceptibilidade ao bacilo tem influência genética. Considera-se que as vias aéreas superiores são a principal via de entrada e saída do bacilo do organismo e para que ocorra a transmissão é necessário que haja contato direto e prolongado com o doente não tratado, sendo muito frequente no convívio domiciliar e assim, o domicílio é apontado como importante espaço de transmissão da doença (BRASIL, 2008).

Aventa-se, também, a possibilidade de um indivíduo doente e não tratado eliminar bacilos por meio das lesões de pele, podendo infectar indivíduos sadios que não estejam com a pele íntegra (BRASIL, 2010).

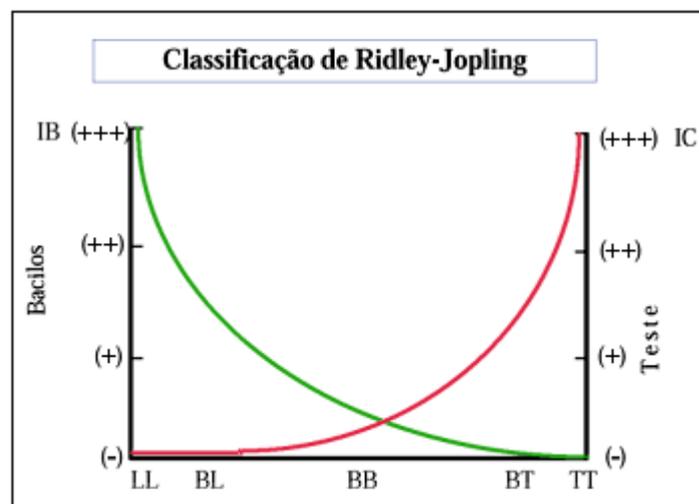
### 3.4 Classificação da doença

O espectro de formas clínicas observado na hanseníase depende da interação do bacilo com a resposta imune do hospedeiro, representando-se clinicamente por formas menos agressivas até as mais agressivas. Dentre as classificações, a mais empregada em Saúde Pública é a de Madrid, proposta em 1953, fundamentada em quatro critérios: clínico, imunológico, histológico e bacteriológico. Essa classificação considera a doença em duas formas polares imunologicamente estáveis: hanseníase tuberculóide (HT) e hanseníase virchowiana

(HV); e dois grupos imunologicamente instáveis: hanseníase indeterminada (HI) e hanseníase dimorfa (HD). (OMS; OPAS,1989). Congrega como paucibacilares as formas indeterminadas (MHI) e tuberculóide (MHT); e como multibacilares as formas dimorfa (MHD) e virchowiana (MHV) (DE MATOS et al, 2001).

A classificação com um sistema de cinco grupos que expressa a imunidade dos pacientes foi proposta por Ridley e Jopling (1966) e categoriza as formas: LL, BL, BB (lepromatoso, borderlinelepromatoso e boderline) como multibacilares e BT e TT (borderlinetuberculóide e tuberculóide) como paucibacilares; adiciona-se mais uma forma clínica inicial, HI (indeterminada), que pode evoluir para quaisquer das formas anteriores (DE MATOS et al, 2001), conforme mostra a figura 2.

Figura 2 – Espectro clínico da hanseníase.



Fonte: Goulart (2002)

A forma clínica tuberculóide (TT), com vigorosa resposta celular, poucos bacilos resulta em doença localizada e lesões limitadas. Na forma clínica lepromatosa (LL) há uma suscetibilidade ao *M. leprae* e à proliferação disseminada do bacilo, resultando em lesões de pele difusas e doença grave, vinculada a uma potente resposta humoral. Nas formas borderlinetuberculóide (BT), bordeline-bordeline (BB) e bordelinelepromatoso (BL) ocorrem o aumento da carga bacilar e dos níveis de anticorpos, com uma redução progressiva da resposta imunológica celular, acompanhada por lesões de pele e nervos mais numerosos (GOULART et al, 2002).

Em 1971, Ridley instituiu a classificação pelo índice baciloscópico, medindo a densidade dos bacilos vivos e mortos nos esfregaços de lesões cutâneas, corados pelo método de Ziehl-Neelsen e tomando como base o número de bacilos vivos em um campo microscópico médio, através da objetiva de imersão em óleo, utilizando, para isso, uma escala logaritma de sua autoria (OMS, 2002).

A baciloscopia de área suspeita deve ser realizada na presença de sinais e/ou sintomas dermatoneurológicos compatíveis com a hanseníase. A coleta do material deve ser feita de quatro sítios: lóbulo da orelha direita (OD), lóbulo da orelha esquerda (OE), cotovelo direito e lesão. Na inexistência de lesões ativas visíveis, coleta-se do lóbulo da orelha direita (OD), lóbulo da orelha esquerda (OE) e dos cotovelos direito e esquerdo. Este exame classifica os pacientes em multibacilares e paucibacilares, e, portanto, é de grande importância para o tratamento da doença (BRASIL, 2010a). Assim, são considerados multibacilares as formas clínicas dimorfa e virchowiana, com índice baciloscópico diferente de zero em qualquer um dos sítios de coleta e paucibacilares, as formas clínicas indeterminada e tuberculóide, com índice baciloscópico igual à zero em qualquer dos sítios de coleta de material (OMS; OPAS, 1989).

A baciloscopia de pele (esfregaço intradérmico), sempre que disponível, deve ser utilizada como exame complementar para a classificação dos casos como PB ou MB. A baciloscopia positiva classifica o caso como MB, independentemente do número de lesões e o resultado negativo da baciloscopia não exclui o diagnóstico de hanseníase (BRASIL, 2010).

Objetivando uma praticidade no tratamento dos pacientes com a poliquimioterapia, a OMS recomendou em 1982, a classificação que se baseia nas lesões apresentadas pelo paciente. Os pacientes com baciloscopia positiva, com 6 ou mais lesões serão considerados multibacilares (hanseníase dimorfa e hanseníase virchowiana) e pacientes com baciloscopia negativa e número de lesões menor que 6 serão classificados como paucibacilares (hanseníase indeterminada e hanseníase tuberculóide) (OMS, 1982).

Visando a definição do esquema de tratamento com a poliquimioterapia, o Ministério da Saúde do Brasil adotou a classificação operacional, proposta pela OMS e baseada no número de lesões cutâneas, conforme os critérios a seguir especificados: paucibacilar (PB) - casos com até cinco lesões de pele e multibacilar (MB) - casos com mais de cinco lesões de pele.

### 3.5 Tratamento

O *M. leprae* foi descoberto em 1873, por Gerhard Henrik Armauer Hansen, mas um tratamento mais específico para a hanseníase somente fora introduzido em 1940, com dapsona e seus derivados, mas, com o aparecimento de cepas resistentes à dapsona foi desenvolvido, em 1991, um regime de tratamento mais efetivo, a poliquimioterapia, usando um coquetel de drogas combinadas: rifampicina, clofazimina e dapsona, para pacientes multibacilares (MBs) e rifampicina e dapsona para pacientes paucibacilares (PBs), impedindo a resistência e encurtando o período de tratamento. A rifampicina, por ser considerada a mais relevante entre as drogas combinadas, está incluída no tratamento de ambos os tipos da doença (OMS, 2002).

No Brasil, o tratamento da hanseníase é feito com a poliquimioterapia (PQT), seguindo os esquemas terapêuticos padronizados pelo Ministério da Saúde, assim para os pacientes adultos e paucibacilares o esquema utilizado é composto por rifampicina de 600 mg, em dose mensal, supervisionada e dapsona 100mg, com dose mensal supervisionada e dose diária de 100mg autoadministrada, com duração de 6 meses. Para os pacientes adultos multibacilares, o esquema terapêutico é composto por rifampicina, em dose mensal de 600mg, com administração supervisionada, dapsona em dose mensal de 100mg supervisionada e uma dose diária de 100mg, autoadministrada e clofazimina, com dose mensal de 300mg com administração supervisionada e uma dose diária de 50mg autoadministrada, com duração de 12 meses (BRASIL, 2014).

O tratamento é ambulatorial e está disponível nas unidades públicas de saúde definidas pelos municípios; trata-se de uma doença que tem cura, haja vista que a poliquimioterapia mata o bacilo e evita a evolução da doença, interrompendo a cadeia epidemiológica de transmissão logo no início do tratamento (BRASIL, 2014).

### 3.6 Imunopatologia

A hanseníase possui um período longo de incubação, em média de 2 a 7 anos, contudo há menções na literatura de períodos mais curtos, de 7 meses, assim como, mais longos, de 10 anos. O *M. leprae*, principal agente etiológico é um bacilo álcool-ácido resistente em forma de bastonete; parasita intracelular obrigatório que

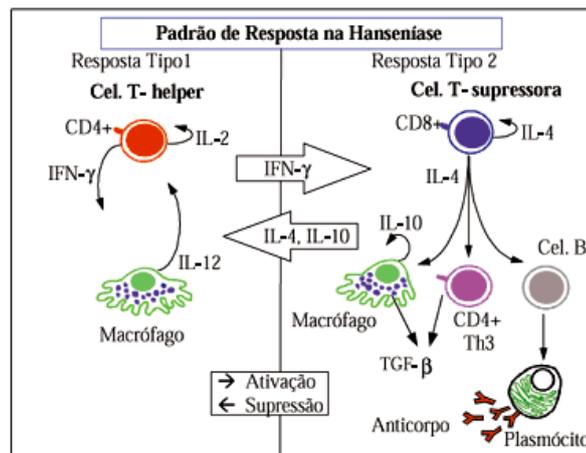
infecta os nervos periféricos, especificamente, as células de Schwann (BRASIL, 2014).

Na ocorrência de infecção pelo *M. leprae* a resposta imunológica específica depende de fatores relacionados ao bacilo e ao hospedeiro. Supõe-se que a resposta imunológica resistente e suscetível seja regularizada por duas subpopulações de células T: Th1 e Th2. As células Th1 produzem a Interleucina 2 (IL-2) e interferon $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) e aumentam a imunidade mediada pelas células, resultando em doença mais branda ou a cura. O IFN- $\gamma$  aumenta também a expressão de HLA-DR (antígeno leucocitário humano de classe II, alelo DR) e molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), que facilitam a interação célula acessória – célula T. A IL-2 aumenta a produção de IFN- $\gamma$ . As células Th2 produzem Interleucina 4 (IL-4), Interleucina 5 (IL-5) e Interleucina 10 (IL-10) aumentam a resposta humoral, resultando em infecção progressiva. Essas citocinas devem contribuir para a ineficácia da resposta imunológica e a falha de ativação do macrófago nesses indivíduos (GOULART et al, 2002).

No desencadeamento da resposta imunológica, logo após a entrada da micobactéria nos macrófagos, há indução pelo próprio bacilo da produção de fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e fator transformador do crescimento-beta (TGF- $\beta$ ) pelos macrófagos infectados. O TNF- $\alpha$  potencializa o efeito Th1, ativando macrófagos para a destruição intracelular do agente infeccioso, por outro lado TGF- $\beta$  desativa macrófagos, eleva a proliferação bacilar e contrapõe os efeitos de TNF- $\alpha$ , com predomínio de resposta Th2. Na hanseníase é possível que haja dualidade e fatores outros que determinam a definição da predominância de resposta e, conseqüentemente, a forma clínica (YAMAMURA et al, 1991).

Haverá predominância de mecanismos de defesa ou disseminação da doença, expressos clinicamente pelas formas tuberculóide (TT) ou lepromatosa (LL), dependendo da subpopulação de linfócitos T e da atividade macrofágica. A presença de citocinas TNF- $\alpha$  e IFN $\gamma$  e os mediadores de oxidação, como reativos intermediários do oxigênio (ROI) e do nitrogênio (RNI) são elementos essenciais para destruição bacilar no interior do macrófago (FOSS, 1997; GOULART et al, 2002). Na figura 3 observam-se os padrões de respostas na hanseníase.

Figura 3 – Padrão de resposta na hanseníase.



Fonte: Goulart (2002).

Após a fagocitose do bacilo poderá ocorrer sua destruição ou multiplicação que pode ser determinado por mecanismos imunológicos que envolvem a apresentação do complexo principal de histocompatibilidade (major histocompatibility complex – MHC) e pelo antígeno leucocitário humano (Human lymphocyte antigens - HLA), ambos herdados geneticamente. Os complexos HLA DR (Human lymphocyte antigens – loci HLA-DR) estariam associados à resistência à doença e HLA DQ (Human lymphocyte antigens – loci HLA-DQ) à susceptibilidade (DE VRIES, 1991). Macrófagos procedentes de doentes da forma grave da hanseníase possuem deficiência específica da capacidade de destruir o *M. leprae*, quando comparados com os procedentes de doentes da forma clínica benigna da hanseníase e indivíduos não doentes (GODAL et al, 1973).

A resposta imunológica celular do hospedeiro determina as manifestações clínicas da hanseníase. Deste modo, para o *M. leprae* há um amplo espectro de resposta no hospedeiro, evidenciado nos achados clínicos e histológicos. A forma lepromatosa é manifestada pelo paciente quando a resposta imunológica celular não é predominante, com proliferação bacteriana, levando a uma infecção cutânea disseminada. Os estudos assinalam que o baixo número de células T nas lesões de hanseníase na forma lepromatosa é na maioria exclusivamente de células T CD8+, com poucas células T CD4+ presentes. Ao contrário, nos pacientes com forma tuberculóide, há resposta imunológica celular, com predominância de Células T CD4+ nas lesões, colaborando para a defesa do hospedeiro, limitando a proliferação

de micobactérias e conduzindo à forma branda da doença ou à cura (GOULART et al, 2002).

### **3.7 Estratégias de prevenção da hanseníase**

A detecção precoce da hanseníase constitui-se em uma estratégia para interrupção da transmissão do *M. leprae* e previne a ocorrência de incapacidades físicas, uma consequência severa do diagnóstico tardio (RODRIGUES; LOCKWOOD, 2011).

De acordo com Brasil (2014) todas as unidades de saúde que prestam assistência à população devem se empenhar na busca de casos de hanseníase a qual deverá ser feita por meio da detecção ativa e passiva, utilizando-se as seguintes ações:

- Busca sistemática de doentes;
- Investigação epidemiológica de contatos;
- Exame de coletividade, com inquéritos e campanhas e das pessoas que demandam espontaneamente os serviços gerais de unidade de saúde, por outros motivos que não sinais e sintomas dermatológicos ou neurológicos;
- Exame de grupos específicos, em prisões, quartéis, escolas, e de pessoas que se submetem a exames periódicos, entre outros;
- Mobilização da comunidade adstrita à unidade, principalmente em áreas de alta magnitude da doença, para que as pessoas demandem os serviços de saúde sempre que apresentarem sinais e sintomas suspeitos.

Em todas essas situações, deve-se realizar o exame dermatoneurológico para o diagnóstico de hanseníase e para a sua efetividade requer condições importantes tais como: Conhecimento dos sinais e sintomas da doença pela população e suas condições de tratamento e cura; Garantia do acesso da população aos serviços e profissionais de saúde treinados e capacitados.

Atualmente, a vigilância epidemiológica da hanseníase no Brasil utiliza essencialmente o sistema universal e passivo, baseado na notificação dos casos confirmados, entretanto, é necessário todo empenho e adoção da vigilância de casos comunicantes. Uma das estratégias de controle da hanseníase é a investigação epidemiológica dos contatos intradomiciliares, a qual tem por objetivo a descoberta de casos entre esses (BRASIL, 2008).

A vigilância dos contatos é prevista como estratégia pela OMS e tem por objetivo a prevenção e diagnóstico precoce da doença, rompendo a cadeia de transmissão. No Brasil foram registrados 115.442 contatos em 2011 e destes apenas uma porcentagem de 58,9% foram avaliados, a mesma situação se reflete no estado do Pará. A alta porcentagem de casos novos pode ser um importante indicativo de que a avaliação dos contatos não está sendo realizada, tal ação favorece o diagnóstico tardio e os agravos trazidos pela doença (GUIMARÃES, 2013).

A vigilância de contatos consiste na investigação de todos os contatos intradomiciliares dos casos novos detectados, envolvendo as seguintes etapas:

- Anamnese dirigida a sinais e sintomas da hanseníase;
- Exame dermatoneurológico (exame da superfície corporal e palpação de nervos);
- Checagem da presença de cicatriz de BCG;
- Repasse de orientações ao contato intradomiciliar sobre período de incubação, transmissão, e sinais e sintomas precoces da hanseníase; e sobre seu eventual aparecimento, indicando, nesses casos, a procura da unidade de saúde (BRASIL, 2014).

A rede básica de saúde pública é responsável por desenvolver as ações do Programa de Eliminação da Hanseníase, e não está conseguindo realizar a vigilância dos contatos; esta ação parece estar sendo pouco valorizada, pois o enfoque está voltado para o controle da doença e do doente, transferindo para segundo plano as ações de controle (LIMA et al, 2014).

Como a transmissão da hanseníase acontece de pessoa a pessoa, o risco de desenvolvimento da doença é cerca de 5 a 10 vezes mais alto se um membro da família já manifestou a doença. Para os contatos intradomiciliares, o risco de desenvolver a hanseníase é maior para aqueles que convivem com o doente antes de ele iniciar o tratamento (SILVA et al, 2011).

O MS recomenda para todas as unidades de saúde a programação de suas ações, considerando uma média de quatro contatos domiciliares por cada paciente infectado. Sendo assim, para cada caso diagnosticado, deve-se fazer a vigilância epidemiológica em quatro indivíduos, com o objetivo de detectar precocemente a doença, possibilitando, deste modo, medidas terapêuticas imediatas a cada caso. Tem-se o controle dos contatos intradomiciliares como um dos pilares para o controle da hanseníase, no entanto, este controle parece estar distante; favorecendo a manutenção da endemia (BRASIL, 2008).

Diante dessas afirmativas, a vigilância de comunicantes é prioritária para que se possam melhorar aspectos como detecção precoce de novos casos, bem como tratamento imediato e, principalmente, a quebra da cadeia de transmissão. Pelas normas atuais do MS, a prevenção contra hanseníase consiste no diagnóstico precoce de novos casos e na utilização da vacina BCG (LIMA et al, 2014). Intervenções adicionais precisam ser consideradas focando preferencialmente nos grupos de alto risco de contrair a infecção com o *M. leprae* e desenvolver a hanseníase clínica, tendo como exemplo de uma possível intervenção o tratamento profilático de contatos (MOET et al, 2004).

### **3.8 Diagnóstico da hanseníase**

#### *3.8.1 Clínico e Laboratorial*

O diagnóstico da hanseníase é clínico e baseado na existência de um ou de três sinais cardinais, quais sejam: placas avermelhadas ou hipopigmentadas com perda de sensibilidade, espessamento dos nervos periféricos e bacilo álcool ácido resistente (AFB) nas manchas de pele ou no material de biópsia. Na Etiópia, o uso desses três critérios obteve sensibilidade de 97% com um valor preditivo positivo de 98% para o diagnóstico da hanseníase. Em Bangladesh e Etiópia, estudos de coortes resultaram em 96% e 91% de pacientes com doença multibacilar e 86% e 76% daqueles com doença paucibacilar tinham alargamento de um ou mais nervos, respectivamente. Nas lesões de pele, a detecção do bacilo álcool ácido resistente intradérmico tem alta especificidade, mas baixa sensibilidade, em virtude de aproximadamente 70% de todos os pacientes hansenianos apresentarem manchas negativas, mas, as manchas de pele são importantes já que identificam a maioria dos pacientes infecciosos e aqueles com maiores riscos de reincidência (BRITON;LOCKWOOD, 2004).

De acordo com Brasil (2014) o diagnóstico da hanseníase é essencialmente clínico e epidemiológico, realizado por meio da análise da história e condições de vida do paciente e do exame dermatoneurológico, para identificar lesões ou áreas de pele com alteração de sensibilidade e/ou comprometimento de nervos periféricos (sensitivo, motor e/ou autonômico).

Para Cardona-Castro (2009) o exame físico não identifica os estágios iniciais da doença, quando as manifestações clínicas raramente estão presentes, sendo necessário empregar ferramentas mais sensíveis para investigar a infecção pelo *M. leprae* entre contatos intradomiciliares.

Em parte, a identificação do *M. leprae* é difícil devido à inabilidade para crescimento *in vitro*. O diagnóstico da hanseníase é baseado na detecção microscópica do bacilo-álcool-ácido resistente (BAAR) em esfregaço de tecido, em combinação com a avaliação histopatológica e clínica, porém, uma detecção confiável requer no mínimo  $10^4$  organismos por grama de tecido, o que leva à baixa sensibilidade, particularmente para pacientes no fim do espectro tuberculóide da hanseníase, quando os bacilos álcool ácido-resistentes são raros ou ausentes (ALMEIDA et al, 2004).

Os primeiros testes sorológicos surgiram a partir de 1980 quando foi descrito o PGL-1 como antígeno imunogênico específico do *M. leprae*, sendo o mais usado o ELISA, para detecção de anticorpos contra o PGL-1, sobretudo o IgM (CHO et al, 1983).

Em 2003 foi desenvolvido um teste imunocromatográfico, o ML Flow, que detecta anticorpos IgM contra o PGL-1 do *M. leprae*; utiliza soro ou sangue total, sendo de fácil execução e pode ser usado diretamente pelos profissionais de saúde, haja vista que não exige laboratório e equipamentos, além do que os reagentes apresentam alta estabilidade, podendo ser acondicionados em temperatura ambiente (BUHRER-SÉKULA et al, 2003).

Anticorpos PGL-1, específicos para o *M. leprae* estão presentes em 90% dos pacientes portadores da forma lepromatosa, não tratados, mas somente 40-50% dos pacientes com doença paucibacilar e 1-5% de controles saudáveis (BRITTON; LOCKWOOD, 2004).

Analisando a reprodutibilidade do teste sorológico ML Flow em relação a outras metodologias de classificação da hanseníase, constatou-se que o teste demonstrou melhor desempenho com a classificação da OMS, podendo ser usado para sanar dúvidas advindas dessa classificação (GONÇALVES et al, 2014).

Os testes sorológicos disponíveis para a hanseníase não são considerados testes de diagnósticos; podem ser usados como auxiliares em combinação com parâmetros clínicos para a classificação e monitoramento clínico de pacientes e para

identificar indivíduos expostos que apresentem um alto risco de desenvolver a doença (CARVALHO et al, 2015).

### 3.8.2 Diagnóstico Molecular

A PCR é potencialmente sensível e específica na detecção de DNA do *Mycobacterium leprae*, em genes específicos ou sequências repetidas, pois identifica o DNA da bactéria em 95% de pacientes multibacilares e 55% de paucibacilares (BRITTON; LOCKWOOD, 2004).

Esse método oportunizou a detecção específica, sensível e rápida do DNA do *M. leprae* em espécimes clínicas. Ensaio utilizando biópsias de pele de pacientes com hanseníase têm demonstrado que a técnica da PCR é capaz de aumentar a sensibilidade da detecção do bacilo, sugerindo vantagem quando comparada ao exame histopatológico e baciloscópico convencionais (MARTELLI et al, 2002).

Resultados da PCR *in situ* usando biópsias de pele do sítio de lesões de crianças com hanseníase, não tratadas, evidenciaram uma positividade de 57,1% nas formas de hanseníase I/BT e 61.5% no grupo BB/BL. Quando comparado com o exame histopatológico, um aumento da significância de 15% foi observado no diagnóstico. Com a PCR *in situ*, o diagnóstico seria confirmado em 36.3% dos casos com características histopatológicas não específicas, demonstrando que os resultados da PCR foram definitivamente melhores que os resultados da histopatologia (DAYAL et al, 2005).

O uso da PCR para o diagnóstico precoce na detecção do *M. leprae* em pacientes com hanseníase, assim como, os contatos intradomiciliares assintomáticos de doentes com um alto risco para desenvolver ou transmitir a doença seria de valor clínico e preditivo (CUSTÓDIO et al, 2012).

Pesquisa mostra que a cavidade nasal de pacientes hansenianos está envolvida no transporte e propagação do bacilo, sendo o nariz considerado uma das prováveis portas de entrada (DE WIT et al, 1993).

Estudos sobre a hanseníase indicam que a transmissão do *M. leprae* ocorre principalmente pela inalação de gotículas de aerossóis com esse bacilo e tem sido referida a proposta de aplicação da PCR na prática clínica para detecção do *Mycobacterium leprae* em amostras de *swab* nasal de indivíduos saudáveis e contatos intradomiciliares. Resultados fornecem evidências que a maioria dos

pacientes multibacilares carrega o *M. leprae* em suas mucosas nasais e que o transporte desse bacilo ocorre entre pessoas saudáveis vivendo em área endêmica de hanseníase (KLATSER et al, 1993; LAVANIA et al, 2013).

Em Uberlândia, Minas Gerais, estudos com a aplicação clínica da PCR para detecção do DNA dessa bactéria em biópsia da mucosa nasal de pacientes hansenianos não tratados e em seus contatos, obtiveram uma sensibilidade de 69.2%, uma especificidade de 89.9% e uma acurácia de 82.8%, tendo comprovado que o bacilo invade a mucosa, passando através do turbinato inferior nasal para alcançar o sangue periférico (PATROCÍNIO et al, 2005).

Na Índia, experimentos compararam a técnica da PCR-Multiplex em amostras de secreção nasal de portadores de hanseníase com a baciloscopia de raspado dérmico comprovando que 83,4% dos pacientes multibacilares foram positivos para a baciloscopia e 89,2% apresentaram positividade para a PCR-M. Quanto aos paucibacilares, 22,2% foram positivos para a baciloscopia e 80,3% para o PCR – M. Dentre os contatos intradomiciliares, a PCR-M evidenciou positividade em 10,9% dos multibacilares e 1,3% dos paucibacilares (BANERJEE et al, 2010).

Resultados da PCR, usando amostras de secreção nasal de pacientes hansenianos quando comparados com a baciloscopia demonstraram maior sensibilidade para as formas multibacilares. Entretanto, a PCR identificou o DNA do *M. leprae* em dois dos oito pacientes PB e considerando que esses pacientes carregam poucos bacilos que nenhum desses casos seria detectado por análise microscópica, a PCR se tornou mais significativa, demonstrando vantagem em torno da microscopia (PONTES et al, 2008).

Infelizmente, os métodos convencionais de investigação dos contatos falham na detecção precoce de casos novos antes de se tornarem transmissíveis para outras pessoas, sendo necessária a existência de uma ferramenta alternativa e mais efetiva para uma detecção precoce, com vistas à prevenção e controle da transmissão da hanseníase (BANERJEE et al, 2010).

A taxa de positividade do DNA do *M. leprae* nos swabs nasais dos pacientes foram maiores do que nos swabs bucais em todas as formas clínicas do espectro, com exceção da forma tuberculóide. Os pacientes foram estratificados com base na detecção individual ou combinação de swabs nasais e swabs bucais, sendo o DNA do *M. leprae* mais prevalente no swab bucal de pacientes PB, enquanto o DNA bacilar foi mais frequentemente encontrado em swabs nasais de pacientes MB,

confirmando a mucosa nasal como sítio preferencial para entrada e saída do *M. leprae* (MARTINEZ et al, 2011).

Outra estratégia importante e efetiva para a redução da incidência da hanseníase é a investigação dos contatos e a detecção de casos entre eles, assim, estudo usando a PCR em *swabs* nasais mostrou que contatos de ambos os casos MB e PB que foram seguidos por dois anos, após testarem *swabs* nasais positivos para PCR, dois dos vinte casos positivos desenvolveram caso clínico e nenhum dos casos negativos apresentou alguma forma de hanseníase durante este período (BANERJEE et al, 2010). Deste modo, a PCR pode auxiliar no diagnóstico precoce dos contatos com alto risco de desenvolver a doença.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Tipo de estudo e população**

Trata-se de um estudo transversal com o propósito de detectar precocemente portadores de hanseníase pela PCR da secreção nasal de contatos intradomiciliares de casos de hanseníase, cadastrados nas unidades municipais de saúde do Paraíso dos Pássaros, Guamá e Jurunas, em combinação com a avaliação dermatoneurológica, realizado no período de fevereiro de 2013 a abril de 2015.

A amostra foi constituída de 154 contatos intradomiciliares e 58 casos índices de hanseníase, das diversas formas clínicas, totalizando 212 amostras. Os casos índices foram classificados pela forma operacional em paucibacilar e multibacilar; virgem de tratamento e em tratamento com a PQT. Os contatos intradomiciliares foram selecionados de forma aleatória para participar da pesquisa, sendo considerada a estimativa de quatro (4) contatos para cada um (1) caso índice, conforme recomendação do Ministério da Saúde (BRASIL 2008).

Considerou-se como contato intradomiciliar toda e qualquer pessoa que residia ou tenha residido com o doente de hanseníase nos últimos 5 anos (BRASIL, 2014).

Foram examinados 58 casos índices de hanseníase, assim cadastrados por Unidade de Saúde: Paraíso dos Pássaros – nº 06; Guamá – nº 21 e Jurunas – nº 31. Com relação aos contatos desses pacientes se encontravam registrados nas referidas unidades de saúde um total de 189, distribuídos em: Paraíso dos Pássaros – nº 26; Guamá – nº 81 e Jurunas – nº 82, dos quais foram examinados: Paraíso dos Pássaros – nº 22 (84,6%); Guamá – nº 62 (76,5%) e Jurunas – nº 70 (85,4%).

### **4.2 Cenário do estudo**

A presente pesquisa envolve as unidades de saúde do Paraíso dos Pássaros, Guamá e Jurunas, pertencentes à rede de atenção básica de saúde do município de Belém, localizadas na Rua dos Tucanos s/nº, no bairro Val de Cães; Rua Barão de Igarapé Mirim, nº 479, no bairro do Guamá na Avenida Fernando Guilhon s/nº, bairro do Jurunas, respectivamente. Essas unidades são vinculadas à Secretaria Municipal de Saúde de Belém e foram escolhidas para o estudo por terem registrado no ano

de 2012, o maior quantitativo de contatos de hanseníase não examinado. No mesmo ano, o percentual de contatos examinados por essas unidades foi considerado precário (<50%), pelos parâmetros do MS, conforme quadro 2.

Quadro 2– Distribuição dos contatos registrados e examinados de casos novos de hanseníase residentes em Belém, no ano de 2012.

Unidade de Saúde notificada	Contato Registrado	Contato Examinado	Avaliação* (%)	Resultado*
Paraíso dos pássaros	91	36	39,5	Precário
Jurunas	57	27	47,3	Precário
Guamá	60	23	38,3	Precário

Fonte: adaptado de SINANNET BELEM EM 19/04/2012.

\* Parâmetros: Bom > 75% dos contatos avaliados, Regular 50 – 75% dos contatos avaliados, Precário < 50% dos contatos avaliados.

### 4.3 Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo os casos índices e contatos intradomiciliares, devidamente registrados nas Unidades de Saúde do Paraíso dos Pássaros, Guamá e Jurunas, com idade a partir de 15 anos, de ambos os sexos, com ou sem sinais clínicos da doença.

### 4.4 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os diabéticos, doentes mentais, portadores de outras doenças neurológicas, grávidas, os que não compareceram ao serviço para a avaliação de rotina e/ou não autorizaram a visita domiciliar.

### 4.5 Registro de Dados

#### 4.5.1 Sócio-epidemiológicos

Realizou-se o registro dos dados dos contatos e casos índices utilizando ficha epidemiológica obtendo informações sobre dados epidemiológicos; condições habitacionais e condições ambientais (Apêndice A). Nos casos índices foram

estudadas as seguintes variáveis: sexo, idade, forma operacional, nº lesões de pele e de nervos espessados, sinais e sintomas e cicatriz de BCG e nos contatos intradomiciliares as variáveis pesquisadas foram sexo, idade, renda familiar, ocupação e escolaridade.

Para subsidiar a investigação foi realizado um levantamento dos seguintes documentos: Ficha de acompanhamento e aprazamento de hanseníase; Livro de registros e controle de hanseníase e prontuários dos casos índices.

#### *4.5.2 Dados Clínicos*

##### *4.5.2.1 Avaliação dermatoneurológica*

Como parte da rotina do programa de hanseníase das unidades de saúde abarcadas no estudo e nos domicílios daqueles que não compareceram às unidades foi realizada a avaliação dermatoneurológica dos casos índices e de seus contatos intradomiciliares, seguindo o modelo apresentado no Anexo A e constando das seguintes etapas:

#### **a) Inspeção dermatológica**

Todos os casos índices e seus contatos intradomiciliares inseridos neste estudo, independentemente de serem contatos de casos PB ou MB, foram submetidos à avaliação dermatológica, com inspeção de toda a superfície corporal, em busca de sinais e sintomas compatíveis com a hanseníase (Manchas pigmentares ou discrômicas, placa, tubérculos, nódulos, infiltrações) e na identificação destas realizou-se pesquisas de sensibilidade térmica, dolorosa e tátil para a identificação de alteração de sensibilidade, sendo os pacientes orientados antes do procedimento (BRASIL, 2002).

#### **b) Avaliação neurológica**

Foi constituída pela inspeção dos olhos, nariz, mãos e pés, palpação dos troncos nervosos periféricos, avaliação da força muscular e avaliação de sensibilidade nos olhos, membros superiores e membros inferiores em busca de

sinais e sintomas neurológicos como: dor e espessamento dos nervos periféricos; perda de sensibilidade nas áreas inervadas por esses nervos, principalmente nos olhos, mãos e pés; perda de força nos músculos inervados por esses nervos, sobretudo, nas pálpebras e nos membros superiores e inferiores (Brasil 2002).

Adotou-se o formulário para Avaliação Simplificada das Funções Neurais e Complicações, do Ministério da Saúde – Brasil, com a palpação dos nervos radial, ulnar, mediano, fibular e tibial posterior, para detectar presença de dor, edema, formigamento, choque, espessamento nervoso; se avaliou ainda a existência de perda de força e tônus muscular.

#### 4.5.2.2 Avaliação do grau de incapacidade

A fim de determinar o grau de incapacidade física nos casos índices de hanseníase foi feito o teste da sensibilidade protetora/ e ou deformidade visível dos olhos, das mãos e dos pés utilizando o conjunto de monofilamentos de Semmes-Weinstein (6 monofilamentos: 0.05g, 0.2g, 2g, 4g, 10g e 300g) nos pontos de avaliação de sensibilidade em mãos e pés com o objetivo de avaliar o nível de perda de sensibilidade nesses pontos e inspecionou-se os olhos. Para isso utilizou-se o formulário de avaliação simplificada das funções neurais e complicações (Anexo A) que adota os seguintes critérios: grau 0 (zero), quando não há comprometimento neural nos olhos, nas mãos ou pés; grau I (um), que corresponde à diminuição ou perda de sensibilidade e grau II (dois), que indica a presença de incapacidades e deformidades do tipo lagofalmo, garras, reabsorção óssea, mãos e pés caídos, entre outros (BRASIL, 2014).

#### 4.5.2.3 Avaliação da cicatriz da vacina BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*)

Todos os casos índices e contatos intradomiciliares foram avaliados quanto à presença de cicatriz vacinal de BCG e no caso dos contatos considerados indenes e que necessitavam de dose de BCG-ID foram conduzidos para o setor de imunização das unidades de origem e aqueles com suspeita da doença foram encaminhados ao médico da própria unidade de saúde, para confirmação diagnóstica e tratamento.

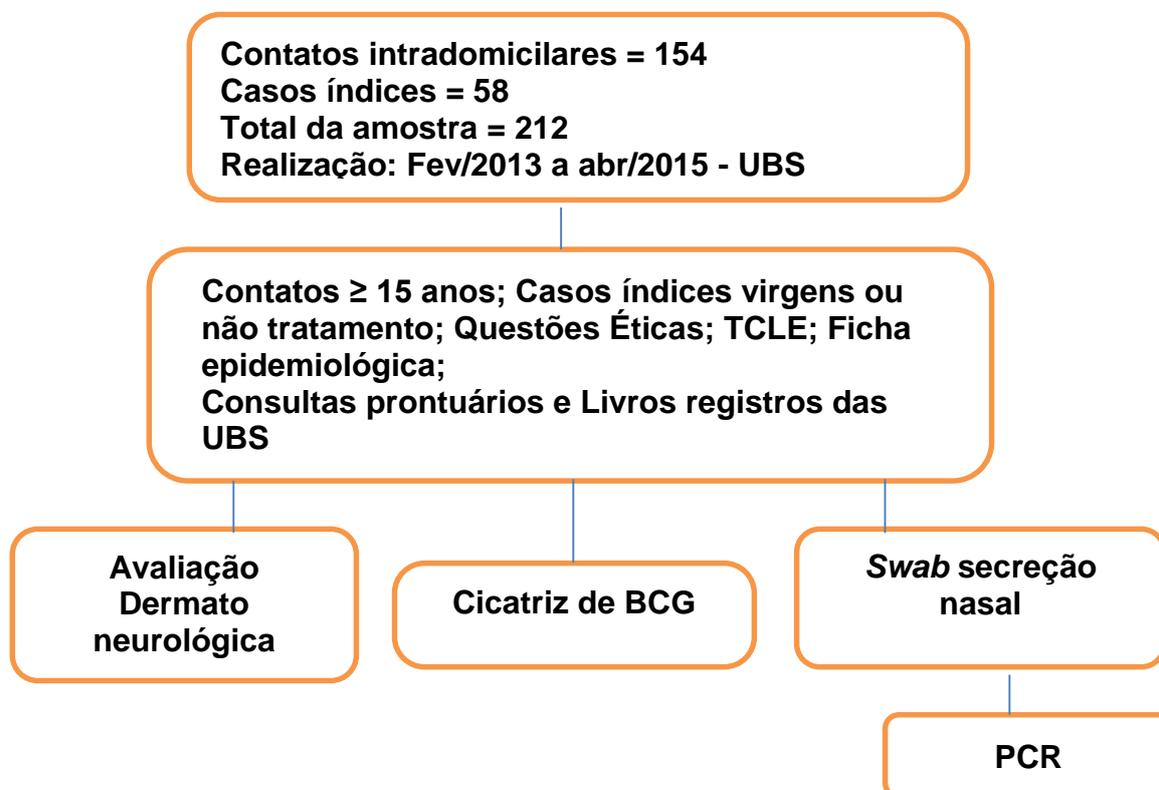
#### **4.6 Coleta e processamento de material biológico**

No momento da avaliação dermatoneurológica de cada contato intradomiciliar nas unidades de saúde ou no domicílio foi coletada uma amostra de secreção nasal de cada narina com o auxílio de *swabs* estéreis (CB Products Indústria Brasileira), esfregando suavemente por rotação, várias vezes, contra o segmento anterior da cavidade nasal. A fim de umidificar a secreção nasal e elevar a qualidade da amostra foi instilado em cada narina dos contatos 0,5 ml de cloreto de sódio 0,9%, estéril. Após a colheita da secreção nasal o *swab* foi imerso em 0,5 ml de cloreto de sódio 0,9%, em tubo de ensaio de 10 ml, friccionado contra a parede do tubo e desprezado em seguida. O sobrenadante foi refrigerado imediatamente até o processamento das amostras.

Foi coletada também, uma amostra de secreção nasal de cada caso índice, no momento da avaliação de rotina pelo serviço ou no domicílio daquele que não compareceu à Unidade de Saúde, utilizando a mesma metodologia acima descrita.

A seleção dos contatos intradomiciliares e casos índices envolvidos na pesquisa e a coleta do material biológico foram realizadas com base no fluxograma a seguir especificado (Figura 4).

Figura 4 – Fluxograma de triagem dos contatos intradomiciliares e casos índices de hanseníase, coleta de dados clínicos e de material biológico.



Fonte: Próprio autor, 2013-2015.

#### 4.7 Extração de DNA de amostra de secreção nasal

Transferiu-se todo o material do tubo de ensaio para microtubo de 1,5 ml, tipo eppendorf e centrifugou-se a 13.000 rpm por 1 minuto. O sobrenadante foi desprezado e ao precipitado adicionado 300 µL de PBS (phosphate buffered saline - tampão fosfato-salino) e a seguir, as amostras foram centrifugadas a 13.000 rpm por 1 min. O sobrenadante foi desprezado e realizado a extração do DNA utilizando o kit de purificação de DNA Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega – cat. # A1125), conforme a recomendação do fabricante para isolamento do DNA de sangue total (Anexo C), obedecendo as seguintes etapas:

Etapa de lise e precipitação de proteínas: - Para cada amostra foi adicionado 900 µL de solução de lise celular, que após incubação por 10 minutos, foram centrifugados a 13.000-14.000 rpm por 1 minuto. O sobrenadante foi descartado e

adicionado 300  $\mu$ L de solução de lise nuclear ao sedimento. Adicionou-se 100  $\mu$ L de solução de precipitação de proteína e novamente centrifugado a 13.000-14.000 rpm por 3 minutos.

Etapa da precipitação do DNA e reidratação: - Transferiu-se o sobrenadante para um novo tubo contendo 300  $\mu$ L de isopropanol. Centrifugou-se a 13.000-14.000 rpm por 1 minuto. O sobrenadante foi descartado e adicionou-se 300  $\mu$ L de Etanol a 70% ao sedimento. O material foi novamente centrifugado a 13.000-14.000 rpm por 1 minuto e o etanol descartado. Secou-se o sedimento em estufa a 37°C por 10-15 minutos. Em seguida foi adicionado 30  $\mu$ L de solução de reidratação. O DNA foi mantido a -20°C até o momento do uso.

## **4.8 Reação em cadeia da polimerase**

### *4.8.1 Amplificação do Gene $\beta$ -globina Humana*

Inicialmente, todas as amostras foram submetidas à PCR para a amplificação do gene da  $\beta$ -globina humana, usando os iniciadores G73 (5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3') e G74 (5'-CAACTTCATCCACGTTCCACC-3'), servindo como um controle interno para avaliar a integridade e suficiência de DNA extraído de cada amostra (GREER et al, 1991).

Cada reação de PCR foi realizada para um volume total de 7  $\mu$ L, contendo Go Taq® Master Mix (Promega), 1,0 $\mu$ M de cada iniciador, G73 e G74 (Bionner), DNA alvo <250 ng para a amplificação do fragmento de 268 pares de bases (pb), conforme figura 5.

A reação foi processada em um termociclador programável (Biocycler) e submetida a uma temperatura inicial de 94°C por 5 minutos, seguido de 35 ciclos nas condições: 94°C por 45 segundos, 55°C por 45 segundos e 72°C por 45 segundos. Ao final, a etapa de extensão foi mantida por 5 minutos a 72°C.

Figura 5 – Imagem da amplificação do gene da  $\beta$ -globina humana em amostra de secreção nasal de contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase e casos índices.



Fonte: Pesquisa de laboratório, 2015-2016.

Legenda: Imagem do gel de agarose a 1,5% em TAE corado com brometo de etídeo. Colunas 1 – 8 amostras, coluna 09 - controle positivo; coluna 10 – controle negativo.

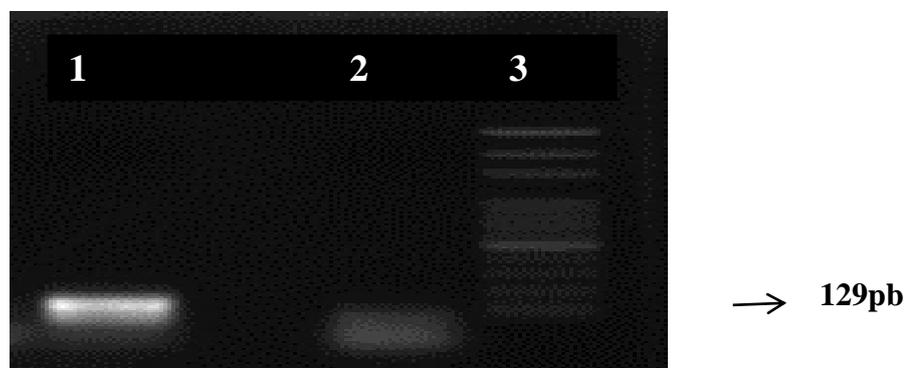
#### 4.8.2 Amplificação do elemento específico repetitivo do *M. leprae* (RLEP)

Todas as amostras positivas para o gene da  $\beta$ -globina humana foram submetidas à PCR para a detecção do gene RLEP do *M. leprae*, usando os iniciadores LP1 (5'-TGCATGTCATGGCCTTGAGG-3') e LP2(5'-CACCGATACCAGCGGCAGAA-3') (DONOGHUE et al, 2001).

Cada reação foi realizada em um volume total de 10 $\mu$ l, contendo 1,0 $\mu$ M de cada iniciador LP1 e LP2 (Bionner), 0,2mM dNTP (Invitrogen®), 1xTampão da Taq, 2U Taq DNA Polimerase (Invitrogen®), 1,5mM MgCl<sub>2</sub>, DNA alvo <250 ng para a amplificação do fragmento de 129 pb (Figura 6).

A reação foi submetida a uma temperatura inicial de 95°C por 5 minutos, 58°C por 2 minutos e 72°C por 2 minutos, seguido de 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 58°C por 30 segundos, 72°C por 1 minuto e por fim 72°C por 10 minutos.

Figura 6: Imagem da amplificação do gene do *M. leprae* em amostra de secreção nasal utilizando os iniciadores LP1 e LP2.



Fonte: Pesquisa de laboratório, 2015-2016.

Legenda: Imagem do gel de agarose a 1,5% em TAE corado com brometo de etídeo. Coluna 1 – controle positivo; coluna 2 – controle negativo e coluna 3 – marcador.

#### 4.8.3 Eletroforese em gel de agarose

Os produtos de PCR foram fracionados em eletroforese horizontal em uma matriz de gel de agarose a 1,5% em solução de TAE (40 mM Tris – acetato; 1 mM EDTA; pH 8,0), contendo brometo de etídeo na concentração final de 0,5 µg/mL. utilizando-se 2µL de solução indicadora azul de bromofenol (azul de bromofenol 0,25%, xileno cianol 0,25%, Ficoll 400 15% em água) e 5µL do produto de cada PCR. A eletroforese foi realizada a 100V e 50mA por 1 hora. Em seguida as bandas foram visualizadas e digitalizadas sob iluminação ultravioleta em transluminador (L.PIX Molecular imaging-Loccus Biotecnologia).

### 4.9 Fatores de risco

Neste estudo foram considerados como fatores de risco entre os contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase para o desenvolvimento da doença: PCR positivo, presença de sinais e sintomas próprios de hanseníase e ausência de cicatriz de BCG e adotou-se a seguinte classificação: Presença de 01 fator de risco isolado – baixo risco para a doença; 02 fatores de risco simultâneos - risco intermediário e 03 fatores de risco associados - alto risco de desenvolver a hanseníase. Os contatos que não apresentaram nenhum dos 03 fatores de risco foram classificados como muito baixo risco de desenvolver a doença.

#### 4.10 Aspectos éticos

Os sujeitos foram informados sobre a pesquisa, de maneira acessível, sendo solicitada a assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido, conforme rege a Resolução 466/12, do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2012), possibilitando a coleta de material biológico, exame dermatoneurológico, avaliação da cicatriz vacinal de BCG, consulta de prontuários de casos índices, ficha de registro dos contatos e livro de registro e controle da hanseníase. Também foi empregada uma ficha para a obtenção de dados epidemiológicos (Apêndice A). Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Núcleo de Medicina Tropical (NMT) da Universidade Federal do Pará (UFPA), sob o nº CAAE: 08818612.4.0000.5172 (Anexo B).

#### 4.11 Análise dos dados

O processamento estatístico foi realizado nos softwares GrafTable versão 2.0 e BioEstat versão 5.3 (AYRES et al, 2009). Para frequência do DNA do *M. leprae* por PCR em secreção nasal de contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase e dos casos índices foram aplicados métodos estatísticos descritivos e inferenciais. As variáveis quantitativas foram apresentadas por medidas de tendência central e de variação; e as variáveis qualitativas expostas por distribuições de frequências absolutas e relativas. A comparação entre as variáveis qualitativas foi realizada pelo teste do Qui-quadrado; para as avaliações da reprodutibilidade dos resultados utilizou-se o teste de Kappa, seguindo a escala de concordância adotada por Vieira (2005) para a interpretação dos valores: <0 sem concordância; 0,0-19; concordância pobre; 0,20-0,39 fraca; 0,40-0,59 moderada; 0,60-0,79 substancial e 0,80-1,00 concordância quase perfeita e para o risco relativo estimado adotou-se o teste Odds Ratio. O nível de significância alfa = 0.05 para rejeição da hipótese de nulidade foi previamente fixado.

## **.5 RESULTADOS**

### **5.1 Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) e variáveis ligadas aos casos índices de hanseníase e seus contatos intradomiciliares.**

#### *5.1.1 Associação da PCR de casos índices de hanseníase com as variáveis sócio-epidemiológicas dos casos índices.*

A associação da PCR em amostra de secreção nasal dos casos índices com as variáveis, sexo, idade, forma operacional, nº lesões de pele, nº nervos espessados, sinais e sintomas, cicatriz de BCG e número de cicatriz de BCG, alcançaram os resultados a seguir especificados e retratados na tabela 1.

Dos 58 casos índices, 33 (56,9%) indivíduos eram do sexo masculino e destes 10 (30,3%) apresentaram PCR positivo. Entre os indivíduos do sexo feminino 10 (40,0%) também apresentaram PCR positivo.

Com relação à idade observa-se que a prevalência da positividade de PCR foi na faixa-etária de 40 a 59 anos (35,0%).

A forma operacional prevalente foi a multibacilar com 43 casos índices (74,1%) e destes 16 (80,0%) foram positivos. Se tratando da forma paucibacilar foram identificados 15 casos (25,9%), sendo 04 (20,0%) positivos.

Sobre o número de lesões de pele identificadas nos casos índices e número de nervos espessados a maior positividade da PCR incidiu entre aqueles que exibiram de 7 a 9 (35%) lesões e nenhum nervo espessado.

Todos os 58 casos índices demonstraram sinais e sintomas da doença, sendo 20 (34,5%) positivos para a PCR.

Ao associar a presença de cicatriz de BCG dos casos índices com a positividade da PCR, dos 23 (39,7%) que exibiram cicatriz de BCG, 07 (35,0%) foram positivos. Ao distribuir os casos índices pelo número de cicatriz e PCR obteve-se: dos 35 (60,3%) sem cicatriz, 13 foram positivos para a PCR; dos 19 (32,8%) com uma cicatriz, 07 foram positivos e 04 (6,9%) com duas cicatrizes foram todos negativos para a PCR.

Os casos índices tiveram idade variando entre 8 e 81 anos, com média de  $46 \pm 18$  anos, apresentaram tendência estatisticamente significativa ( $p < 0.05^*$ ) para: Forma clínica multibacilar (80,0%), nenhum nervo espessado (40,0%), presença de

sinais e sintomas (34,5%) e nenhuma cicatriz de BCG (65,0%), pelo teste do Qui-quadrado de aderência.

Tabela 1 - Associação da PCR de secreção nasal de casos índices de hanseníase, com variáveis sócio-epidemiológicas. 2013-2015.

Variáveis	Casos Índices (n=58)				Total		p-valor
	PCR +	%	PCR -	%	N	%	
Sexo							0.358
Masculino	10	30.3	23	69.7	33	56.9	
Feminino	10	40.0	15	60.0	25	43.1	
Idade							0.0825
15 a 19	5	25.0	3	7.9	8	13.8	
20 a 39	3	15.0	9	23.7	12	20.7	
40 a 59	7	35.0	14	36.8	21	36.2	
≥60	5	25.0	12	31.6	17	29.3	
Forma Operacional							0.0004*
Multibacilar	16	80.0	27	71.1	43	74.1	
Paucibacilar	4	20.0	11	28.9	15	25.9	
Número Lesões de Pele							0.0989
1 a 3	6	30.0	14	36.8	20	34.5	
4 a 6	3	15.0	15	39.5	18	31.0	
7 a 9	7	35.0	5	13.2	12	20.7	
≥ 10	4	20.0	4	10.5	8	13.8	
Número Nervos Espessados							<0.0001*
0	8	40.0	22	57.9	30	51.7	
1	7	35.0	11	28.9	18	31.0	
2	4	20.0	4	10.5	8	13.8	
4	1	5.0	1	2.6	2	3.4	
Sinais e sintomas Presentes							<0.0001*
Sim	20	34,5	38	65,5	58	100.0	
Não	0	0.0	0	0.0	0	0.0	
Cicatriz BCG Presente							0.1486
SIM	7	35.0	16	42.1	23	39.7	
Não	13	65.0	22	57.9	35	60.3	
Número de Cicatrizes BCG							<0.0001*
0	13	65.0	22	57.9	35	60.3	
1	7	35.0	12	31.6	19	32.8	
2	0	0.0	4	10.5	4	6.9	

\*Qui-quadrado de aderência.

Fonte: Pesquisa de campo, 2013-2015.

### 5.1.2 Associação da PCR de contatos intradomiciliares de hanseníase com as variáveis sócio-econômicas (sexo, idade, renda familiar, ocupação e escolaridade).

Relacionando-se a PCR com o sexo identificou-se que 99 (64,3%) pertenciam ao sexo feminino e destes 63,9% foram positivos.

Quanto à idade dos contatos e o resultado da PCR, a maioria (40,9%) se encontrava na faixa etária de 10 a 19 anos, com prevalência de positividade de PCR (44,4%) na faixa etária de 20 a 39 anos.

Com relação à renda verificou-se que 77 (50,0%) recebiam menos que um salário mínimo e que o maior percentual de positividade de PCR (47,2%) foi encontrado entre os que possuíam renda de 1 (35,1%) salário mínimo.

Sobre a ocupação, 72 (46,8%) eram estudantes e também apresentaram a maior positividade para PCR (33,3%).

No que diz respeito à escolaridade, a maioria (29,2%) possuía o ensino médio completo e o maior percentual de positividade para PCR (36,1%).

Os dados acima descritos estão retratados na tabela 2.

Os contatos tiveram idade variando entre 15 e 90 anos, com média de  $30 \pm 17$  anos, e apresentaram tendência estatisticamente significativa ( $p < 0.05^*$ ) para: sexo feminino (63,9%), Idade de 20 a 39 anos (44,4%), renda familiar de 1 salário mínimo (47,2%) e ocupação de Estudante (33,3%) com ensino médio completo (36,1%), pelo teste do Qui-quadrado de aderência.

Tabela 2 – Associação entre a PCR em amostra de secreção nasal de contatos intradomiciliares de hanseníase e as variáveis socioeconômicas. 2013-2015.

Varáveis	Contatos (n=154)				Total		p-valor
	PCR +	%	PCR -	%	n	%	
Sexo							0.0005*
Masculino	13	36.1	42	35.6	55	35.7	
Feminino	23	63.9	76	64.4	99	64.3	
Idade							<0.0001*
< 10	0	0.0	0	0.0	0	0.0	
10 a 19	8	22.2	55	46.6	63	40.9	
20 a 39	16	44.4	34	28.8	50	32.5	
40 a 59	8	22.2	23	19.5	31	20.1	
60 a 79	3	8.3	5	4.2	8	5.2	
≥ 80	1	2.8	1	0.8	2	1.3	
Renda Familiar (SM)							<0.0001*
<1	10	27.8	67	56.8	77	50.0	
1	17	47.2	37	31.4	54	35.1	
2	8	22.2	11	9.3	19	12.3	
3	1	2.8	3	2.5	4	2.6	
Ocupação							<0.0001*
Estudante	12	33.3	60	50.8	72	46.8	
Do Lar	9	25.0	14	11.9	23	14.9	
Serviços gerais	6	16.7	16	13.6	22	14.3	
Trabalhador informal	9	25.0	28	23.7	37	24.0	
Escolaridade							<0.0001*
Fund. Incompleto	11	30.6	26	22.0	37	24.0	
Fund. Completo	9	25.0	27	22.9	36	23.4	
Médio Incompleto	3	8.3	26	22.0	29	18.8	
Médio Completo	13	36.1	32	27.1	45	29.2	
Superior Incompleto	0	0.0	5	4.2	5	3.2	
Superior Completo	0	0.0	2	1.7	2	1.3	

\*Qui-quadrado de aderência.

Fonte: Pesquisa de campo, 2013-2015.

### 5.1.3 Reação em Cadeia de Polimerase e Classificação Operacional dos Casos Índices de Hanseníase.

Dos 58 casos índices estudados, 43 (74,1%) pertenciam à classificação operacional multibacilar e 15 (25,9%) paucibacilar.

Foram avaliados 154 contatos intradomiciliares, sendo 117 (76,0%) procedentes de casos índices da classificação multibacilar e 37 (24,0%) de classificação operacional paucibacilar.

Ao analisar a prevalência da positividade do DNA do *M. leprae*, por PCR, em amostra de secreção nasal dos casos índices e contatos intradomiciliares detectou-se que dos 43 casos índices da forma operacional multibacilar, 16 (37,2%) foram positivos. O intervalo de confiança (IC95%) ficou entre 28.8 a 41.7%.

Dos 15 casos índices da forma operacional paucibacilar, 4 (26,7%) foram positivos e entre os contatos intradomiciliares observou-se que dos 117 contatos de multibacilares, 30 (25,6%) foram positivos para PCR e dos 37 contatos paucibacilares, 6 (16,2%) foram positivos. O Intervalo de Confiança (IC95%) ficou entre o percentual de 17.7 a 33.6 % (Tabela 3).

A correspondência do resultado da PCR, conforme a classificação operacional foi avaliada pelo teste Kappa que resultou no p-valor =0.0043\*, considerado altamente significativo, indicando a existência de replicabilidade classificada como fraca, conforme a classificação proposta por Viera (2005).

Tabela 3 – Prevalência de positividade de DNA do *M. leprae* por PCR em amostra de secreção nasal de casos índices de hanseníase e seus contatos intradomiciliares, de acordo com a classificação operacional. Belém. 2013-2015.

Casos	Frequência	PCR+	%	IC95%	PCR-	%
<b>Índices</b>						
Multibacilar	43	16	37.2	28.8 a 41.7	27	62.8
Paucibacilar	15	4	26.7	---	11	73.3
Total	58	20	34.5	22.3 a 46.7	38	65.5
<b>Contatos</b>						
Multibacilar	117	30	25.6	17.7 a 33.6	87	74.4
Paucibacilar	37	6	16.2	---	31	83.8
Total	154	36	23.4	15.5 a 28.6	118	76.6

p-valor = 0.0043\*; Kappa = 0.1969; Concordância observada: 0.6429

Fonte: Pesquisa de campo, 2013-2015.

#### 5.1.4 *Reação em Cadeia de Polimerase e Fatores de Risco entre os contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase.*

##### 5.1.4.1 Concordância entre os sinais e sintomas clínicos dos contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase com a positividade da PCR.

Ao analisar a concordância entre os sinais e sintomas clínicos dos contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase com a positividade da PCR constatou-se que dos 117 contatos procedentes de casos índices multibacilares, 29 apresentaram sinais e sintomas compatíveis com a hanseníase e destes 17 (58,6%) apresentaram resultado positivo na PCR, enquanto que dos 88 contatos que não evidenciaram sinais e sintomas da doença, 13 (14,8%) apresentaram PCR positivo.

Entre os 37 contatos intradomiciliares de casos índices paucibacilares constatou-se que 08 manifestaram sinais e sintomas de hanseníase e destes 03 (37,5%) apresentaram resultado positivo para PCR e dos 29 com ausência de sinais e sintomas da doença, 03 (10,3%) foram positivos para a PCR (Tabela 4).

Entre todos os contatos que apresentaram sinais e sintomas da hanseníase (37), 20 apresentaram resultado positivo na PCR sendo considerado como grupo prioritário por apresentar dois fatores de risco para o desenvolvimento da doença.

Nos contatos procedentes de casos índices MB, a concordância entre sinais e sintomas clínicos com a positividade da PCR foi avaliada pelo teste Kappa, o qual resultou no p-valor  $<0.0001^*$ , altamente significativa, sendo a replicabilidade classificada como Boa (VIEIRA, 2005).

Para os contatos oriundos de casos índices PB a concordância entre sinais e sintomas clínicos com a positividade da PCR foi avaliada pelo teste Kappa, o qual resultou no p-valor  $<0.0325^*$ , estatisticamente significativa, sendo a replicabilidade classificada como Fraca (VIEIRA, 2005).

Tabela 4 – Concordância entre sinais e sintomas clínicos e a positividade da PCR de contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase, com a PCR. 2013-2015.

Sinais e sintomas	Contatos	PCR+	%	PCR-	%	Concordância	Kappa	p-valor	Reprodutividade.
Multibacilar						0.7863	0.4335	$<0.0001^*$	Boa
Presentes	29	17	58.6	12	41.4				
Ausentes	88	13	14.8	75	85.2				
Total	117	30	25.6	87	74.4				
Paucibacilar						0.6838	0.2986	0.0325*	Fraca
Presentes	8	3	37.5	5	62.5				
Ausentes	29	3	10.3	26	89.7				
Total	37	6	16.2	31	83.8				

Fonte: Pesquisa de campo, 2013-2015.

#### 5.1.4.2 Associação entre a prevalência da positividade da PCR na secreção nasal de contatos intradomiciliares com a quantidade de cicatriz vacinal.

Dos 154 contatos estudados, 31(20,1%) não apresentaram cicatriz da vacina de BCG; 105 (68,2%) uma cicatriz de BCG e 18 (11,7%) duas cicatrizes de BCG.

Ao associar a positividade da PCR dos contatos intradomiciliares com a presença de cicatriz de BCC se alcançou o seguinte resultado: 36 (23,4%) foram positivos e destes 08 (25,8%) não exibiram cicatriz de BCG, 26 (24,8%) possuíam uma cicatriz de BCG e 02 (11,1%) duas cicatrizes, conforme a tabela 5.

A distribuição da quantidade de cicatrizes de BCG, conforme a positividade da PCR nos contatos intradomiciliares foi avaliada pelo teste do Qui-quadrado de

independência e não apresentou diferença significativa (p-valor 0.4218\*), portanto não existe associação entre a quantidade de cicatrizes de BCG e a positividade do PCR.

Tabela 5 - Associação entre a prevalência da positividade da PCR na secreção nasal de contatos intradomiciliares com a quantidade de cicatriz vacinal. 2013-2015.

Cicatrizes BCG	PCR+	%	PCR-	%	Geral	%
Nenhuma	8	25.8	23	74.2	31	20.1
Uma	26	24.8	79	75.2	105	68.2
Duas	2	11.1	16	88.9	18	11.7
Total	36	23.4	118	76.6	154	100.0

p-valor=0.4218, Qui-quadrado de independência,  $\chi^2 = 1.72$ , GL =2

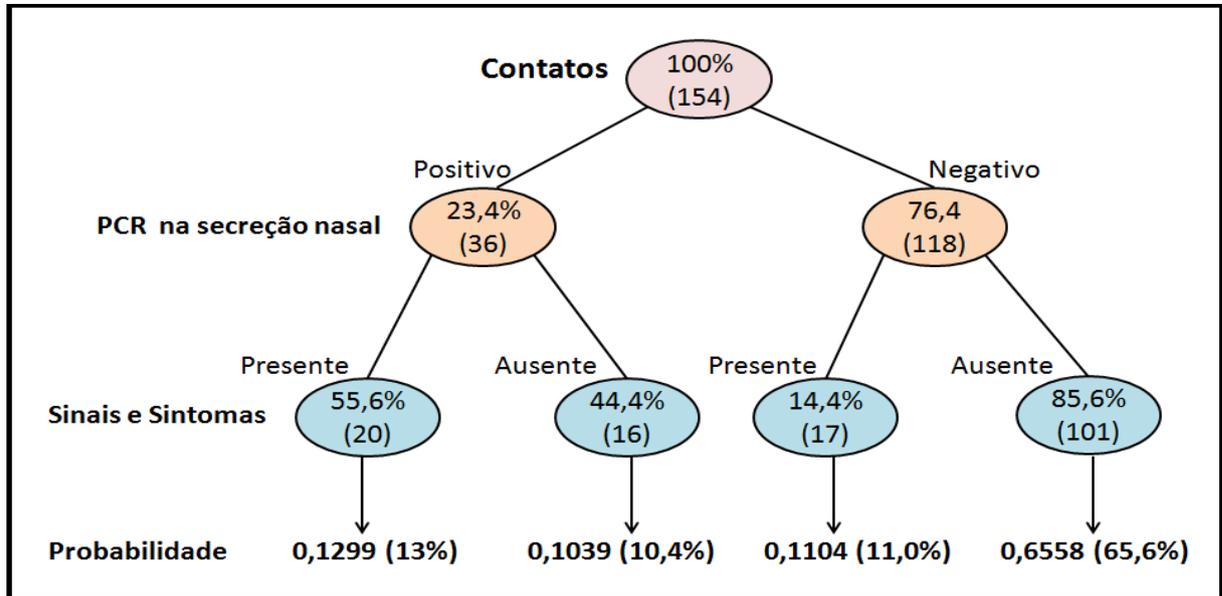
Fonte: Pesquisa de campo, 2013-2015.

#### 5.1.4.3 Risco relativo entre a positividade da PCR e sinais e/ou sintomas clínicos da hanseníase nos contatos intradomiciliares.

Ao avaliar a associação entre o resultado da PCR e a presença de sinais e/ou sintomas clínicos nos 154 contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase se constatou que dos 36 contatos (23,4%) positivos para a PCR, 20 (55,6%) apresentaram sinais e sintomas compatíveis com a doença (Figura 7).

Para a estimativa do risco relativo entre a associação de sinais e sintomas clínicos e a positividade da PCR em contatos intradomiciliares foi aplicado o teste Odds Ratio sendo considerada altamente significativa (p-valor<0.0001\*), indicando que os contatos que apresentam PCR positivo tem sete vezes mais chance de apresentar sinais e sintomas de hanseníase.

Figura 7- Risco relativo entre a positividade da PCR e sinais e/ou sintomas clínicos da hanseníase nos contatos intradomiciliares de hanseníase, 2013-2015.



p-valor <0.0001\*, Odds Ratio = 7,42 (IC95% 3,22 a 17,1)

Fonte: Pesquisa de campo, 2013-2015.

#### 5.1.4.4 Fatores de risco potencial estimado para o desenvolvimento da hanseníase em contatos intradomiciliares de hanseníase.

Os fatores de risco identificados durante o estudo entre os contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase para o desenvolvimento da hanseníase foram a positividade da PCR, presença de sinais e sintomas de hanseníase e ausência de cicatriz de BCG.

Assim, 14 (9,1%) apresentaram PCR positivo, 11 (7,1%) sinais e sintomas da doença e 17 (11,0%) ausência de cicatriz de BCG, sendo este grupo classificado de baixo risco, por apresentar apenas um fator de risco isolado. Vinte e dois contatos foram classificados com risco intermediário para desenvolver a hanseníase por exibirem dois fatores de risco simultâneos, assim distribuídos: 14 (9,1%) PCR positivo e sinais e sintomas da doença, 2 (1,3%) com PCR positivo e ausência de cicatriz de BCG e 6 (3,9%) demonstraram sinais e sintomas da doença e ausência de cicatriz de BCG. No alto risco de desenvolver a doença foram identificados 6 (3,9%) contatos por portarem três fatores de risco simultâneos quais sejam: PCR

positivo, sinais e sintomas de hanseníase e ausência de cicatriz de BCG; considerados com infecção subclínica. Classificados com muito baixo risco de desenvolver a doença foram detectados 84 (54,5%) contatos por não apresentarem nenhum fator de risco potencial.

A avaliação da distribuição dos fatores de risco nos contatos intradomiciliares realizada pelo teste Qui-quadrado de aderência apontou que existe tendência para baixo risco ( $p < 0.0001^*$ ) com presença isolada de ausência de cicatriz de BCG (11,0%) e com o DNA+ sempre associado à presença de outros fatores de risco (14,3%), entretanto há 06 (3,9%) contatos com alto risco para a hanseníase (Tabela 6).

Tabela 6 – Fatores de risco potencial estimado para o desenvolvimento da hanseníase em contatos intradomiciliares de hanseníase, baseado na PCR em amostra de secreção nasal, sinais e sintomas de hanseníase e ausência de cicatriz da BCG. 2013-2015.

Distribuição do Risco Potencial	N	%
<b>Baixo risco (um fator isolado)</b>		
(A) PCR+	14	9.1
(B) Sinais e sintomas	11	7.1
(C) Ausência de Cicatriz de BCG	17	11.0
<b>Risco intermediário (dois fatores simultâneos)</b>		
A e B	14	9.1
A e C	2	1.3
B e C	6	3.9
<b>Alto Risco (três fatores simultâneos)</b>		
A, B e C	6	3.9
<b>Muito baixo risco</b>		
Três fatores ausentes	84	54.5
<b>Total</b>	<b>154</b>	<b>100,0</b>

p-valor < 0.0001\*, Qui-quadrado de aderência.

Fonte: Pesquisa de campo, 2013-2015.

## 5.2 Reação em Cadeia de Polimerase e variáveis ligadas aos casos índices.

### 5.2.1 Associação da PCR com a frequência de Convívio com o Caso Índice.

Dos 154 contatos intradomiciliares, 144 (93,5%) referiram convívio diário com o caso índice e destes 36 (25,0%) foram positivos para a PCR e dos 10 (6,5%) contatos com convívio quinzenal todos foram negativos para a PCR (Tabela 7).

Tabela 7 - Associação da PCR em secreção nasal dos contatos intradomiciliares com a frequência de convívio com o caso índice, 2013-2015.

Variáveis	Contatos (n=154)				Total		p-valor
	PCR +	%	PCR -	%	n	%	
Convívio Índice							<0.0001*
Diário	36	25,0	108	75,0	144	93.5	
Quinzenal	0	0.0	10	8.5	10	6.5	
Total	36	23,4	118	76,6	154	100,0	

\*Qui-quadrado de aderência.

Fonte: Pesquisa de campo, 2015.

### 5.2.2 Correlação entre PCR, Tempo de Tratamento e Grau de Incapacidade.

Ao correlacionar o tempo de tratamento com a PQT dentre os 58 casos índices de hanseníase com o resultado da PCR em amostra de secreção nasal identificou-se que dos 15 portadores da forma operacional paucibacilar, 04 (26,7) foram positivos para a PCR. Dos 06 casos índices no primeiro mês de tratamento, 01 (16,7%) foi positivo; dos 05 entre o segundo e terceiro mês de tratamento, 02 (40,0%) foram positivos e dos 04 casos índices entre o quarto e o sexto mês de tratamento apenas 01 (25,0%) foi positivo.

Dos 43 casos índices da forma multibacilar, 16 foram positivos para a PCR e se encontravam em tratamento com a PQT, assim distribuídos por mês de tratamento: 06 (50,0%) no primeiro mês; 02 (40,0%) entre o segundo e terceiro mês; 05 (35,7%) entre o quarto e sexto mês; 02 (40,0%) entre o sétimo e nono mês e 01 (14,3%) entre o décimo e décimo segundo mês (Tabela 8).

Para a correlação do tempo de tratamento com a PCR foi usado o coeficiente de correlação de Pearson sugerindo que nas formas paucibacilares a evolução do tratamento dos casos com DNA negativo se apresentam com correlação negativa (Coeficiente de Correlação = -0.5581\*) e estatisticamente significante, indicando o aumento dos casos com o DNA negativo com o aumento do tempo de tratamento. Nas formas multibacilares a evolução dos casos com DNA negativo apresentam correlação negativa (Coeficiente de Correlação = -0.5911\*) e altamente significante, sinalizando o aumento dos casos com o DNA negativo com o aumento do tempo de tratamento.

Tabela 8 – Correlação entre a PCR, na secreção nasal com o tempo de tratamento dos casos Índices, por classificação operacional. 2013-2015.

Tratamento (mês)	n	PCR +	%	PCR -	%	r Pearson	p-valor	Classif.
Paucibacilar						-0.5581	0.0306*	Regular
Até 1	6	1	16.7	5	83.3			
2 a 3	5	2	40.0	3	60.0			
4 a 6	4	1	25.0	3	75.0			
Geral	15	4	26.7	11	73.3			
Multibacilar						-0.5911	<0.0001*	Regular
Até 1	12	6	50.0	6	50.0			
2 a 3	5	2	40.0	3	60.0			
4 a 6	14	5	35.7	9	64.3			
7 a 9	5	2	40.0	3	60.0			
10 a 12	7	1	14.3	6	85.7			
Geral	43	16	37.2	27	62.8			

\*Correlação linear de Pearson.

Fonte: Pesquisa de campo, 2013-2015.

Com relação à avaliação do grau de incapacidade física nos 58 casos índices, 18 (31,0%) apresentaram grau zero; 35 (60,3%) possuíam grau 1 e 05 (8,6%) grau 2.

Ao correlacionar o grau de incapacidade com o resultado da PCR dos casos índices comprovou-se que 05 (25,0%) contatos foram positivos com grau zero; 11 (55,0%) foram positivos com Grau 1 e 04 (20,0%) positivos com grau 2 (Tabela 9).

A distribuição do grau de incapacidade em associação com a PCR foi avaliada pelo teste do Qui-quadrado e não apresentou real associação, pois o p-valor = 0.0786 não é significativa.

Tabela 9 – Associação entre a PCR e o grau de incapacidade dos casos índices, 2013-2015.

	PCR+	%	PCR-	%	Total	%
Grau 0	5	25.0	13	34.2	18	31.0
Grau 1	11	55.0	24	63.2	35	60.3
Grau 2	4	20.0	1	2.6	5	8.6
Total	20	100	38	100	58	100.0

p-valor=0.0786, Qui-quadrado,  $\chi^2=5,1$ , GL = 2

Fonte: pesquisa de campo, 2013-2015.

## 6 DISCUSSÃO

A hanseníase, doença que existe há milênios, é conhecida por apresentar longo período de incubação e devido à dificuldade de se perceber os sintomas nos estágios iniciais da infecção, o seu diagnóstico ainda é postergado. Infelizmente, isso possibilita acentuar as deformidades e incapacidades físicas. Essa dificuldade, ainda hoje, continua sendo um grande desafio para os programas de controle desta doença.

No sentido de contribuir com o diagnóstico precoce de casos novos de hanseníase este estudo investigou a presença do DNA do *M. leprae* em secreção nasal de contatos intradomiciliares e seus casos índices, usando a técnica da Reação em Cadeia de Polimerase.

Na associação entre a Reação em Cadeia de Polimerase em secreção nasal de casos índices com as variáveis sócio-econômicas obteve-se que não houve diferença estatística entre a PCR positiva dos casos índices e o sexo. O resultado positivo da PCR prevaleceu na faixa etária de 40-59 anos e na forma multibacilar, por apresentar maior quantidade de bacilos do que a forma paucibacilar.

Quanto ao número de lesões de pele nos casos índices observa-se que o percentual de PCR positivo foi maior entre aqueles com 7 a 9 lesões. De acordo com BRASIL (2014a) os pacientes com mais de 5 lesões de pele são classificados como multibacilares, o que pode justificar o resultado positivo da PCR.

Com relação ao número de nervos espessados evidencia-se que os resultados positivos de PCR foram mais evidentes nos pacientes que não apresentaram essa alteração, registrando-se uma associação inversamente proporcional. Para Pimentel e colaboradores (2003) os pacientes com nervos periféricos espessados e/ou dolorosos no momento do diagnóstico deverão ser acompanhados rigorosamente, objetivando detecção precoce de neurites, introdução do tratamento medicamentoso e fisioterapia apropriada.

Dos 20 casos índices positivos para a PCR neste estudo, todos apresentaram sinais e sintomas da doença; a maioria era multibacilar e não possuía cicatriz de BCG, ressaltando que o resultado positivo na PCR se mostrou mais incidente nas formas multibacilares e nos pacientes que não haviam recebido a vacina de BCG.

Identifica-se que entre os contatos intradomiciliares, a PCR positiva prevaleceu nas mulheres talvez por serem estas estudantes e não trabalharem fora

do domicílio e, portanto, apresentavam maior disponibilidade em comparecer ao serviço de saúde para o exame; ao contrário dos homens que por exercerem atividades remuneradas tem dificuldades em dispor de horário para cuidar da saúde e durante esta pesquisa demonstraram pouco interesse em serem avaliados, mesmo quando a avaliação ocorria no próprio domicílio. Para Talhari & Neves (1997) os programas de hanseníase devem levar em consideração em seu planejamento o horário de expediente, pois um dos entraves para o não comparecimento dos contatos do sexo masculino aos serviços de saúde foi o horário de atendimento da unidade que conflitava com o horário do trabalho.

Considerando a faixa etária houve predominância neste estudo do grupo de adultos jovens que por terem a ocupação de estudante apresentam maior possibilidade de convívio direto e contínuo com outras pessoas e se dentre estas existirem fontes de infecção da hanseníase aumenta-se a chance desse grupo contrair a doença. De acordo com MOET e colaboradores (2004) o risco de contrair a hanseníase diminui com o aumento da distância física para o paciente.

Sales e colaboradores (2011) encontraram uma forte associação entre os fatores socioeconômicos e os contatos identificados com a doença na primeira avaliação, quando comparado com a associação entre os casos índices, mostrando que os pacientes com baixo nível educacional têm dificuldades em encontrar serviços de saúde adequados e informações.

Neste estudo a PCR positiva foi mais prevalente entre os contatos que tinham a ocupação de estudante e possuíam como escolaridade o ensino médio completo. Estudos realizados por Sales e colaboradores (2011) com os casos índices, indicam que a baixa escolaridade tem aproximação com um baixo nível socioeconômico e estaria associada com o diagnóstico tardio da hanseníase, permitindo um longo período de exposição entre os seus contatos. Diante disso, sugerimos que os serviços de saúde utilizem uma linguagem clara e de fácil entendimento ao tratar com os casos índices e contatos intradomiciliares para que haja sucesso na estratégia de intervenção selecionada para o caso.

A alta taxa de casos índices multibacilares encontrada é preocupante, pois esses indivíduos apresentavam elevada carga bacilar e, portanto, tornando-se de grande importância na manutenção da cadeia epidemiológica da doença na comunidade.

É indiscutível que o risco de transmissão da hanseníase para os contatos intradomiciliares, por contato direto e duradouro com a fonte infectante (JOB *et al*, 2008) torna-se eminente e se eleva quando o caso índice além de ser do tipo MB, que é altamente contagioso e infeccioso, também se encontra sem tratamento. Fine e colaboradores (1997) puderam apresentar em seus estudos, que contatos intradomiciliares residindo com um caso MB conhecido e contatos vizinhos foram associados com um aumento de aproximadamente cinco a oito vezes o risco de adquirir a hanseníase.

Como as vias aéreas superiores constituem a principal porta de entrada e saída do bacilo, investigou-se a presença desses bacilos nas amostras de secreção nasal dos casos índices e contatos intradomiciliares cadastrados nas unidades supracitadas utilizando a técnica de PCR. Como esperado, obtivemos uma alta taxa de PCR positivo (37,2%) entre os MB, corroborando com o estudo anterior de Pontes e colaboradores (2008) quando estiveram analisando amostras de secreção nasal de pacientes do município de Belém e Itaituba, cuja taxa encontrada foi de 41,67%.

Os resultados obtidos entre os casos índices do tipo PB apresentaram uma prevalência mais baixa (26,7%), apenas 4 dos 15 pacientes foram positivos por PCR. Visivelmente, esses dados demonstram que os PB possuem pouquíssimos bacilos também na secreção nasal. Devido ao baixo número de bacilos no organismo, insuficientes para infectar outras pessoas, esses indivíduos não são considerados importantes fonte de infecção, mas precisam ser tratados e acompanhados (BRASIL, 2014).

Entre os contatos intradomiciliares, a PCR positiva foi mais evidente entre os que conviviam com pacientes na forma MB (25,6%) do que aqueles contatos de PB (16,2%), entretanto, a detecção desses indivíduos, tornam-se bastante preocupante, pois não corresponde com os conceitos do Ministério da Saúde de que esses pacientes não tem importância na cadeia de transmissão da doença (BRASIL, 2014). Cabral e colaboradores (2013) investigaram contatos de portadores de hanseníase nas localidades de Crato e Maracanaú no Estado do Ceará, analisando anti-PGL1 e DNA de *M. leprae* em secreção nasal por PCR e detectaram 6,0% de indivíduos positivos entre os contatos intradomiciliares de PB.

Quando se analisou todos os contatos de MB e PB, um total de 37 indivíduos apresentavam sinais e sintomas compatíveis com a hanseníase e desses 20 (54,0%)

foram detectados presença de DNA de *M. leprae* por PCR. Entretanto, foram também detectados 16 indivíduos que só apresentaram PCR positivo, porém sem sinais e sintomas da doença. Isso pressupõe que a técnica da PCR pode auxiliar na detecção do bacilo precocemente, antes mesmo de sua invasão aos troncos nervosos e nervos periféricos.

A associação de dois fatores como presença de sinais e sintomas com PCR positivo é um forte indicativo de que esses indivíduos apresentam sérios riscos para o desenvolvimento da doença. Conforme Cardona-Castro e colaboradores (2008), a detecção precoce de infecção usando a combinação de métodos nos pacientes durante o curso da doença levaria a melhores resultados e à redução da transmissão. Para todos esses casos sugere-se o monitoramento constante desses indivíduos para a descoberta de casos novos, o que preconiza o manual do MS como uma das estratégias para a redução da carga da doença (Brasil, 2014).

Detectou-se também que entre os contatos intradomiciliares de pacientes PB que apresentavam sinais e sintomas da doença, 37,5% dos indivíduos apresentaram DNA de *M. leprae* na PCR. Assim como, entre os que não apresentavam quaisquer sinais e sintomas 10,3% dos contatos tinham PCR positivo. Isso demonstra que provavelmente nessas pessoas já havia ocorrido a invasão do bacilo na mucosa nasal, sem, contudo, atingir a corrente sanguínea e nervos periféricos, ocasionando os sinais e sintomas da hanseníase. O que tudo indica é que dependendo do sistema imunológico de cada um desses contatos, estes poderão ou não vir a desenvolver a doença, devendo também ser alvos de monitoramentos e de medidas profiláticas.

Nos contatos dos MB encontrou-se uma correspondência altamente significativa entre os sinais e sintomas clínicos com a PCR, podendo apresentar boa replicabilidade. Isto indica que, se os contatos vierem a desenvolver a doença, existe maior probabilidade de se reproduzir a mesma forma operacional do caso índice de origem. Enquanto que, para os contatos procedentes de casos PB, apesar de existir uma relação estatisticamente significativa, a reprodutividade foi avaliada como fraca.

O diagnóstico da hanseníase ainda é essencialmente clínico e epidemiológico (BRASIL, 2014), contudo o seguimento da população com alto risco, tal como os contatos intradomiciliares de pacientes MB, seria importante e a realização de exames periódicos com a utilização de outros métodos como a avaliação da resposta imunológica seria útil (CARDONA-CASTRO et al, 2008). Como observado,

12 contatos de pacientes MB durante a avaliação clínica apresentaram sinais e sintomas compatíveis com a doença, no entanto foram negativos para a PCR, possivelmente estes podem ser portadores de outras patologias e devem ser encaminhados ao médico dermatologista para diagnóstico e avaliação por outros métodos de diagnóstico.

Estudo comprova que na avaliação de contatos intradomiciliares de hanseníase foi detectado 11 (3,3%) novos casos da doença baseado na avaliação clínica, os quais foram confirmados pela histopatologia e baciloscopia, enfatizando a importância do exame dos contatos para o diagnóstico precoce (BAZAN-FURINI et al, 2011).

Sem dúvida, exames como a baciloscopia e histopatologia seriam de grande relevância, entretanto constatou-se nesta pesquisa que esses exames estariam disponíveis somente em unidades de referência em hanseníase.

Técnicas de biologia molecular utilizando diferentes marcadores espécie-específicos tem demonstrado ser útil no diagnóstico das formas PB, tanto nos contatos como também nos casos de recidiva (ALMEIDA et al, 2004).

Constatou-se que 123 (79,9%) contatos possuíam cicatriz de BCG e destes 28 (23,0%) foram positivos para a PCR, demonstrando que a vacina de BCG confere alguma proteção contra a doença e dos 31 (20,1%) contatos sem cicatriz de BCG, 08 (25,8%) foram positivos na PCR. Esses 08 contatos estariam no risco maior de contraírem a doença e necessitariam realizar a vacina de BCG, após a avaliação dermatoneurológica e confirmação de que não há sinais e sintomas da doença. Estudo realizado por Guerreiro e colaboradores (2002) com contatos intradomiciliares de hanseníase, sem sinais e sintomas da doença e com antecedentes de vacinação de BCG obteve PCR positivo em 56% e PCR negativo em 37%, indicando também uma determinada proteção da vacinação com BCG contra a doença.

Duppre e colaboradores (2012) identificaram contatos vacinados que contraíram a hanseníase, principalmente procedentes de casos índices MB, sugerindo a existência de infecção subclínica anterior e que se tornou evidente devido à ativação da resposta imunológica induzida pela a vacinação.

Evidenciou-se neste estudo que dos contatos intradomiciliares com antecedentes de vacinação de BCG, 68.2% possuíam apenas uma cicatriz da vacina e correspondia à dose recebida na infância, como recomendação do calendário

básico de vacinação da criança, comprovando que uma dose da BCG confere alguma proteção contra a doença.

Para Sales e colaboradores (2011) em estudos realizados com casos co-prevalentes (contatos diagnosticados com hanseníase na primeira avaliação após o diagnóstico dos casos índices) e casos incidentes de hanseníase a vacina de BCG administrada na infância confere proteção efetiva contra a hanseníase, contudo, pesquisas realizadas por GOULART e colaboradores (2008) sugerem a manutenção nos programas de controle da hanseníase de uma dose adicional de BCG para os contatos intradomiciliares, objetivando a proteção contra a doença, principalmente contra as formas MB.

Estudo realizado por Pinho e colaboradores (2015) mostrou que os resultados positivos de diagnósticos sorológicos e moleculares de contatos intradomiciliares diferem entre os indivíduos vacinados e não vacinados, como também evidenciaram diferença consistente nos sujeitos com duas cicatrizes da vacina BCG.

Com base neste resultado reafirma-se a importância da vacinação de BCG como uma das medidas de prevenção da hanseníase e os serviços de saúde devem se instrumentalizar no sentido de atender esses contatos, inclusive levando em conta a disponibilidade dos mesmos para comparecerem à unidade básica de saúde, aproveitando o momento da consulta de avaliação dermatoneurológica.

O estudo revela que dos 36 contatos positivos para PCR, 20 demonstraram sinais e sintomas da doença, constatando que a identificação do DNA, por PCR, pode contribuir de forma efetiva para a investigação dos contatos com risco de desenvolver a hanseníase e esse grupo seria examinado e acompanhado, com vistas ao diagnóstico precoce e tratamento, como também a introdução de medidas preventivas seria de grande valia para o controle da doença na comunidade.

Constatou-se que os 17 contatos com presença de sinais e sintomas e que foram negativos para a PCR podem ser portadores de outras doenças com sinais e sintomas parecidos com a hanseníase e que durante a avaliação dermatoneurológica apresentaram dificuldades em responder, adequadamente, aos testes de sensibilidade térmica, tátil e dolorosa, interferindo diretamente num dos principais sinais cardinais da doença que é a alteração de sensibilidade e, assim, somente a avaliação dermatoneurológica não é suficiente para elucidar os casos difíceis de diagnóstico e a PCR poderá auxiliar nesses casos.

Nesse sentido, estudos realizados por Moura e colaboradores (2008) demonstraram que 70% dos pacientes com hanseníase são diagnosticados pela presença de manchas de pele com redução de sensibilidade, entretanto 30% dos pacientes, incluindo casos multibacilares não apresentam este sinal.

Quando se avaliou o risco potencial estimado para o desenvolvimento da hanseníase entre os contatos intradomiciliares identificou-se 42 contatos com baixo risco para desenvolver a doença, por apresentarem apenas 01 fator de risco isolado (PCR+ ou sinais e sintomas da doença ou ausência de cicatriz de BCG). No entanto, 22 contatos apresentaram-se com risco intermediário de desenvolver a doença por agregarem 02 fatores de risco simultâneos: (PCR+ positivo e sinais e sintomas; PCR+ e ausência de cicatriz de BCG ou sinais e sintomas e ausência de cicatriz de BCG). Dentre todos os contatos, apenas 06 apresentaram alto risco para a doença por apresentarem os 03 fatores de risco simultâneos (PCR+, sinais e sintomas da doença e ausência de cicatriz de BCG).

Este último grupo seria considerado pelo serviço de saúde como prioritário e merece ser monitorado sistematicamente. Pelos fatores de risco apresentados esses contatos podem ser classificados como portadores de infecção subclínica e poderão constituir-se em importante fonte de propagação da doença na comunidade. Pinho e colaboradores (2015) observaram que as frequências de contatos com o DNA ou anticorpos específicos para o *M. leprae* em áreas hiperendêmicas são semelhantes àsquelas de áreas endêmicas e afirmam que tanto os métodos sorológicos e moleculares são benéficos na identificação de contatos intradomiciliares com infecção subclínica.

Para os 84 contatos identificados neste estudo com ausência dos três fatores de risco e representando risco muito baixo de desenvolver a doença não necessitaria de acompanhamento periódico pelo serviço de saúde, contudo Richardus e colaboradores (2015) sugerem que os contatos intradomiciliares, sem confirmação diagnóstica da doença, sejam submetidos à quimioprofilaxia e imunoprofilaxia para a prevenção da hanseníase, haja vista que a profilaxia foi associada com a redução da incidência da hanseníase nos três primeiros anos após sua implementação.

Recentemente, um efeito imunoprolático adicional foi observado quando a vacina BCG é combinada com rifampicina no tratamento profilático de contatos próximos. Enquanto a proteção com a rifampicina isolada foi estimada em torno de

58%, este efeito protetor aumenta para 80% quando associada com a BCG (LASTÓRIA; DE ABREU, 2014).

A quimioprofilaxia de contatos de doentes de hanseníase com rifampicina em dose única foi incorporada no âmbito do Sistema Único de Saúde – SUS, no segundo semestre de 2015, nos estados de Pernambuco, Mato Grosso e Tocantins por constituírem-se importantes áreas endêmicas no país e seguirão às estratégias de implantação do M.S (BRASIL, 2015a). O protocolo de tratamento estabelecido para adultos consiste em rifampicina 600mg (2 comprimidos de 300mg) em dose única e deverá ser administrada no segundo mês de tratamento ou aproximadamente 4 semanas do início do tratamento dos casos índices (BRASIL, 2015b).

Neste estudo a maioria (93,5%) dos contatos intradomiciliares atestou convívio diário com os casos índices sendo considerado com um fator de risco adicional para a hanseníase e durante o exame dos contatos em seus domicílios observou-se domicílios de pequeno tamanho, com número elevado de pessoas dormindo no mesmo cômodo, com más condições de ventilação e luminosidade, fatores esses que facilitariam a propagação da bactéria e a transmissão da doença intrafamiliar. Estudos realizados por Sales e colaboradores (2011) mostram que o maior fator de risco entre os casos incidentes de contatos de hanseníase é a proximidade com o caso índice.

Ao correlacionar a PCR positiva dos casos índices da forma PB com o tempo de tratamento com a PQT comprovou-se que 26,7% dos contatos foram positivos, sendo que 01 paciente não havia iniciado o tratamento quando a amostra fora coletada e 03 já estavam em tratamento com a PQT: Dois no 2º mês e 01 no 6º mês. Esses 03 pacientes podem ter sido classificados para efeito de tratamento com a PQT, de forma equivocada em PB, em vez de MB e a PCR positiva pode ajudar na correta classificação da doença.

Verificou-se também que nas formas PB à medida que ocorre a evolução do tratamento com a PQT aumenta o resultado da PCR negativo, se apresentando com correlação estatisticamente significativa.

Este estudo revelou que nas formas MB no primeiro mês de tratamento com a PQT, 6/12 (50%) dos pacientes se mostraram negativos para a PCR, entretanto, 6/12 (50%) se mantiveram positivos. Consultando as informações dos prontuários desses pacientes verificou-se que os positivos para a PCR possuíam uma carga

bacilar elevada e pelo resultado do exame de histopatologia realizado em unidade de referência haviam sido classificados como: Hanseníase dimorfa (MHD). Dos 2/5 pacientes entre o 2º e 3º mês de tratamento e positivos para a PCR, 01 tinha registro em seu prontuário de classificação de hanseníase indeterminada (MHI) e o outro não havia registro de exames complementares no seu prontuário. Dos 5/14 pacientes positivos que se encontravam entre o 4º e 6º mês de tratamento apresentavam registros em seus prontuários da seguinte classificação: Três MHD e 01 hanseníase virchowiana (MHV). Um paciente não apresentava registro de exames complementares em seu prontuário.

Segundo Job e colaboradores (2008) a duração do tratamento teve pouco efeito na detecção do bacilo nos primeiros três meses em amostras de pele e de secreção nasal, seja por monitoramento pela baciloscopia ou pelo DNA do *M. leprae* por PCR, no entanto, estudo de acompanhamento dos pacientes MB, tratados por 01 ano com PQT indicou que a maioria dos pacientes atestou negativo para o *M. leprae*, em ambas as amostras de pele e de secreção nasal.

Observou-se que os 02 pacientes positivos no 7º e 9º mês de tratamento pertenciam à classificação MHV e MHD, conforme anotações em seus prontuários. Nota-se neste estudo que nas formas multibacilares houve uma correspondência direta entre o resultado da PCR negativo e o tempo de tratamento dos casos índices com a PQT, sendo a correlação estatística considerada altamente significativa.

Estudo subsequente de acompanhamento realizado por Kampirapap e colaboradores (1998) usando biópsias de pacientes confirmou que o *M. leprae* é rapidamente morto após um mês de tratamento com a PQT, desde os casos MB declinaram por 54,3% e casos PB por 61,8% de taxa de positividade inicial. Mas para Reis e colaboradores (2013) a detecção do DNA em *swab* nasal de contatos reduziu de 4% para 0% quando o caso índice de cada contato intradomiciliar foi tratado por 02 meses, mostrando a eficácia da PQT na redução da infecção recorrente nos contatos intradomiciliares.

Com base neste estudo, o resultado positivo da PCR em portadores de hanseníase em tratamento poderá ser benéfico para o monitoramento da carga bacilar, tanto das formas paucibacilares como multibacilares, bem como fornecer subsídios para avaliar a necessidade de se prolongar ou não o tempo de tratamento para as formas MB e ainda sinalizar casos de pacientes que foram classificados equivocadamente em paucibacilar, em vez de multibacilar.

Este estudo demonstrou que o resultado da PCR não contribui no monitoramento dos pacientes quanto ao grau de incapacidade, contudo, sugere-se que sejam dadas orientações ao doente para a prática regular de autocuidado, devendo realizar regularmente no próprio domicílio e em outros ambientes, durante o tratamento e após a alta, para prevenir incapacidades e deformidades físicas decorrentes da hanseníase. Os pacientes devem ser orientados a fazer a autoinspeção diária e, se necessário, estimulados a usar proteção, especialmente para os olhos, nariz, mãos e pés (Brasil, 2014).

Os resultados deste estudo corroboram que a técnica da PCR em secreção nasal é uma ferramenta importante para auxiliar no diagnóstico precoce da hanseníase e, além de sua eficácia, foi bem aceita pelos pacientes e seus contatos, por utilizar espécimes clínicas de fácil coleta e menos invasivas, quando comparado com outros exames de diagnóstico da doença, contudo, para sua implantação na rotina das unidades de saúde seria necessária uma infraestrutura com equipamentos, reagentes e profissionais habilitados para a execução da técnica, o que geraria custos adicionais.

Por outro lado, os serviços de saúde vinculados ao Sistema Único de Saúde (SUS) não dispõem de infraestrutura adequada para o exame e acompanhamento dos contatos intradomiciliares, observando carência de profissionais de saúde e suporte deficiente de exames complementares de diagnóstico; outros fatores emergindo dos contatos se associam a essas dificuldades como indisponibilidade em comparecerem para avaliação na unidade de saúde, a distância física de unidades de referências, custos de transportes para o deslocamento, se necessário, dentre outros. Por essas razões a redução da prevalência da hanseníase no estado do Pará ainda parece distante de ser alcançada.

## 7 CONCLUSÃO

Diante do resultado do estudo de detecção precoce de portadores de hanseníase entre os contatos intradomiciliares de casos índices de hanseníase, usando a técnica molecular, em combinação com a avaliação dermatoneurológica e em associação com outras variáveis conclui-se que:

- Nos casos índices houve tendência de PCR positiva para: Idade entre 40 a 59 anos, forma MB, 7 a 9 lesões de pele, nenhum nervo espessado, presença de sinais e sintomas e ausência de cicatriz de BCG;
- A tendência de PCR positiva nos contatos foi para: Sexo feminino, idade entre 20 a 39 anos, renda familiar de 1 salário mínimo, ocupação de estudante e ensino médio completo;
- Nos casos índices e nos contatos intradomiciliares a maior prevalência de PCR positivo foi evidenciado nas formas multibacilares, contudo 06 pacientes paucibacilares foram positivos, indicando que a técnica da PCR é uma ferramenta alternativa importante para auxiliar no diagnóstico da doença;
- A PCR positiva em secreção nasal nos contatos intradomiciliares pode melhorar o diagnóstico das formas paucibacilares; diferenciar a hanseníase de outras micoses e dermatoses e detectar o bacilo no organismo antes que os sinais e sintomas sejam manifestados, auxiliando no diagnóstico precoce da doença entre os contatos;
- A PCR positiva em secreção nasal de contatos intradomiciliares procedentes de casos índices MB quando associada aos sinais e sintomas clínicos indica doença ativa;
- A presença de uma cicatriz de BCG confere determinada proteção contra a hanseníase e os contatos sem cicatriz de BCG estariam no maior risco de contrair a doença;

- Contatos intradomiciliares procedentes de casos índices da forma multibacilar ao desenvolverem a doença existe maior chance em se repetir a mesma forma operacional dos seus casos índices;
- A PCR positiva em secreção nasal de contatos intradomiciliares procedentes de casos índices MB, associada à presença de sinais e sintomas de hanseníase pode sinalizar infecção subclínica;
- A PCR positiva da secreção nasal atua como uma ferramenta relevante na identificação de contatos intradomiciliares com fatores de risco de desenvolver a doença;
- Os contatos intradomiciliares que apresentam simultaneamente PCR positiva, sinais e sintomas próprios da hanseníase e ausência de cicatriz de BCG estariam no alto risco de desenvolver a doença;
- Os contatos intradomiciliares positivos para a PCR apresentam sete vezes mais chance de apresentar sinais e sintomas da hanseníase e somente a avaliação dermatoneurológica não é suficiente para diagnosticar os casos mais difíceis, necessitando de testes complementares como a PCR;
- O convívio diário com o caso índice foi um fator de risco adicional encontrado neste estudo;
- Nos casos índices, em ambas as formas PB e MB, à medida que ocorre a evolução do tratamento com a PQT se reduz a prevalência da PCR positiva;
- Não houve relação da positividade da PCR com o grau de incapacidade física;
- A detecção do DNA do *M. leprae* na secreção nasal de contatos intradomiciliares, por PCR, em combinação com a avaliação dermatoneurológica pode melhorar o diagnóstico precoce na hanseníase, contribuindo para a quebra da cadeia de transmissão e para o controle da doença na comunidade.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Elza Carmen de et al. Detection of Mycobacterium leprae DNA by polymerase chain reaction in the blood and nasal secretion of Brazilian household contacts. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 5, p. 509-511, Aug. 2004.

ANGELLUCI, R; SAMPAIO, P; PROTO, R; SATO, L; REHDER, J R. Análise das principais manifestações oculares de pacientes hansenianos nas regiões Norte e Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Oftalmologia**. v.4, nº 66, p236-41, 2007.

AYRES, M; AYRES, M.J; AYRES, D.L; SANTOS, A.S. BioEstat 5.3 - Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. **Sociedade Civil Mamirauá**. MCT - CNPq, 2009.

BAKKER, M.L; HATTA, M; KWENANG, A; FABER, W.R; VAN BEER, S.M; KLATSER, P.R; OSKAM, L. Population survey to determine risk factors for Mycobacterium leprae transmission and infection. **International Journal of Epidemiology**, v. 33, n. 6, p. 1329-1336, 2004.

BANERJEE, S; SARKAR, K; GUPTA,S; MAHAPATRA, P. S; GUPTA,S; GUHA,S; BANDHOPADHAYAY,D; GHOSAL,C; PAINE,S. K; DUTTA,R. N; BISWAS,N; BHATTACHARYA,B. Multiplex PCR technique could be an alternative approach for early detection of leprosy among close contacts-a pilot study from India. **BMC Infectious Diseases**, v. 10, n. 1, p. 1, 2010.

BAZAN-FURINI, R; MOTTA, A.C; SIMÃO, J.C; TARQUÍNIO, D.C; MARQUES, W.J.R; BARBOSA, M.H; FOSS, NT. Early detection of leprosy by examination of household contacts, determination of serum anti-PGL-1 antibodies and consanguinity. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 5, p. 536-540, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Controle da hanseníase**: uma proposta de integração ensino-serviço. Rio de Janeiro: DNDS/NUTES, 1989.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia para o Controle da Hanseníase**. Brasília: Ministério da Saúde, 2002.

A\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde: **Dengue, Esquistossomose, Hanseníase, Malária, Tracoma e Tuberculose**; Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. - 2. ed. rev. - Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 195 p.: il. - (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica, n. 21), pg. 66.

A\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de procedimentos técnicos. Baciloscopia em**

**hanseníase.** Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010.

A\_\_\_\_\_. Casos Novos de Hanseníase por estados e regiões, Brasil, 1990 a 2010. Brasília. Secretária de Vigilância em Saúde, 2011a.

B\_\_\_\_\_. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Sistema Nacional de Vigilância em Saúde: relatório situacional: Pará.** 5. ed. Brasília: Ministério da saúde, 2011b. 36 p. (Série C. projetos, programas e relatórios).

A\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Resolução nº 466/12.** Conselho Nacional de Saúde, 2012.

A\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde: **Sistema de Informação de Agravos de Notificação, 2013.** Disponível em: < [www.saude.gov.br/svs](http://www.saude.gov.br/svs) >. Acesso em: 22 jul. 2015.

A\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância em Saúde / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde.** – Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 812 p.

A\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Portaria nº 32, de 30 de junho de 2015.** Brasília, 2015a.

B\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Quimioprofilaxia de contatos de doentes de hanseníase com rifampicina em dose única:** Relatório de recomendação / CONITEC. Brasília: Ministério da Saúde, 2015b.

BRENNAN, P.J. Skin test development in leprosy: progress with first-generation skin test antigens, and an approach to the second generation. **Leprosy research at the new millennium A workshop sponsored by member organizations of the International Federation of Anti-Leprosy Associations (ILEP).** 2000. p. 50.

BRITTON, W. J; LOCKWOOD, D.N.J. Leprosy. **The Lancet.** v. 363, p. 1209-1219. 2004.

BUHRER-SÉKULA, S; SMITHS, H.L; GUSSENHOVEN, G.C; LEEUWEN, J; AMADOR, S; FUJIWARA, T; KLATSER, P.R; OSKAM, L. Simple and fast lateral flow test for classification of leprosy patients and identification of contacts with high risk of developing leprosy. **Journal of Clinical Microbiology.** 41; 1991-1995, 2003.

CARDONA-CASTRO, N; BELTRÁN-ALZATE, J.C; MANRIQUE-HERNÁNDEZ, R. Levantamento para identificar contatos domiciliares de Mycobacterium leprae infectadas de pacientes de regiões predominantes de lepra na Colômbia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz,** v. 103, n. 4, 2008.

CARDONA-CASTRO, N; BELTRÁN-ALZATE, J.C; ROMERO-MONTOYA, M. Clinical, bacteriological and immunological follow-up of household contacts of leprosy

patients from a post-elimination area-Antioquia, Colombia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 6, p. 935-936, 2009.

CARVALHO, A.P.M; FABRI, A. D. C. O. C; OLIVEIRA, R. C; LANA, F. C. F. Factors associated with anti-phenolic glycolipid-I seropositivity among the household contacts of leprosy cases. **BMC infectious diseases**, v. 15, n. 1, p. 1, 2015.

CASTRO, N.C; ALZATE, J.C.B; HERNANDEZ, R.M. Survey to identify *Mycobacterium leprae*-infected household contacts of patients from prevalent regions of leprosy in Colombia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 4, p. 332-336, 2008.

CHO, S.N; YANAGIBARA, D.L; HUNTER, S.W; GELBER, R.H; BRENNAN, P.J. Serological specificity of phenolic glycolipid I from *Mycobacterium leprae* and use in serodiagnosis of leprosy. **Infection and immunity**, v. 41, n. 3, p. 1077-1083, 1983.

CHO, S.N; BRENNAN, P.J. New biological tools for leprosy surveillance. **International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases**, v. 67, n. 4, p. S59, 1999.

CUSTÓDIO, L. A; SAITO, A; AMARANTE, M. K; FUJITA, T. C; PERIM, A. D. L; COSTA, I. C; FELIPE, I; Jankevicius, S. I. Detection of Lsr2 gene of *Mycobacterium leprae* in nasal mucus. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, n. 3, p. 375-380, 2012.

DAYAL, R; SINHH, S.P; MATHUR, P. P; KATOCH, M. H; NATRAJAN, M. Diagnostic Value of In Situ Polymerase Chain Reaction in Leprosy. **Indian Journal Pediatrics**. 72 (12): 1043-1046. 2005.

DE MATOS HJ; DUPPRE, N; ALVIM, M. F. S; VIEIRA, L. M. M; SARNO, E. N; STRUCHINER, C. J. Leprosy epidemiology in a cohort of household contacts in Rio de Janeiro (1987-1991). **Caderno de Saúde Pública**. 2001. 15:533-542.

DE WIT, M. Y.L; DOUGLAS J.T; McFADDEN J; KLASTSER P.R. Polymerase chain reaction for detection of *Mycobacterium leprae* in nasal swab specimens. **Journal of clinical microbiology**, v. 31, n. 3, p. 502-506, 1993.

DE VRIES, R.R. **Genetic control of immunopathology induced by *M. leprae***. *Am. J. Trop. Hyg.* 1991. v.44, p.12-16.

DONOGHUE, HOLTON J; SPIGELMAN, M. PCR primers that can detect low levels of *Mycobacterium leprae* DNA. **Journal of medical microbiology**, v. 50, n. 2, p. 177-182, 2001.

DÜPPRE, N.C; CAMACHO, L.A; SALES, A.M; ILLARRAMENDI, X; NERY, J,A; SAMPAIO, E.P; SARNO, E.N; BÜHRER-SÉKULA S. Impact of PGL-I seropositivity on the protective effect of BCG vaccination among leprosy contacts: a cohort study. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 6, p. e17111, 2012.

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

FERREIRA, A. M. R. et al. **Hanseníase**: a vigilância dos contatos no município de Belém na perspectiva dos profissionais de saúde e usuários: relatório de pesquisa operacional. Fortaleza, jun, 2009. 13 p.

FINE, P.E.M; STEME, J. A. C; PÖNNIGHAUS, J. M; BLISS, L; SAUL, J; CHIHANA, A; MUNTHALIM; WARNDORFF, D.K. Household and dwelling contact as risk factors for leprosy in northern Malawi. **American journal of Epidemiology**, v. 146, n. 1, p. 91-102, 1997.

FOSS, N.T. Imunologia. In: TALHARI, S; NEVES, R.G. 1997. **Hansenologia**. 3. ed. Manaus, 1997. p.97-102.

GODAL, T; SAMUEL, R.D; MYRVANG, B; SONG, Y.R. Characterization of the cellular immune defect in lepromatous leprosy: a specific lack of circulating mycobacterium leprae-reactive lymphocytes. **Clinical & Experimental Immunology**. Oxford, v. 9, 1973.

GOULART, I.M.B; PENNA, G.O; CUNHA, G. Imunopatologia da hanseníase: a complexidade dos mecanismos da resposta imune do hospedeiro ao Mycobacterium leprae. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 4, p. 365-75, 2002.

GOULART, I. M; SOUZA D. O. B; MARQUES, C. R; PIMENTA, V. L; GONÇALVES, M. A; GOULART, L. R. Risk and protective factors for leprosy development determined by epidemiological surveillance of household contacts. **Clinical and vaccine Immunology**, v. 15, n. 1, p. 101-105, 2008.

GREER, C.E; PETERSON S.L; KIVIA, N.B; MANOS, M. PCR amplification from paraffin-embedded tissues. Effects of fixative and fixation time. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 95, n. 2, p. 117-124, 1991.

GUERRERO, M.I; ARIAS, M.T; GARCÉS, M.T. Desarrollo y aplicación de una prueba de RCP para detectar la infección subclínica por Mycobacterium leprae. **Revista Panamericana de Salud Pública**. 2002.11(4).

GONCALVES, M.C; QUEIROZ, M.F.A; MARTINS, L.C; MOURA, A.A; FRANCO, A.C.A; XAVIER, M. B. Avaliação de testes sorológicos para diagnóstico complementar em hanseníase. **Rev Pan-Amaz Saude**, Ananindeua , v. 5, n. 4, p. 23-28, dez. 2014 .

GUIMARÃES, L.S. **Incapacidade Física Em Pessoas Afetadas Pela Hanseníase: Um Estudo Após Alta Medicamentosa**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Pará, Programa de pós-graduação em neurociência e biologia celular. Instituto de Ciências Biológicas, 2013.

JOB, C. K; JAYAKUMAR, J; KEARNEY, M; GILLIS, T. P. Transmission of leprosy: a study of skin and nasal secretions of household contacts of leprosy patients using PCR. **The American Journal of Tropical Medicine And Hygiene**, v. 78, n. 3, p. 518-521, 2008.

KAMPIRAPAP, K; SINGTHAM, N; KLATSER, P. R; WIRIYAWIPART, S. DNA amplification for detection of leprosy and assessment of efficacy of leprosy chemotherapy. **International journal of leprosy and other mycobacterial diseases**, v. 66, n. 1, p. 16, 1998.

KLATSER, P.R; VAN BEERS, S; MADJID, B; DAY R; DE WIT, M. Y.L. Detection of Mycobacterium leprae nasal carriers in populations for which leprosy is endemic. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, n. 11, p. 2947-2951, 1993.

LASTÓRIA, J.C; DE ABREU, M.A.M.M. Leprosy: a review of laboratory and therapeutic aspects-Part 2. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 89, n. 3, p. 389-401, 2014.

LAVANIA, M; TURANKAR, R.P; KARRI, S.; CHAITANYA, V.S.; SENGUPTA, U.; JADHAV, R.S. Cohort study of the seasonal effect on nasal carriage and the presence of Mycobacterium leprae in an endemic area in the general population. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 19, n. 10, p. 970-974, 2013.

LIMA, C.S.O; GALVÃO, M.H.R; BRITO, F. M; FÉLIX, K. HANSENIASE: Vigilância dos Comunicantes. **Revista de Enfermagem UFPE online**. Recife, 8(5):1136-41, maio, 2014.

MARTELLI, C.M.T; STEFANI, M. M DE; PENNA, G. O; ANDRADE, A.L.S.S. Endemias e epidemias brasileiras, desafios e perspectivas de investigação científica: hanseníase. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, n. 3, p. 273-85, 2002.

MARTINEZ, T.S; FIGUEIRA, M.M.N.R; COSTA, A.V; GONÇAVES, M.A; GOULART, L. R; GOULART, I.M.B. Oral mucosa as a source of Mycobacterium leprae infection and transmission, and implications of bacterial DNA detection and the immunological status. **Clinical Microbiology and Infection**. 2011;17(11), 1653-1658.

MOET, F.J; MEIMA, A; OSKAM, L; RICHARDUS, J.H. Risk factors for the development of clinical leprosy among contacts, and their relevance for targeted interventions **Leprosy Review**. 2004; v. 75, p. 310-326.

MOURA, R.S.DE M; CALADO, K.L; OLIVEIRA, M.L.W.O; BUHRER-SÉKULA. Leprosy serology using PGL-1: a systematic review. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 2008; 41, 11-18.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE - OMS; ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE-OPAS. **Manual para o controle da lepra**. Washington, 1989. P. 48-62.

OPROMOLLA, D.V.A. **Noções de Hansenologia**. ed.1.São Paulo: Centro de Estudos Dr. Reynaldo Quagliato, 2000. p. 101 – 115.

PATROCÍNIO, L.G; GOULART, I. M. B; GOULART, L.R; PATROCÍNIO, J.A; FERREIRA, F.R; FLEURY, R.N. Detection of Mycobacterium leprae in nasal mucosa biopsies by the polymerase chain reaction. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, 2005; 44(3), 311-316.

PIMENTEL, M.I.F; NERY, J.A.C.; BORGES, E.; GONÇALVES, R. R; SARNO, E. N. Initial neurological exam of multibacillary leprosy: correlation between the presence of affected nerves and disability present at diagnosis and with the occurrence of overt neuritis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 2003; 78(5), 561-568.

PINHO, J.D; RIVAS, P.M.S; MENDES, M.B.P; SOARES, R.E.P; COSTA, G.C; NASCIMENTO, F.R.F; PAIVA, M.F.L; AQUINO, D.M.C; FUGUEIREDO, I.A; SANTOS, A.M; PEREIRA, S.R.F. Presence of Mycobacterium leprae DNA and PGL-1 antigen in household contacts of leprosy patients from a hyperendemic area in Brazil. **Genetics and molecular research: GMR**, 2015; 14(4), 14479.

PONTES, A.R.B; ALMEIDA, M.G.C; XAVIER, M.B; QUARESMA, J.A.S; ISHIKAWA, E.A.Y. Detecção do DNA de Mycobacterium leprae em Secreção Nasal. **Revista Brasileira de Enfermagem**. Rio de Janeiro. v.61, n.Especial, 2008.

QUEIROZ, M.S; PUNTEL, M.A. **A endemia hansênica: uma perspectiva multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1997. 120 p.

REIS, E.M; ARAUJO S; LOBATO J; NEVES A.F; COSTA, A.V. Mycobacterium leprae DNA in peripheral blood may indicate a bacilli migration route and high-risk for leprosy onset. **Clinical Microbiology and Infection**, 2013; 20(5), 447-452.

RICHARDUS, J.H; OSKAM, L. (2015). Protecting people against leprosy: chemoprophylaxis and immunoprophylaxis. **Clinics in dermatology**. 2015; 33(1), 19-25.

RODRIGUES, L.C; LOCKWOOD, D. N. Leprosy now: epidemiology, progress, challenges, and research gaps. **The Lancet Infectious Diseases**, 2011; 11(6), 464-470.

1	
---	--

SALES, A. M; DE LEON, A. P; DÜPPRE, N. C; HACKER, M. A; NERY, J. A. C; SARNO, E. N; PENNA, M. L. Leprosy among patient contacts: a multilevel study of risk factors. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, 2011; 5(3), e 1013.

SILVA, J. B. A ex-colônia de hansenianos de Marituba: perspectivas histórica, sociológica e etnográfica. **Papers do NAEA**, n. 234, 2009.

SILVA, A. M; SANTOS, A. L. S; SILVA, R. A. A; SILVA, S. P. C. Relação de contágio entre os contatos intradomiciliares e **Revista de Enfermagem UFPE online** 2011; 1345-52.

SMITH, W.C.S; SMITH, C. M; CREE, L. A; JADHAV; R. S; MACDONALD, M; EDWARD, V. K; OSKAM, L; BEERS, S. V. KLATSER, P. An approach to

understanding the transmission of *M. leprae* using molecular and immunological methods: Results from the MILEP2 study. **International Journal of leprosy and other Mycobacterial diseases**.v. 72, n. 3, p. 269, 2004.

TALHARI, S; NEVES, R,G. **Dermatologia Tropical** – Hanseníase. 3 ed. Manaus: gráfica Tropical, 1997.167p.

VAN BEERS, S.M; IZUMI, S; MADJID, B; MAEDA, Y; DAY, R; KLATSER, P.R. 1994. An epidemiological study of ; by serology and polymerase chain reaction. **International Journal of leprosy and other Mycobacterial diseases**. 62: 1-9.

VIERA, A.J; GARRETT, J. Understanding interobserver agreement: the Kappa statistic. **Family Medicine**. 2005; 37 (5):360-3.

WORLD HEALTH ORGANIZATION.**Chemotherapy of leprosy for control programmes**.Geneva, Technical Report Series, n. 675, 1982.

\_\_\_\_\_. **Leprosy for medical practitioners and paramedical workers**. Geneva: Novartis Foundation for Sustainable Development, 2002.

\_\_\_\_\_. **Global leprosy situation, 2006**. Geneva. Weekly Epidemiological Record. Geneva. 2006. N.32 p. 309-316.

\_\_\_\_\_. **Global leprosy: update on the 2012 situation**. Geneva. Weekly Epidemiological Record.Geneva. 2013. N.35 p. 365-380.

\_\_\_\_\_. **Global leprosy: update on the 2013 situation**. Geneva. Weekly Epidemiological Record.Geneva. 2014. N.36 p. 389-400.

YAMAMURA, M; UYEMURA, K; DEANS, R.J; WEINBERG, K; REA, T.H; BLOOM, B.R; MODLIN, R.L. Defining protective responses to pathogens: cytokine profiles in leprosy lesions. **Science**, 1991; 254(5029), 277-279.

**APÊNDICE A - FICHA EPIDEMIOLÓGICA DOS CONTATOS  
INTRADOMICILIARES E CASOS ÍNDICES**

PROJETO: IDENTIFICAÇÃO DO *Mycobacterium leprae* POR PCR EM SECREÇÃO NASAL DE CONTATOS INTRADOMICILIARES DE PORTADORES DE HANSENÍASE E CASOS ÍNDICES EM ÁREA ENDÊMICA DE BELÉM - PARÁ  
CÓDIGO DA UNIDADE: \_\_\_\_\_

**I-IDENTIFICAÇÃO**

Nº protocolo \_\_\_\_\_

**II- DADOS EPIDEMIOLÓGICOS**

Idade \_\_\_\_\_

Sexo: Masc. (\_\_\_\_) Fem.(\_\_\_\_)

Forma Clínica do caso índice:

( ) Multibacilar ( ) Paucibacilar

Tipo de relação com o caso índice (parentesco ou social)

Tipo de contato com o caso índice (domiciliar ou peridomiciliar)

\_\_\_\_\_  
Tipo de convívio com o caso índice (exposição diária, semanal, quinzenal, mensal)

Endereço

atual: \_\_\_\_\_

Estado \_\_\_\_\_ Município: \_\_\_\_\_ Tempo \_\_\_\_\_ de  
residência: \_\_\_\_\_

Endereço

anterior: \_\_\_\_\_

**II - CONDIÇÕES HABITACIONAIS:**

Tipo de residência: madeira (\_\_) alvenaria (\_\_) enchimento (\_\_) Outros:  
Qual? \_\_\_\_\_

Número de pessoas que moram na casa: \_\_\_\_\_ Quantos  
filhos? \_\_\_\_\_

Número de cômodos da casa: \_\_\_\_\_

Número de pessoas que dormem no mesmo cômodo: \_\_\_\_\_

**III CONDIÇÕES AMBIENTAIS:**

Água de consumo:

Retiradas de: Poço comum ( ) Poço artesiano(\_\_\_\_) Encanada( ) Rios/praias ou lagos

( )

Outros Qual ? \_\_\_\_\_

Tratada com: Filtrada ( ) Com Hipoclorito ( ) Fervida ( ) fervida e filtrada ( )  
 Não tratada ( )

Despejo dos dejetos: Fossa negra ( ) Fossa sanitária ( ) a céu aberto ( ) Outros:  
 Qual? \_\_\_\_\_

Descarte do lixo: Na rua ( ) No canal ( ) No quintal ( ) Enterrado ( ) Coleta  
 pública ( ) Outro: Qual? \_\_\_\_\_

### III - SINAIS E SINTOMAS DERMATONEUROLÓGICOS

	SIM	NÃO
Manchas esbranquiçadas ou avermelhadas:	( )	( )
Pápulas:	( )	( )
Infiltrações:	( )	( )
Tuberculos:	( )	( )
Nódulos:	( )	( )
Hipoestesia:	( )	( )
Anestesia:	( )	( )
Hiperestesia:	( )	( )

### V- SINAIS E SINTOMAS NEUROLÓGICOS

	SIM	Não
Dor e/ou espessamento dos nervos periféricos:	( )	( )
Diminuição e/ou perda de sensibilidade nas áreas destes nervos:	( )	( )
Diminuição e/ou perda da força muscular:	( )	( )
Paralisia e atrofia dos músculos:	( )	( )
Diminuição ou perda da sudorese e lubrificação da pele:	( )	( )

Número de lesões cutâneas: \_\_\_\_\_ Número de troncos nervosos espessados: \_\_\_\_\_

### VI- RESULTADOS DOS EXAMES ESPECÍFICOS:

Baciloscopia: Presença de BAAR ( ) N° de cruzes: \_\_\_\_\_

PRC: \_\_\_\_\_

### VII- AVALIAÇÃO DA CICATRIZ DA VACINA BCG

( ) nenhuma cicatriz ( ) uma cicatriz ( ) duas cicatrizes

## ANEXO A - FORMULÁRIO DE AVALIAÇÃO SIMPLIFICADA – FRENTE

### AVALIAÇÃO SIMPLIFICADA DAS FUNÇÕES NEURAIS E COMPLICAÇÕES

Unidade: \_\_\_\_\_ Município: \_\_\_\_\_ UF: \_\_\_\_\_  
 Nome: \_\_\_\_\_ Data nasc. \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Classificação Operacional \_\_\_\_\_ Nº de Registro \_\_\_\_\_ Ocupação \_\_\_\_\_

FACE	1ª / /		2ª / /		3ª / /	
<b>Nariz</b>	D	E	D	E	D	E
Queixa principal						
Ressecamento (S/N)						
Ferida (S/N)						
Perfuração de septo (S/N)						
<b>Olhos</b>	D	E	D	E	D	E
Queixa principal						
Fecha olhos s/ força (mm)						
Fecha olhos c/ força (mm)						
Triquiase (S/N) / Ectrópico (S/N)						
Dimin. sensib. córnea (S/N)						
Opacidade córnea (S/N)						
Catarata (S/N)						
Acuidade Visual						

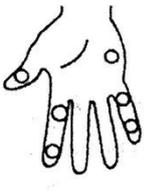
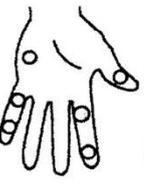
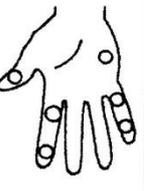
MEMBROS SUPERIORES	1ª / /		2ª / /		3ª / /	
Queixa principal						
Palpação de nervos	D	E	D	E	D	E
Ulnar						
Mediano						
Radial						

**Legenda:** N = normal E = espessado D = dor C = Choque

Avaliação da força	1ª / /		2ª / /		3ª / /	
Abrir dedo mínimo Abdução do 5º dedo (nervo ulnar) 						
Elevar o polegar Abdução do polegar (nervo mediano) 	1ª	/ /	2ª	/ /	3ª	/ /
Elevar o punho Extensão de punho (nervo radial) 						

**Legenda:** F = Forte D=Diminuída P=Paralisado ou 5=Forte, 4=Resistência Parcial, 3=Movimento completo, 2=Movimento parcial, 1=Contração, 0=Paralisado

**Inspeção e Avaliação Sensitiva**

1ª / /		2ª / /		3ª / /	
D	E	D	E	D	E
					

**Legenda:** Caneta filamento lilás (2g) Sente ✓ Não sente X ou Monofilamentos: seguir cores

Garra móvel: M Garra rígida: R Reabsorção:  Ferida: 

## ANEXO A - FORMULÁRIO DE AVALIAÇÃO SIMPLIFICADA – VERSO

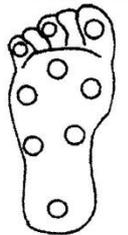
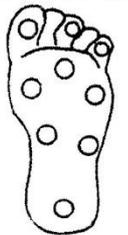
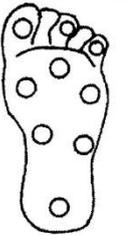
MEMBROS INFERIORES	1ª / /		2ª / /		3ª / /	
Queixa principal						
<b>Palpação de nervos</b>	D	E	D	E	D	E
Fibular						
Tibial posterior						

Legenda: N = normal E = espessado D = dor C = choque

Avaliação da força	1ª / /		2ª / /		3ª / /	
	D	E	D	E	D	E
Elevar o hálux Extensão de hálux (nervo fibular) 						
Elevar o pé Dorsiflexão de pé (nervo fibular) 						

Legenda: F = Forte D=Diminuída P=Paralisado ou 5=Forte. 4=Resistência Parcial, 3=Movimento completo, 2=Movimento parcial, 1=Contração, 0= Paralisado

### Inspeção e Avaliação Sensitiva

1ª / /		2ª / /		3ª / /	
D	E	D	E	D	E
					

Legenda: Caneta filamento lilás (2g) Sente ✓ Não sente X ou Monofilamentos: seguir cores

Garra móvel: M Garra rígida: R Reabsorção: // Ferida: ○

### CLASSIFICAÇÃO DO GRAU DE INCAPACIDADE (OMS)

DATA DA AVALIAÇÃO	OLHOS		MÃOS		PÉS		MAIOR GRAU	ASSINATURA
	D	E	D	E	D	E		
Aval. diagnóstico / /								
Aval. de alta / /								

### LEGENDA PARA PREENCHIMENTO DO GRAU DE INCAPACIDADES

GRAU	CARACTERÍSTICAS
O	Nenhum problema com os olhos, mãos e pés devido à hanseníase
I	Diminuição ou perda da sensibilidade nos olhos Diminuição ou perda da sensibilidade nas mãos e/ou pés. (não sente 2g ou toque de caneta)
II	Olhos: lagofalmo e/ou ectrópio; triquiase, opacidade corneana central; acuidade visual menor que 0,1 ou não conta dedos a 6m. Mãos: lesões tróficas e/ou lesões traumáticas; garras; reabsorção; mão caída. Pés: lesões tróficas e/ou traumáticas; garras; reabsorção; pé caído; contratatura do tornozelo

### MONOFILAMENTOS

COR	Gramas
Verde	0,05
Azui	0,2
Lilás	2,0
Verm. Fechado	4,0
Verm. Cruzado	10,0
Verm. Aberto	300,0
Preto	si/resposta

## ANEXO B-TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

NÚCLEO DE MEDICINA  
TROPICAL-NMT/  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Detecção de Mycobacterium leprae por PCR em swab nasal de contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase em área endêmica da Região Amazônica.

**Pesquisador:** Ana Rosa Botelho Pontes

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 08818612.4.0000.5172

**Instituição Proponente:** Núcleo de Medicina Tropical-NMT/ Universidade Federal do Pará - UFPA

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 178.453

**Data da Relatoria:** 13/12/2012

#### Apresentação do Projeto:

O projeto está bem apresentado, contendo os itens exigidos.

#### Objetivo da Pesquisa:

Os objetivos estão adequados.

#### Objetivo Primário:

Detectar o Mycobacterium leprae por PCR em swab nasal de contatos intradomiciliares de portadores de hanseníase em área endêmica da Região Amazônica

#### Objetivo Secundário:

- Correlacionar sinais e sintomas de contatos intradomiciliares com o resultado da PCR do swab nasal; - Identificar precocemente casos de infecção subclínica de hanseníase em contatos intradomiciliares na área estudada; - Comparar os resultados da PCR do swab nasal de contatos intradomiciliares com os resultados de exames de rotina dos casos índices; - Verificar os prováveis fatores de risco para a alta prevalência da hanseníase nas regiões de estudo.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O item riscos e benefícios também está descrito de maneira adequada.

**Endereço:** Av. Generalíssimo Deodoro, 92  
**Bairro:** Umarizal  
**UF:** PA **Município:** BELEM  
**Telefone:** (91)3201-6857

**CEP:** 66.055-240

**E-mail:** cepbel@ufpa.br

**ANEXO B-TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA – VERSO**

NÚCLEO DE MEDICINA  
TROPICAL-NMT/  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa apresenta relevância científica se propondo a testar um método de diagnóstico para a hanseníase.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O TCLE está descrito de maneira clara e acessível.

**Recomendações:**

Recomendo a aprovação do projeto.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovado

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP: \***

BELEM, 19 de Dezembro de 2012

---

Assinador por:  
Hellen Thais Fuzii  
(Coordenador)

Endereço: Av. Generalíssimo Deodoro, 92

Bairro: Umarizal

UF: PA

Telefone: (91)3201-6857

Município: BELEM

CEP: 66.055-240

E-mail: cepbel@ufpa.br

## ANEXO C – PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DO DNA EM SECREÇÃO NASAL

### Wizard® Genomic DNA Purification Kit

INSTRUCTIONS FOR USE OF PRODUCTS A1120, A1123, A1125 AND A1620.

*Quick*  
PROTOCOL

#### Isolation of Genomic DNA from Whole Blood

Sample Size	Lysis Solution		Protein Precipitation Solution	Isopropanol	DNA Rehydration Solution
	Cell	Nuclei			
300µl	900µl	300µl	100µl	300µl	100µl
1ml	3ml	1ml	330µl	1ml	150µl
3ml	9ml	3ml	1ml	3ml	250µl
10ml	30ml	10ml	3.3ml	10ml	800µl

As little as 20µl can be processed with this system. Please see Technical Manual #TM050, Section 3.C.

#### Red Blood Cell Lysis

- Using volumes from the table above, combine the appropriate volumes of Cell Lysis Solution and blood. Mix by inversion.
- Incubate for 10 minutes at room temperature.
- Centrifuge:
  - ≤300µl sample 13,000–16,000 ×  $g^*$ ; 20 seconds
  - 1–10ml sample 2,000 ×  $g$ ; 10 minutes
- Discard supernatant. Vortex pellet.

#### Nuclei Lysis and Protein Precipitation

- Using volumes from the table above, add Nuclei Lysis Solution and mix by inversion.
- Add Protein Precipitation Solution; vortex for 20 seconds.
- Centrifuge:
  - ≤300µl sample 13,000–16,000 ×  $g^*$ ; 3 minutes
  - 1–10ml sample 2,000 ×  $g$ ; 10 minutes

#### DNA Precipitation and Rehydration

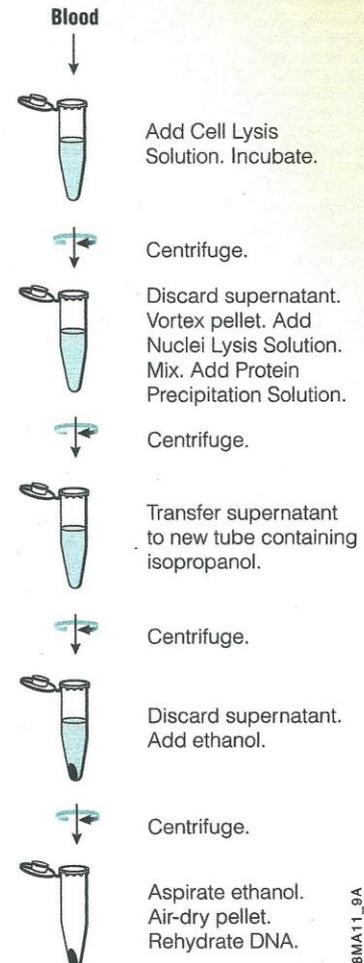
- Transfer supernatant to a new tube containing isopropanol (using volumes from table above). Mix.
- Centrifuge:
  - ≤300µl sample 13,000–16,000 ×  $g^*$ ; 1 minute
  - 1–10ml sample 2,000 ×  $g$ ; 1 minute
- Discard supernatant. Add 70% ethanol (same volume as isopropanol).
- Centrifuge as in Step 9.
- Aspirate the ethanol and air-dry the pellet (10–15 minutes).
- Rehydrate the DNA in the appropriate volume of DNA Rehydration Solution for 1 hour at 65°C or overnight at 4°C.

\*Maximum speed on a microcentrifuge.

Additional protocol information is available in Technical Manual #TM050, available online at: [www.promega.com](http://www.promega.com)

#### ORDERING/TECHNICAL INFORMATION:

[www.promega.com](http://www.promega.com) • Phone 608-274-4330 or 800-356-9526 • Fax 608-277-2601



2818MA11\_9A  
2818MA



**Promega**

Printed in USA. Revised 10/10  
Part #9FB022