



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE, TECNOLOGIA E SOCIEDADE  
MESTRADO EM AMBIENTE, TECNOLOGIA E SOCIEDADE

ISMÊNIA GLAUCE DE OLIVEIRA BARRETO DA SILVEIRA

**PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO, SOROLÓGICO E MOLECULAR DA  
HANSENÍASE EM ÁREA ENDÊMICA POTIGUAR.**

MOSSORÓ

2017

ISMÊNIA GLAUCE DE OLIVEIRA BARRETO DA SILVEIRA

**PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO, SOROLÓGICO E MOLECULAR DA  
HANSENÍASE EM ÁREA ENDÊMICA POTIGUAR.**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Ambiente, Tecnologia e Sociedade do Programa de Pós-Graduação em Ambiente, Tecnologia e Sociedade da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Linha de Pesquisa: Desenvolvimento e Sustentabilidade de Organizações e Comunidades no Semi-Árido

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Ioná Santos Araújo Holanda

Co-orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Michelline do Vale Maciel

MOSSORÓ

2017

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

B587p Barreto da Silveira, Ismênia Glauce.  
PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO, SOROLÓGICO E  
MOLECULAR DA HANSENÍASE EM ÁREA ENDÊMICA  
POTIGUAR. / Ismênia Glauce Barreto da Silveira. -  
2017.  
108 f. : il.

Orientadora: Ioná dos Santos Araújo Holanda.  
Coorientadora: Michelline do Vale Maciel.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal  
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em  
Ambiente, Tecnologia e Sociedade, 2017.

1. Mycobacterium leprae. 2. Transmissão da  
hanseníase . 3. PCR saliva . 4. PCR poeira  
domiciliar. 5. PCR swab nasal. I. Holanda, Ioná  
dos Santos Araújo, orient. II. Maciel, Michelline  
do Vale, co-orient. III. Título.

ISMÊNIA GLAUCE DE OLIVEIRA BARRETO DA SILVEIRA

**PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO, SOROLÓGICO E MOLECULAR DA  
HANSEÍASE EM ÁREA ENDÊMICA POTIGUAR.**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Ambiente, Tecnologia e Sociedade do Programa de Pós-Graduação em Ambiente, Tecnologia e Sociedade da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.


Linha de Pesquisa: Desenvolvimento e Sustentabilidade de Organizações e Comunidades no Semi-Árido

Defendida em: 17/02/2017.

**BANCA EXAMINADORA**

  
\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ioná Santos Araújo Holanda – UFERSA  
Presidente da banca e orientadora

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Francisco Marlon Carneiro Feijó – UFERSA  
Membro interno ao Programa

  
\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Michelline do Vale Maciel – UFRN  
Membro externo à Instituição

Dedico este trabalho a minha avó-mãe,  
Terezinha Maria da Conceição (*In Memoriam*),  
pela dedicação e amor incondicionais, por ser  
meu referencial de vida.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Senhor da minha vida que me permitiu chegar até aqui.

A minha mãe Graça Cardoso, a minha tia-mãe Fátima Cardoso, ao meu avô-pai “Natinho”, que dedicaram suas vidas ao meu crescimento, por todo amor e zelo na criação, pelas orações e por ser meu porto seguro. A minha querida irmã Islaynne Barreto, pelo entusiasmo, pelo apoio e confiança.

Agradeço ao meu esposo Diego Henrique pelo total incentivo e pela compreensão as minhas infundáveis ausências. Aos meus filhos amados João Henrique e Pedro Henrique, razão do meu viver. Sem vocês, tudo isto não teria o mesmo sentido. Somos UM!

A minha orientadora Prof<sup>ª</sup>. Dra. Ioná Santos Araújo Holanda, ser humano iluminado, que me acolheu de forma singular, me entusiasmou, me reinventou dia-após-dia e redimensionou meu conceito de fé. Muito obrigada por todos os ensinamentos que ultrapassaram os limites desta pesquisa e da ciência.

Agradeço a minha querida co-orientadora Prof<sup>ª</sup>. Dra. Michelline do Vale Maciel que acreditou na força da intenção deste projeto desde embrião e que, mesmo distante, se fez presente com contribuições precisas.

Agradeço aos pacientes e usuários da Unidade Básica de Saúde Sinharinha Borges que participaram voluntariamente desta pesquisa, pela receptividade, pela confiança depositada em mim e pela colaboração. Os frutos desta pesquisa são para vocês e para os seus. Muito obrigada!

Agradeço aos funcionários da Unidade Básica de Saúde Sinharinha Borges, em especial aos agentes comunitários de saúde Francisco e Eva Lígia de Oliveira, a técnica em enfermagem Jaqueline e ao enfermeiro Lindemberg Eufrázio, por me ajudarem na busca ativa de doentes, na coleta de material clínico e pelo carinho e zelo com que enfrentaram todo este processo. Esta luta contra a hanseníase é nossa!

Agradeço ao Jorge “Pequeno”, a Diandra Rodrigues, e aos demais amigos que conquistei nos Laboratórios de Ciências Vegetais e Medicina Veterinária da UFERSA, por toda ajuda na árdua rotina laboratorial.

Agradeço ao Prof. Dr. Phillip Suffys (FIOCRUZ) pela doação de insumos e pelas valiosas trocas de informação.

Agradeço a doutoranda Jéssica Ferreira (FIOCRUZ) pelo incentivo constante e pelo exemplo de perseverança.

“Fé na vida, fé no homem, fé no que virá.  
Nós podemos tudo. Nós podemos mais.  
Vamos lá fazer o que será.”

(Gonzaguinha)



## RESUMO

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae* e persiste como grave problema de saúde pública no Brasil. O fato deste micro-organismo ser incultivável dificulta o diagnóstico e elucidação de detalhes da sua cadeia transmissiva. Objetivando analisar a dinâmica de transmissão ambiental da hanseníase, este estudo caso-controlado realizado no Bairro Barrocas, Mossoró/RN, maior *cluster* do estado, confrontou resultados de avaliação clínica, epidemiológica, baciloscópica e sorológica de 22 doentes recém-diagnosticados nas Barrocas, com resultados moleculares de detecção das regiões genômicas específicas RLEP e 16S rRNA deste bacilo nas amostras de *swab* nasal, saliva e poeira domiciliar destes indivíduos e dos seus controles (44 contactantes domiciliares e 44 contactantes endêmicos), entre novembro de 2015 a novembro de 2016. Os indivíduos foram diagnosticados através de busca ativa nos domicílios, nas escolas e na sede da unidade básica de saúde local. Houve maior detecção da doença em mulheres, nos menores de 15 anos, com grau 0 de incapacidade e predominância de formas paucibacilares. Não houve diferença estatística entre o número de cicatrizes vacinais de BCG de doentes e de contatos endêmicos, e 31,8% dos hansenianos não apresentaram cicatriz vacinal. Os dois testes rápidos sorológicos avaliados, ML-flow (IgM ND-O-BSA) e OrangeLife® (IgM e IgG anti NDO-LID 1) apresentaram resultados semelhantes, com maior positividade entre os paucibacilares através deste último (54,5%). Ambos foram superiores à baciloscopia (9,1%). Quanto à pesquisa molecular, a positividade em *swab* nasal e saliva de doentes multibacilares com primer RLEP foi de 16,7% e 33,3%, respectivamente. Não houve detecção de DNA bacteriano na poeira doméstica nem entre os paucibacilares. Já em relação à pesquisa de DNA em saliva de contatos endêmicos de multibacilares, houve 27,2% de positividade. Associando-se resultados moleculares e sorológicos, foi possível identificar 4,5% de subclenicidade e 15% de *status* portador assintomático entre contatos domiciliares. Em relação às variáveis de risco de soropositivar com o teste OrangeLife®, este estudo revelou que residir em moradias com até duas janelas ofereceu 3,79 vezes mais chance de evoluir para este desfecho, ter histórico de casos de hanseníase na família aumentou 2,89 vezes o risco e ter mais de 60 anos de idade conferiu 3,6 vezes mais chances, o que denota exposição prolongada destes indivíduos ao bacilo. Embora sem significância estatística, fez-se notório que o padrão de baixa escolaridade, baixa renda, insalubridade ambiental, aglomeração populacional e hábitos de vida inadequados compuseram um perfil sociodemográfico e epidemiológico que atestou o contexto de vulnerabilidade social da população afetada, exigindo ações integradas de reabilitação que vão além do aspecto físico de suas moradias, pois necessitam contemplar o desenvolvimento humano e social dessas pessoas no seu sentido amplo.

**Palavras-chave:** *Mycobacterium leprae*. Transmissão da hanseníase. PCR saliva. PCR poeira domiciliar. PCR *swab* nasal.

## ABSTRACT

Leprosy is a chronic infectious disease caused by *Mycobacterium leprae* and persists as a serious public health problem in Brazil. The fact that this microorganism is inculcable makes it difficult to diagnose and elucidate details of its transmissive chain. Aiming to clarify the role of house dust in the disease transmission route, this case-control study carried out in the Barrocas, Mossoró, RN, Brazil, the largest cluster in the state, compared clinical, epidemiological, slit skin smear and serological results of 22 newly diagnosed patients of the cluster, with molecular results of detection of the specific RLEP and 16S rRNA genomic regions of this bacillus in the nasal swab samples, saliva and house dust of these individuals and of the controls (44 household contacts and 44 endemic contacts) between november 2015 to november 2016. There was greater detection in women and school-age youth, with degree of disability, with predominance of paucibacillary forms. There was no statistical difference between the number of BCG vaccine scars from patients and endemic contacts, and 31.8% of the patients had no vaccine scar. The two rapid serological tests evaluated, ML-flow and OrangeLife® presented similar results, with a higher positivity among paucibacillary patients through the latter (54.5%). Both were superior to slit skin smear (9.1%). Regarding molecular research, the positivity in nasal swab and saliva of multibacillary patients with primer RLEP was 16.7% and 33.3%, respectively. There was no detection of bacterial DNA in domestic dust or between paucibacillary. Regarding the DNA analysis in saliva of endemic multibacillary contacts, there was 27.2% positivity. Associating molecular and serological results, it was possible to identify 4.5% of subclincity between home contacts and 15% of asymptomatic carrier status. Regarding the risk variables, residing in dwellings with up to two windows offered 3.79 times more chance of progressing to this outcome, having a history of cases of leprosy in the family increased 2.89 times the risk of presenting seropositivity by the OrangeLife® serological test In this community and being over 60 years of age gave 3.6 times more chances of having positive serological reaction for leprosy with the test evaluated, which denotes prolonged exposure to the bacillus. Although not statistically significant, it was noted that the pattern of low schooling, low income, environmental insalubrity, population agglomeration and inadequate living habits made up a sociodemographic and epidemiological profile that attests to the context of social vulnerability of the affected population, requiring integrated actions of rehabilitation that go beyond the physical aspect of their dwellings, since they need to contemplate the human and social development of these people in the broad sense.

**Keywords:** *Mycobacterium leprae*. Transmission of leprosy. PCR saliva. House dust PCR PCR *swab* nasal.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – (a) Microscopia eletrônica de *M. leprae* cultivado em pata de camundongo; (b) Globias de *M. leprae* em histopatológico corado por Ziehl-Nielsen ..... 23
- Figura 2 – Distribuição global de novos casos de hanseníase em 2015..... 28
- Figura 3 – População e taxa de detecção de novos casos de hanseníase por município por 100.000 habitantes (2001-2013) ..... 32
- Figura 4 – Baciloscopia de raspado dérmico: (a) Multibacilar, (b) Paucibacilar. AFB x 100 óleo de imersão ..... 33
- Figura 5 – Representação da variação da resposta imunológica ao longo do espectro da classificação de Ridley; Joplin..... 34
- Figura 6 – Testes rápidos de fluxo lateral OrangeLife® e ML-flow®..... 42
- Figura 7 – Fluxograma de coleta de material biológico e poeira domiciliar..... 55
- Figura 8 – Controle negativo dos testes rápidos ..... 57
- Figura 9 – Produto da extração de DNA de poeira.....59
- Figura 10 – Padrão arquitetônico das casas geminadas, compartilhando paredes e telhado, sem janelas nas laterais, com canal pluvial que carrega esgoto e lixo à frente. Rua Juvenal Lamartine, Barrocas, Mossoró.....75
- Figura 11 – Fluxograma de resultados de positividade de PCR com *primer* RLEP e 16S rRNA nos grupos caso e controle, Barrocas, Mossoró, RN, novembro de 2015 a novembro de 2016.....76
- Figura 12 – Gel de agarose a 1,5% corado com brometo de etídio e submetido à eletroforese. M: marcador de peso molecular de 100pb (Sinapse® Biotecnologia). Canaleta 5: controle positivo com *primer* 16S rRNA. Canaletas 7 e 8: produtos de reação de saliva de dois pacientes multibacilares com *primer* RLEP. Canaleta 9: Controle positivo, *primer* RLEP. Canaleta 10: controle negativo, sem adição de DNA.....77
- Figura 13 – Gel de agarose a 2% corado com brometo de etídio e submetido à eletroforese. M: marcador de peso molecular de 50 pb (Sinapse® Biotecnologia). Canaleta 2: produto de PCR de *swab* nasal de paciente multibacilar, utilizando *primer* 16S rRNA. Canaleta 5: controle positivo. Canaleta 6: controle negativo.....77

Figura 14 – Gel de agarose a 2% corado com brometo de etídio e submetido à eletroforese. M: marcador de peso molecular de 100pb (Sinapse® Biotecnologia). Canaleta 1: produto de PCR de amostra de saliva de contato domiciliar de doente paucibacilar, utilizando *primer* 16S rRNA. Canaleta 7: controle negativo.....77

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	– Taxa de detecção geral de hanseníase por 100.000 habitantes em Mossoró, RN, Brasil, 2005 a 2015.....	31
-----------	--	----

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação das formas clínicas da hanseníase segundo classificação de Madri e classificação operacional do MS do Brasil.....	36
--	----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	–	Distribuição de valores de frequência simples (%) das variáveis referentes aos antecedentes patológicos e queixas alérgicas de indivíduos do grupo-caso (doente) e dos grupos-controle (contato domiciliar e contato endêmico) nas Barrocas, Mossoró, RN, no período de novembro de 2015 a novembro de 2016 .....	64
Tabela 2	–	Valores de média das variáveis relacionadas à aglomeração domiciliar segundo grupo-caso e grupos controle nas Barrocas, Mossoró, RN, no período de novembro de 2015 a novembro de 2016 .....	67
Tabela 3	–	Distribuição de valores de frequência simples (%) das variáveis referentes aos antecedentes patológicos, queixas alérgicas e modo de limpeza doméstica de indivíduos do grupo-caso (doente) e dos grupos-controle (contato domiciliar e contato endêmico) nas Barrocas, Mossoró, RN, no período de novembro de 2015 a novembro de 2016.....	68
Tabela 4	–	Distribuição de valores de frequência simples (%) das variáveis relacionadas aos hábitos de vida em indivíduos do grupo-caso (doente) e dos grupos-controle (contato domiciliar e contato endêmico) nas Barrocas, Mossoró, RN, no período de novembro de 2015 a novembro de 2016.....	70
Tabela 5	–	Valores de frequência simples (%) das variáveis clínicas e sorológicas de hansenianos, contatos domiciliares e contatos endêmicos, Barrocas, Mossoró/RN, novembro de 2015 a novembro de 2016.....	73
Tabela 6	–	Valores de frequência simples (%) dos casos soropositivos para os testes OrangeLife® (n=11) e ML <i>flow</i> (n=08) em hansenianos, de acordo com as variáveis clínicas .....	73
Tabela 7	–	Valores de frequência simples (%) dos casos soropositivos para os testes OrangeLife®, de acordo com as variáveis sociodemográficas, clínicas e epidemiológicas, Barrocas, Mossoró, RN, novembro de 2015 a novembro de 2016.....	74

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACS	Agente Comunitário de Saúde.
Anti- PGL 1	Anticorpo anti-glicolípido fenólico-1
BAAR	Bacilo álcool-ácido resistente
BB	<i>Borderline borderline</i>
BCG	Bacilo de Calmette-Guérin
BL	<i>Borderline lepromatosa</i>
BT	<i>Borderline tuberculosa</i>
CFZ	Clofazimina
CNES	Cadastro Nacional de Estabelecimentos de Saúde
DDS	Dapsona.
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	Técnica <i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i> (imunoensaio enzimático)
ESF	Equipe de Saúde da Família.
HAN	Hanseníase.
HI	Hanseníase indeterminada
IB	Índice baciloscópio
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
IC	Imunidade Celular
IDRI	<i>Infectious Disease Research Institute</i>
IL	Interleucina
INF- $\gamma$	Interferon gama
LAM	Lipoarabinomanana
LL	Hanseníase lepromatosa
LM	Lipomanana
MB	Multibacilar
MDT	Multidrogaterapia
MLPA	Teste de Aglutinação com Partícula de Gelatina
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde
PB	Paucibacilar
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (reação em cadeia da polimerase)
PHA	Teste de Hemaglutinação Passiva



PNL	Hanseníase Neural Pura
PQT	Poliquimioterapia
RFM	Rifampicina.
RNA	Ácido ribonucleico
RT-PCR	Transcriptase Reversa – Reação de Polimerização em Cadeia
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
SIG	Sistema de Informações Geográficas.
SINAN	Sistema Nacional de Notificação e Agravos.
SMS	Secretaria Municipal de Saúde.
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism.</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido
TGF- beta	<i>Transforming growth factor- beta</i> (fator de transformação crescimento beta)
TH1	Linfócitos T helper tipo
TH2	Linfócitos T helper tipo 2
TMM	Monomicolato Trealose
TT	Hanseníase tuberculóide
UBS	Unidade Básica de Saúde.
UFERSA	Universidade Federal Rural do Semi-Árido
VNTR	Número Variável de Repetições em Tandem
WHO	World Health Organization

## LISTA DE SÍMBOLOS

@	Arroba
©	Copyright
®	Marca registrada
%	Porcentagem

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>2 HANSENÍASE</b> .....	<b>22</b>
<b>2.1 A origem da hanseníase e seus agentes etiológicos</b> .....	<b>22</b>
<b>2.2 Reservatórios e modo de transmissão</b> .....	<b>24</b>
<b>2.3 Epidemiologia</b> .....	<b>28</b>
<b>2.4 Imunopatogenia, Diagnóstico Clínico e Classificação</b> .....	<b>32</b>
<b>2.5 Diagnóstico laboratorial</b> .....	<b>38</b>
<b>2.6 Epidemiologia molecular</b> .....	<b>46</b>
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>52</b>
<b>3.1 Objetivo geral</b> .....	<b>52</b>
<b>3.2 Objetivos específicos</b> .....	<b>52</b>
<b>4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS</b> .....	<b>53</b>
<b>4.1 Tipo de pesquisa</b> .....	<b>53</b>
<b>4.2 Local da pesquisa</b> .....	<b>53</b>
<b>4.3 Comitê de ética e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</b> .....	<b>54</b>
<b>4.4 Identificação e perfil dos participantes</b> .....	<b>54</b>
<b>4.5 Coleta das amostras biológicas de seres humanos e de poeira doméstica</b> .....	<b>55</b>
4.5.1 Coleta de raspado dérmico .....	56
4.5.2 Coleta de saliva.....	56
4.5.3 Coleta das amostras de <i>swab</i> nasal .....	56
4.5.4 Coleta de sangue .....	56
4.5.5 Coleta das amostras de poeira domiciliar .....	57
<b>4.6 Realização de entrevistas</b> .....	<b>58</b>
<b>4.7 Extração de DNA</b> .....	<b>58</b>
4.7.1 Extração de DNA em amostras de poeira domiciliar .....	58
4.7.2 Extração de DNA em amostras de <i>swab</i> nasal .....	59
4.7.3 Extração de DNA em amostras de saliva .....	60
<b>4.8 Ensaio de PCR convencional</b> .....	<b>61</b>
<b>4.9 Análise estatística</b> .....	<b>62</b>
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>64</b>
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>79</b>
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>88</b>

<b>7.1 Contribuições e perspectivas futuras.....</b>	<b>88</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>90</b>
<b>APÊNDICE A – COMPROVANTE DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA</b>	<b>101</b>
<b>APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO ...</b>	<b>102</b>
<b>APÊNDICE C – ROTEIRO DE ENTREVISTA .....</b>	<b>104</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O mal de Hansen, lepra ou hanseníase<sup>1</sup> e suas sequelas vêm editando um dos mais sofridos capítulos da história da humanidade (FARIAS; SANTOS, 2015), com evidências de infecção pelo *Mycobacterium leprae* há 4000 aC (SINGH et al., 2014).

Muitos povos antigos atribuíram a esta doença o caráter de maldição, de flagelo social, devido aos escassos conhecimentos sobre a enfermidade e ao seu aspecto mutilante (NEIVA, 2016). Somente em 1873, Dr. Hansen descobriu o patógeno em lesões de pele (KRISHNAN et al., 2015). A partir de então, a lepra recebeu um significado de doença infecciosa. Todavia, a estigmatização dos “leprosos” permanece latente e vitimizando, em especial, os indivíduos menos favorecidos economicamente (GUTHI; AREPALLI; GANAPA, 2016).

Mais de um século se passou e à luz do conhecimento científico atual, a doença ainda é grave problema de saúde pública no Brasil (MARTINS et al., 2016) e persistem grandes lacunas envolvendo essa doença complexa e intrigante, que dificultam a interrupção de sua cadeia de transmissão (DOBARIYA et al., 2017). Todavia, os significativos avanços nas técnicas de biologia molecular nos últimos vinte anos, vêm reformulando conceitos sobre esta infecção e gerando perspectivas de estratégias para seu controle (JAGIELSKI et al., 2016).

A hanseníase é uma doença negligenciada, crônica, granulomatosa, de alta infectividade e baixa patogenicidade em áreas endêmicas, cujo principal agente etiológico é parasita intracelular obrigatório (BOHKARY; PHUNG, 2016). O *M. leprae* figurou como a única causa conhecida da doença até 2008, quando uma nova espécie denominada *Mycobacterium lepromatosis* foi identificada através de técnicas de genética molecular em pacientes virchowianos no México (HAN et al., 2012).

Para efeito desta pesquisa, foram levados em consideração os aspectos relacionados ao *M. leprae*, sobre o qual se baseia a quase totalidade dos estudos científicos. Este patógeno apresenta tropismo por macrófagos na pele e invade as células de Schwann nos nervos periféricos, acarretando perda sensorial, neuropatia periférica e deficiências motoras sequelantes e incapacitantes (SINGH, 2014).

O grau de resposta imune celular do hospedeiro frente ao bacilo de Hansen determina a forma clínica de apresentação da infecção dentro de uma zona espectral e seu diagnóstico é essencialmente clínico e epidemiológico (BRASIL, 2009). Em comum, todas as formas clínicas, apresentam comprometimento neural, acompanhado, ou não, de manifestações

---

<sup>1</sup> Hanseníase é a nomenclatura oficial adotada no Brasil desde 1995, segundo Lei Federal nº 9.010 de 29 de março de 1995.

dermatológicas (MAZINI et al., 2015). E no seu combate, a estratégia terapêutica de maior impacto foi a poliquimioterapia (PQT), preconizada por World Health Organization (WHO) a partir da década de 1960 (WHITE; FRANCO-PAREDES, 2015).

Todavia, apesar dos grandes avanços recentes na cobertura terapêutica e da melhoria do padrão de vida da maioria da população brasileira, a hanseníase continua “intrépida” no seu histórico de prevalência em algumas regiões (MOSSORÓ, 2011). Nestes territórios, os fatores genéticos dos indivíduos acometidos, os aspectos socioeconômicos e operacionais desfavoráveis, além do microambiente biofísico e químico atuam em conjunto na perpetuação da transmissão deste micro-organismo. (SANTOS et al., 2016; MAZINI et al., 2016).

O fato do *M. leprae* ser incultivável *in vitro* e haver poucos animais atuando como reservatórios naturais, somado aos nossos poucos entendimentos de sua viabilidade fora do hospedeiro humano e de sua infectividade, dificultam, sobremaneira, a elucidação dos detalhes sobre o modo e mecanismo de transmissão da doença (DAVIS et al., 2013).

Sabe-se que o contato pessoa-pessoa, principal forma de transmissão da infecção, é capaz de explicar, no máximo 70% dos novos casos numa área endêmica (DARA; GADDE, 2016). É amplamente sabido também, que as áreas de maiores níveis endêmicos se associam à pobreza e a relação direta desta condição socioeconômica com a doença é inquestionável (WHITE; FRANCO-PAREDES, 2015). Contudo, determinadas regiões possuem uma prevalência maior que outras, mesmo considerando as condições socioeconômicas semelhantes ou até mesmo mais favoráveis (ALENCAR et al., 2012; NICCHIO et al., 2016).

A partir dessas evidências, emerge a necessidade de investigar o papel do ambiente na dinâmica de transmissão, que até o momento ainda é especulativo (TURANKAR et al., 2012) e de discutir a heterogeneidade de sua distribuição territorial (NORIEGA et al., 2016).

O município de Mossoró exemplifica este paradigma com maior risco de adoecimento de hanseníase no estado do Rio Grande do Norte (BRASIL, 2017). Pois, a distribuição dos casos é heterogênea, com maior prevalência da doença em dois *clusters* ou bolsões críticos (DIAS et al., 2005, 2007). O maior deles encontra-se no “Grande Santo Antônio” onde se localiza o bairro Barrocas. Neste *cluster*, Queiroz et al., (2010) não encontraram diferença de risco de adoecimento entre contactantes domiciliares e vizinhos de doentes. Logo, todos os moradores da localidade parecem estar expostos a um risco de adoecimento semelhante e esta exposição é precoce, com alta endemicidade entre jovens (MOURA et al., 2013).

Daí surge o questionamento: seria o ambiente um fator de forte relevância na perpetuação da transmissão da doença nesta localidade ou a cadeia transmissiva se perpetua somente pela transmissão pessoa-pessoa nesta área endêmica?

No desenlace desses questionamentos, recentemente, surgiram evidências de viabilidade ambiental do *M. leprae* por até 8 meses (WHEAST et al., 2014).

Assim, considerando que (1) existem doentes não diagnosticados e portadores assintomáticos do bacilo nas áreas endêmicas, os quais são capazes de eliminar estes micro-organismos no ambiente e perpetuar a cadeia de transmissão nestas localidades, (2) que o *M. leprae* permanece viável e infectante no solo e na água em condições ambientais por períodos que variam de dias a meses, (3) que as pesquisas de detecção de DNA bacilar por técnicas de biologia molecular apresentam boa sensibilidade e especificidade, e (4) que os estudos que abordam o binômio soroprevalência-deteção molecular do *M. leprae* no ambiente doméstico e em indivíduos assintomáticos, são recentes e escassos no Brasil, faz-se pertinente investigar a presença do *M. leprae* no ambiente doméstico, nos contatos domiciliares e nos contatos peridomiciliares assintomáticos de hansenianos no referido *cluster*. E, a partir daí, estabelecer correlações clínicas-epidemiológicas-sorológicas-moleculares determinantes de fatores de risco de adoecimento passíveis de intervenção no âmbito da saúde pública.

## 2 HANSENÍASE

### 2.1 A origem da hanseníase e seus agentes etiológicos

A hanseníase humana tem sido documentada em culturas antigas há milênios (HAN; SILVA, 2014; SAXENA; AZAD, 2016). Mas, somente em 1873, o médico Gerhard Henrik Armauer Hansen descreveu um bacilo reto ou ligeiramente encurvado, o *Mycobacterium leprae* ou bacilo de Hansen como agente causal da doença (LASTÓRIA; ABREU, 2014a). Este patógeno figurou por mais de um século como única etiologia da doença. Mas, graças ao sequenciamento de todo o DNA do *M. leprae* em 2001 por Cole e colaboradores houve uma corrida de investigação genômica, que culminou com a descoberta no México em 2008 de outra espécie envolvida, principalmente na forma virchowiana difusa, o *Mycobacterium lepromatosis* (SCOLLARD, 2016).

Baseado em dados publicados recentemente sobre os genomas de *M. leprae* e *M. Lepromatosis*, sobre a evolução dos bacilos da hanseníase, e sobre a própria evolução humana, Han e Silva (2014) descreveram como altamente provável que o parasitismo tenha começado nos primeiros hominídeos há milhões de anos. Isso faz da hanseníase a mais antiga infecção, especificamente humana, que se tem conhecimento até o momento.

Estes dois bacilos do gênero *Mycobacterium* pertencem à classe Schizomycetes, à ordem Actinomycetales e à família Mycobacteriaceae (LASTÓRIA; ABREU, 2014a). Das 155 espécies do gênero *Mycobacterium*, destacam-se ainda o *M. tuberculosis*, patógeno da tuberculose e o *M. avium intracellulare*, importante causa de infecção oportunista em portadores de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA).

À microscopia eletrônica, conforme Figura 1a, o *M. leprae* apresenta-se com formato de hastes ligeiramente curvas ou retas, de 1,5 a 8  $\mu\text{m}$  de comprimento por 0,2 a 0,5  $\mu\text{m}$  de largura, possuem citoplasma, membrana plasmática, parede celular e cápsula (SAXENA; AZAD, 2016).

Tais bacilos apresentam crescimento muito lento, reproduzindo-se binariamente a cada 12 a 14 dias (BOKHARY; PHUNG, 2016) e período de incubação de 2,9 a 5,3 anos. Os sintomas podem levar até 20 anos para aparecer (SAXENA; AZAD, 2016).

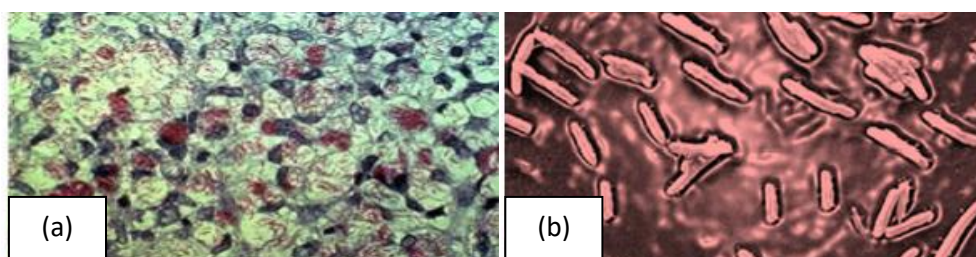
Nos esfregaços, os bacilos podem ser vistos agrupados em arranjo de globias ou isolados, conforme Figura 1 (a) (RIVITTI, 2014).



O *M. leprae* e o *M. lepromatosis* são as únicas espécies do gênero incultiváveis *in vitro*, o que dificulta sobremaneira a pesquisa e o controle da doença. Contudo, o crescimento bacilar de ambas as espécies pode ser induzido a partir do seu cultivo em tatus ou no coxim plantar de camundongos (SIMMER et al., 2015)

O envoltório do *M. leprae* caracteriza-se por uma membrana plasmática revestida por uma camada de peptidoglicano, o qual se liga covalentemente a arabinogalactana. As micobactérias possuem ácidos micólicos em sua parede celular, indispensáveis para a sobrevivência, crescimento e patogenicidade, contribuindo para a resistência intrínseca aos antimicrobianos. Estes ácidos vão se ligar, terminalmente, a arabinose da arabinogalactana formando uma camada que funciona como andaime para que os ácidos micólicos a ela ligados possam exercer um importante papel na imunogenicidade (KOSGEI; YUN-PEN, 2015).

A membrana externa possui uma bicamada lipídica e hidrofóbica capaz de criar uma barreira de permeabilidade externa. A camada externa é composta por polissacarídeos livres, fosfolipídios e pelos glicolipídeos: lipoarabinomanana (LAM), lipomanana (LM), monomicolato trealose (TMM). De todos os lipídios, o mais importante e que dá especificidade imunológica ao *M. leprae* é o glicolipídio fenólico 1 (PGL-1) (LASTÓRIA; ABREU, 2014b).



**Figura 1** – (a) Microscopia eletrônica de *M. leprae* cultivado em pata de camundongo; (b) Globias de *M. leprae* em histopatológico corado por Ziehl-Nielsen.

Fontes: (a) SINGH et al. (2014) e (b) SAXENA;AZAD (2016)

Em relação ao genoma, Cole et al. (2011), sequenciaram os 3,27 Mb do DNA circular do *M. leprae*. O mesmo contém a proporção de G+C de 57,8%, com quase metade do genoma ocupado por pseudogenes, denotando que houve uma extensa redução evolutiva.

Esta singularidade na evolução adaptativa provavelmente tenha moldado o crescimento indolente dos bacilos e levado à evasão progressiva de defesa imunológica humana capaz de explicar a patogênese da doença (WHITE; FRANCO-PAREDES, 2015).

Os genomas de quatro linhagens de *M. leprae* da Índia, Tailândia, Brasil e os EUA já foram sequenciados na década passada e apontaram diferenças clonais de apenas 200 pb, ou 0,005% de 3,3 Mb. Alguns padrões clonais mantiveram relação com as rotas de migração humana durante os últimos 100 mil anos, sugerindo que a hanseníase se originou na África.

Em relação ao genoma do *M. lepromatosis*, da análise de vinte genes e de pseudogenes houve uma diferença total de nucleotídeos de 20,9% de pseudogenes, enquanto que o gene de 16S rRNA, o mais conservado entre bactérias, diferiram em 2% quando comparado ao *M. leprae*. Os resultados das análises filogenéticas sugerem que a maciça evolução reductiva ocorreu no último ancestral comum de ambos os bacilos da hanseníase (HAN; SILVA, 2014).

## 2.2 Reservatórios e Modo de Transmissão

A fonte de infecção e reservatório principal do bacilo é o homem e a forma de transmissão mais efetiva é por contato direto, mas a doença não é exclusiva de seres humanos (NEUMAN et al., 2016).

Por este motivo, a interrupção da cadeia de transmissão é o principal desafio dos programas de controle da hanseníase (MARTINEZ et al., 2011; NORIEGA et al., 2016). Contudo, o entendimento em detalhes desta cadeia complexa persiste como uma das maiores lacunas no conhecimento da doença devido às particularidades dos patógenos envolvidos, o elevado nível de exigência parasitária, a relação com o perfil genético do hospedeiro e a intrigante relação com a evolução humana e com o meio ambiente (WHEAST et al., 2014).

Até os dias atuais não é possível estimar o número de indivíduos que podem ser infectados pelo *M. leprae* a partir de um indivíduo bacilífero; tampouco, estimar quantos deles realmente desenvolverão a doença (SALGADO; BARRETO, 2012).

Importantes considerações podem ser feitas a partir da observação do decréscimo alcançado pela prevalência da doença e o permanentemente alto nível de detecção. Isso pode ser explicado pelo sucesso da aplicação da poliquimioterapia, pela expansão dos serviços de saúde, persistência de indivíduos em estado subclínico nas áreas hiperendêmicas, mas, provavelmente, por outras razões, incluindo fontes ambientais de infecção (WHITE; FRANCO-PAREDES, 2015).

Ainda hoje, poucas pesquisas têm sido dedicadas ao estudo dos reservatórios extra-humanos do *M. leprae*. Truman e Fine (2010), baseados em observações epidemiológicas e

microbiológicas, embasaram os reservatórios ambientais na gênese de aspectos ainda pouco conhecidos sobre a doença, como a distribuição geográfica irregular, flutuação de risco para contatos familiares e ausência de casos secundários entre imigrantes em países livres da doença.

Atualmente, a maior parte da produção científica voltada ao esclarecimento da relação do meio ambiente com adoecimento por hanseníase vem da Índia, Indonésia e Estados Unidos (BRATSCHI et al., 2015).

Estas pesquisas concordam que um dos principais fatores que orientam a transmissão indireta da hanseníase é a viabilidade do *M. leprae* fora do corpo humano. Davis e colaboradores (2013) encontraram em amostras do solo, da vegetação e da água antígenos específicos de micobactérias não cultiváveis, cuja inoculação em animais reproduziu doença semelhante à hanseníase de humanos.

Admite-se ainda que o bacilo de Hansen também possa ser introduzido no corpo humano através da pele lesada (LASTÓRIA; ABREU, 2014a; SAXENA; AZAD, 2016), após picada com agulha contaminada, vacinação com BCG intradérmico e puntura de pele durante tatuagem (BRATSCHI et al., 2015), e, comprovadamente, eliminado no escarro (LIMA et al., 2016).

Além destes, algumas espécies de artrópodes podem se constituir em fonte de infecção ao servirem como vetores mecânicos de bacilos (LASTÓRIA; ABREU, 2014a). Visto que, recentemente, da Silva Neumann e colaboradores (2016), constataram por PCR em tempo real que *M. leprae* permanece viável no trato digestivo do triatomíneo *Rhodnius prolixus* por 20 dias após sua infecção oral.

Em 2015, Goulart e colaboradores publicaram pesquisa realizada em Minas Gerais na qual 1007 amostras de doadores de sangue foram avaliadas quanto aos anticorpos IgM anti-glicolípido 1 (PGL-1) e à presença de DNA de *Mycobacterium leprae*, que apresentaram positividade de 3,8% e 0,3%, respectivamente. Após um período de seguimento de cinco anos, seis destes indivíduos com marcadores positivos desenvolveram hanseníase, reforçando a hipótese de que transfusão sanguínea de sangue de indivíduos com infecção assintomática entre os doadores de sangue pode ser um modo de transmissão de hanseníase.

Dentre outras fontes de transmissão pesquisadas, demonstrou-se ainda a presença de bacilos na água utilizada para ingestão, alimentos e no leite de mães doentes de hanseníase, mas ainda não há evidência direta de transmissão da doença por via digestória (BRATSCHI et al., 2015).

No tocante ao desenvolvimento de quadro patológico, doença naturalmente adquirida, tem sido encontrada em outras espécies de primatas, como chimpanzés e macacos mangabey na África Ocidental (SAXENA; AZAD, 2016) e nas espécies de saguis, *C. jacchus* e *C. penicillata* encontradas no Brasil (HOUSEMAN et al., 2015).

Também com distribuição na natureza, em especial, nas Américas, nove espécies de tatus do sul dos Estados Unidos albergam tal bacilo (TRUMAN et al. 2011; SINGH et al. 2014). Mesmo havendo infecção natural nos tatus norte-americanos, tatu nove bandas ou tatu-galinha (*Dasypus novemcintus*), a tipagem multi *locus* das cepas do *M. leprae* sugere que as bactérias tiveram origem humana até algumas centenas de anos atrás. Assim, os animais provavelmente adquiriram o bacilo de hominídeos americanos. Esta incidental transmissão se manteve na população de tatu, e é agora transmitida de volta para os seres humanos, tornando a hanseníase uma doença zoonótica (TRUMAN et al., 2011; HAN; SILVA, 2014), com relevância no nordeste do Brasil (KERR et al., 2015).

Já no âmbito do rastreamento do *M. leprae* em coleções de água e solo, os estudos da última década vêm firmando estes macro-nichos como fontes de contaminação e reserva bacilar (DE SOUZA VALOIS; CAMPOS; IGNOTTI, 2015).

Adriaty e colaboradores (2010) encontraram sequências similares na repetição do genótipo TTC de *swab* nasal em 61,9% das amostras de doentes da Indonésia; além de 35,3% de similaridade de amostras de pele destes indivíduos; e, em 26,4% das coleções de água onde os doentes e vizinhos foram expostos em banhos e atividades coletivas.

Em estudo de indivíduos que não tiveram contato prévio com doentes também na Indonésia, Wahyuni e colaboradores (2010) demonstraram que o uso de água contaminada, os tornou mais susceptíveis à hanseníase. Estes pesquisadores, por meio de *primers* gene-específicos de 99 pb (LpF-LpK; Lp3-Lp4), encontraram positividade em 24% das amostras de água. E, a partir daí, sugeriram uma provável associação da presença do *M. leprae* na água e transmissão da doença, também documentado por TURANKAR e colaboradores na Índia em 2011.

Neste país, Lavania e colaboradores (2006) fizeram estudos genéticos em Ghatampur, área endêmica de hanseníase, na qual mais de 33,3% das amostras de solo amplificaram DNA de *M. leprae* por PCR<sup>2</sup>. Detectaram a presença de DNA e RNA de *Mycobacterium leprae* em

---

<sup>2</sup> PCR (do inglês, *Polymerase Chain Reaction*) ou Reação de Polimerização em Cadeia é uma técnica de Biologia Molecular que promove replicação de material genético (DNA ou RNA) *in vitro*. O resultado é analisado através de uma eletroforese em gel de agarose ou de poliacrilamida. Quando parte-se da amplificação de RNA, primeiro se complementa a fita simples do RNA através de enzima transcriptase reversa, constituindo

amostras de solo do peridomicílio de hansenianos daquela região em 2008 e investigaram similaridade nos perfis genéticos em amostras de casos da mesma família e em localidades de vizinhança, indicando uma possível fonte comum de infecção. Estes autores sugeriram que a técnica molecular VNTRs, incluindo o subtipo de SNPs, pode ser usado para estudar as fontes e a cadeia de transmissão na hanseníase, o que pode ser muito importante no monitoramento da dinâmica da doença em grandes focos endêmicos (LAVANIA et al., 2015).

Ainda na Índia, Turankar e colaboradores (2015) extraíram DNA a partir de linfa de raspado dérmico de baciloscopia, do sangue de doentes e de solo do peridomicílio destes indivíduos acometidos, a fim de detectar DNA de *M. leprae* com os *primers* gene específicos RLEP, rpoT, Sod A e 16S rRNA. O *amplicon* RLEP foi capaz de detectar a presença de *M. leprae* em 83% das amostras de raspado dérmico, em 100% de amostras de sangue e em 36% de amostras de solo e foi considerado o melhor de todos os alvos moleculares. Observou-se que o *primer* RLEP foi capaz de detectar o maior número de pacientes com baciloscopia negativa (53%).

Em 2014, Wheast et al., apontaram viabilidade de bacilos em cistos de amebas de vida livre (*Acanthamoeba lenticulata*, *A. castellani*, *A. polyphaga* e duas cepas de *Hartmannella*) por até oito meses. Este achado é uma forte evidência de que existe micro nichos ambientalmente sustentáveis para os bacilos semelhantes ao macrófago humano, verdadeiros “cavalos de Tróia”, que permitem manter virulência e infectividade capaz de provocar doença em camundongos.

Ainda com vistas sobre a viabilidade do *M. leprae* no ambiente em Gathampur na Índia, Mohanty e colaboradores (2016) investigaram o peridomicílio de doentes e encontraram positividade por RT-PCR de primer 16S rRNA em 25,6% das amostras de solo, 24,2% das amostras de água e 21,8% de ambas as amostras obtidas nos arredores das residências. Por outro lado, nenhuma amostra colhida no peridomicílio dos indivíduos sadios positivou a RT-PCR para o *amplicon* 16S rRNA do *M. leprae*, indicando não somente a presença, mas também a viabilidade bacilar no momento da análise. No solo, salientaram os autores, onde muitos micro-organismos ocupam o mesmo nicho, há possibilidade de estabelecimento de relações simbióticas ou comensais, proporcionando condições de postergar essa viabilidade do *M. leprae*. Além destas análises, o material foi submetido a sequenciamento gênico com surpreendente presença de clone de *Mycobacterium* não

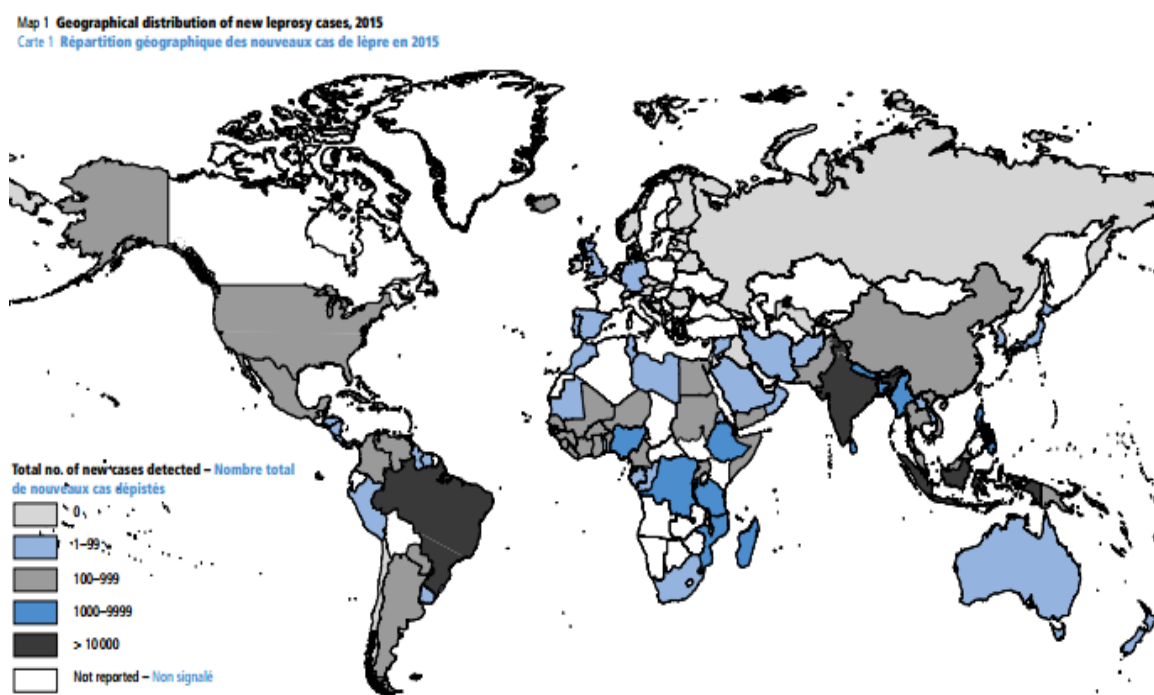
---

um DNA complementar e, em seguida, segue-se com a amplificação por PCR convencional. Esta variante da técnica denomina-se RT-PCR (MOHANTY et al., 2016).

cultivável (JQ374245) e de *Mycobacterium lepromatosis*; além de *M. leprae* Tamil Nadu, *M. leprae* cosmid e *M. leprae* strain.

### 2.3 Epidemiologia

A hanseníase provavelmente teve sua origem na África (CARDONA-CASTRO et al., 2015), já se apresentou dispersa entre os continentes e, atualmente, é mais encontrada em regiões tropicais e subtropicais (TRUMAN et al., 2011). Ao todo, 211.973 casos novos foram registrados globalmente em 2015, o que corresponde a uma taxa de detecção de 2,9/100.000 habitantes, conforme Figura 2 (WHO, 2016).



**Figura 2** – Distribuição global de novos casos de hanseníase em 2015.  
Fonte: WHO (2016)

Como se pode observar na Figura 2, em alguns países em desenvolvimento a hanseníase ainda é considerada um problema de saúde pública em razão de não terem alcançado menos de 1 caso para cada 10 mil habitantes. Encontram-se nesse grupo: Bangladesh, Brasil, Costa do Marfim, República Democrática do Congo, Etiópia, Índia, Indonésia, Madagascar, Moçambique, Myanmar, Nepal, Nigéria, Filipinas, Sri Lanka, Sudão e Tanzânia (WHO, 2016). Estes países emitiram a "Declaração de Bangkok" em 2013,

reafirmando o compromisso, com aumento de recursos destinados a implementação de programas mais eficazes a fim de atingir a meta de "um mundo sem hanseníase" (WHO, 2014). O Brasil ocupa a segunda colocação em casos detectados com 26.395 registros (13 %), sendo precedido pela Índia onde ocorreram 127.326 (60%) (WHO, 2015). Assim, a maioria dos casos novos, ou seja, 81% ocorreram em três países: Brasil, Índia e Indonésia (WHO, 2016).

Na avaliação da WHO, a PQT continua a ser o esteio de controle da hanseníase. Após três décadas de sua introdução, com uma redução drástica da prevalência no mundo em torno de 45%, a PQT fez cair da casa de cinco milhões de doentes em 1980 para a casa dos 174 mil no final de 2015 (WHO, 2016).

Para tanto, muitos planos e estratégias foram traçados neste período. O Brasil, junto a outros países membros da WHO, em 1991, aprovaram a proposta de eliminação da hanseníase como problema de saúde pública no mundo até o ano 2000.

Porém, a agenda prevista para a eliminação desta doença negligenciada não alcançou o objetivo. Em seguida, o Brasil elaborou alguns planos de erradicação seguindo as estratégias propostas pela WHO, sem pleno êxito (BRASIL, 2012; WHO, 2012, 2014, 2016)

Salienta-se que até a conclusão desta revisão, os dados referentes ao ano de 2016 ainda não haviam sido consolidados na base de dados do SINAN.

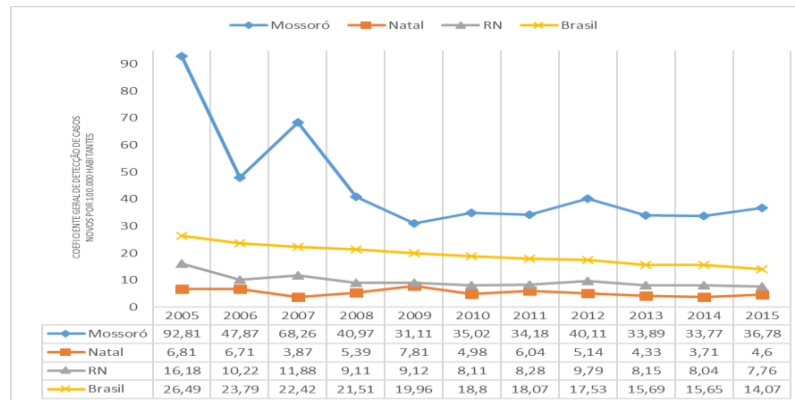
Por último, a Estratégia Global para Hanseníase (2016-2020), "Acelerando rumo a um mundo sem hanseníase", dá ênfase para: (1) o diagnóstico em crianças, mulheres e outras populações vulneráveis; (2) o fortalecimento dos sistemas de referência; (3) a detecção sistemática de contatos domésticos; (4) o monitoramento da resistência aos medicamentos; (5) o esforço para simplificar a conduta terapêutica e (6) a avaliação do papel da profilaxia pós-exposição (WHO, 2016).

A nova meta é alcançar o seguinte resultado até 2020: nenhum caso de incapacidade entre as crianças recém-diagnosticadas.

Seguindo essas estratégias, o Brasil também acompanha a tendência global. A prevalência caiu de 4,7 casos em tratamento por 10 mil habitantes em 2000 para 1,01 em 2015, com uma percentagem de cura anual de 83,5% nos últimos anos (BRASIL, 2016). Destas ações, a redução de casos em menores de 15 anos tem sido prioridade do Programa Nacional de Controle da Hanseníase (BRASIL, 2012). No país, em 2015, foram registrados 2.113 casos de hanseníase em menores de 15 anos e um coeficiente de detecção desse grupo etário de 4,46 por 100.000 habitantes (BRASIL, 2016). Tais resultados refletem circuitos de

transmissão ativos nos territórios endêmicos. PIRES et al., (2012) reforça que, especialmente na faixa etária de zero a cinco anos, indica falta de ações efetivas de educação em saúde.

O Estado do Rio Grande do Norte, como um todo, apresentou comportamento oscilatório e decrescente na incidência da hanseníase nos últimos anos, com desaceleração na queda nos últimos cinco anos, segundo dados do SINAN demonstrados em Gráfico 1.

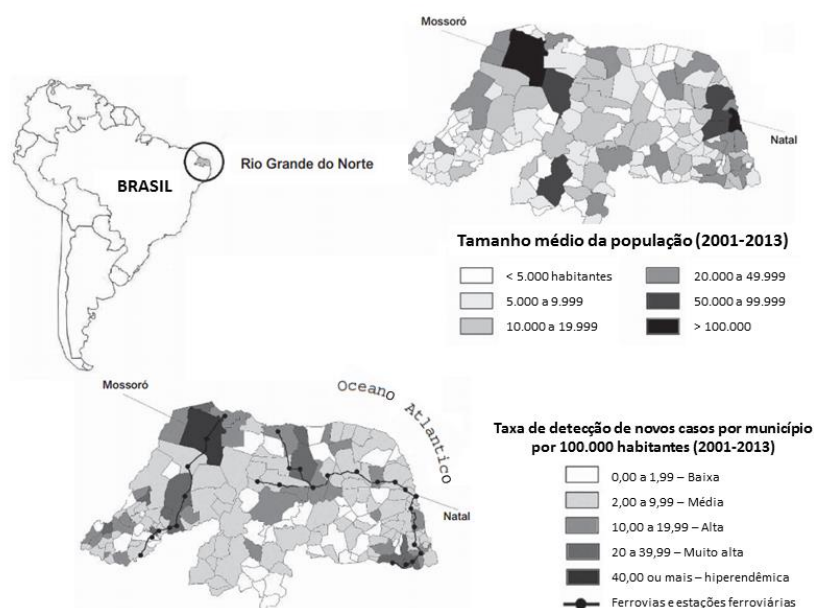


**Gráfico 1** - Taxa de detecção geral de hanseníase por 100.000 habitantes em Mossoró, RN, Brasil, 2005 a 2015.  
Fonte: Autor (2017) a partir de dados do Sinan/SVS/MS acessados em 08/01/2017.

Todavia, não houve homogeneidade na distribuição de casos por municípios. Conforme observamos na Figura 3, existem poucas regiões no território potiguar com altas taxas de detecção, a exemplo da cidade de Mossoró, aonde a incidência chegou a 92,81 casos/100.000 habitantes em 2005 (BRASIL, 2016) e vem se mantendo estável numa classificação muito alta com média de 45,4 casos por 100.000 habitantes por ano de 2001 a 2013, um coeficiente de detecção 7,5 vezes maior do que o restante do estado do Rio Grande do Norte (NOBRE et al., 2015) e bem superior à média nacional (BRASIL, 2017).

O número de casos novos em menores de 15 anos também chama atenção na estatística do Rio Grande do Norte, principalmente nas cidades de Natal e Mossoró, nas quais este coeficiente de detecção vem mantendo-se elevado nos últimos anos (BRASIL, 2016). Neste último município, os casos nesta faixa etária corresponderam a 26,42% de todos os casos diagnosticados no ano de 2015 (BRASIL, 2016).





**Figura 3** - População e taxa de detecção de novos casos de hanseníase por município por 100.000 habitantes, Rio Grande do Norte, Brasil, 2001 a 2013.  
Fonte: Nobre et al., (2015). (adaptado).

## 2.4 Imunopatogenia, Diagnóstico e Classificação Clínica

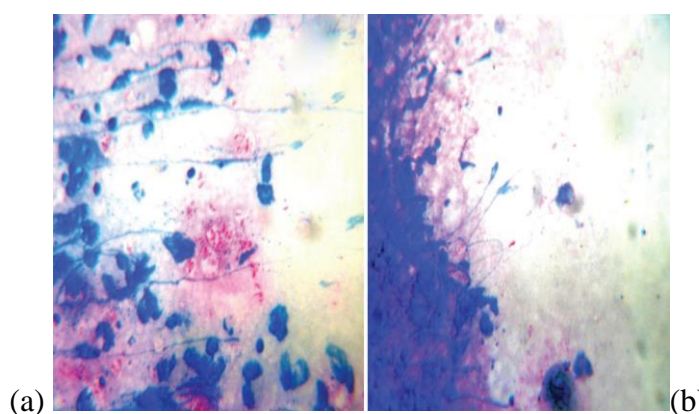
Uma vez que o bacilo entra no corpo, vai para os gânglios linfáticos, onde se dá a primeira fase da infecção (período de incubação). Esta pode durar desde meses a cinco ou mais anos. Então, "uma luta silenciosa" entre o bacilo e o sistema retículo-endotelial é estabelecida. Como resultado: (1) 90-95% evoluem para cura, com destruição total dos bacilos; (2) evolução para as formas clínicas paucibacilares, com destruição parcial do bacilo, por desenvolvimento da imunidade celular insuficiente para removê-lo; e (3) sem a destruição do bacilo pela falha da imunidade celular, a doença ocorre com formas clínicas MB (MORANO et al., 2016).

A indicação inicial de infecção cutânea com *M. leprae* é a multiplicação de bacilos na pele. Inicialmente, há dano focal nos vasos sanguíneos perto do local de entrada de *M. leprae* espalhando-se centripetamente ao longo das fibras de nervos cutâneos e proliferação no interior das células de Schwann, que então liberam bactérias em espaços endoneurais, onde são fagocitados pelos histiócitos (BOHKARY; PHUNG, 2016).

A partir destes aspectos imunopatogênicos iniciais e de interações imunológicas, abre-se um leque clínico de caráter espectral, com diagnóstico eminentemente clínico baseado na apresentação de um dos três principais sinais cardinais: manchas na pele avermelhadas ou

hipocrômicas com hipoestesia, espessamento de nervos e presença de BAAR em esfregaço dérmico ou em amostra de biópsia (VAN HOANG, VAN BUI, PHING, 2016).

A baciloscopia complementa o exame clínico dermatoneurológico ajudando a identificar os pacientes de maior carga bacilar e com maior risco de recidivas (CHAN; SMOLLER, 2016). Esse exame consiste na coleta de material nos lóbulos das orelhas, cotovelos e áreas infiltradas, sendo o material submetido às técnicas tintoriais para BAAR e análise microscópica quantitativa. O resultado é negativo quando nenhum bacilo é encontrado em cem campos analisados. Por sua vez, é dita positiva quando se encontra mais de dez bacilos em cem campos pesquisados (BRASL, 2010). Na Figura 4, observamos a distribuição de micro-organismos na baciloscopia em indivíduos pauci e multibacilares.



**Figura 4** – Baciloscopia de raspado dérmico: (a) Multibacilar, (b) Paucibacilar. AFB x 100 óleo de imersão  
Fonte: Premalatha et al. (2016)

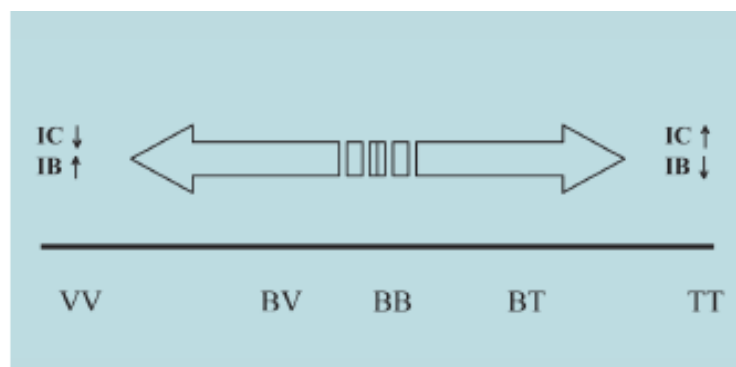
O exame baciloscópico apresenta-se com baixa sensibilidade, principalmente em pacientes paucibacilares, com características tuberculóides, onde os bacilos são raros ou ausentes, pois requer o mínimo de  $10^4$  micobactérias/grama de tecido pesquisado e corado (TURANKAR et al., 2015).

Além da baixa sensibilidade da baciloscopia, outra dificuldade encontrada pelo clínico é o enquadramento nas formas clínicas do imbricado panorama de apresentação clínica, especialmente pelo fato de que em algumas localidades, há escassez de casuística para aprendizado (YAP; KIUNG, 2015).

Em vistas da diversidade de apresentação clínica da hanseníase, a doença tem sido enquadrada em vários sistemas de classificação, sendo mais amplamente difundida na literatura a classificação de 1966 de Ridley; Jopling, que considera os parâmetros imunopatológicos e de carga bacilar, disposta na Figura 5 (DOBARIYA et al., 2017).

Assim, de acordo com a faixa apresentada, os pacientes foram classificados em tuberculóides (TT), borderline-tuberculóides (BT), borderline-borderlines (BB), borderline lepromatosos (BL), lepromatosos (LL) ou indeterminados (HI).

Ridley e Jopling definiram o espectro das formas clínicas a partir do polo tuberculóide, no qual a resposta imune celular é mais intensa e vai progressivamente diminuindo em direção ao polo lepromatoso, com aumento na carga bacilar, maior comprometimento cutâneo e neural e maiores titulações de anticorpos. Ainda segundo estes autores, um hanseniano *borderline* pode desenvolver, ao longo da evolução da doença, características clínicas, bacteriológicas e histopatológicas com tendência a um dos polos do espectro. Se tender para resposta imune celular fará um “*upgrading*” no sentido das formas tuberculóides. Quanto mais fraca a resposta celular, mais tenderá a forma lepromatosa, fazendo o caminho de “*downgrading*”.



**Figura 5** - Representação da variação da resposta imunológica ao longo do espectro da classificação de Ridley Jopling: a imunidade celular (IC) é inversamente proporcional ao Índice Baciloscópico (IB)<sup>3</sup>  
Fonte: Mendonça et al. (2008)

Estes autores definiram o espectro das formas clínicas a partir do polo tuberculóide, no qual a resposta imune celular é mais intensa e vai progressivamente diminuindo em direção ao polo lepromatoso, com aumento na carga bacilar, maior comprometimento cutâneo e neural e maiores titulações de anticorpos. Ainda segundo estes autores, um hanseniano *borderline* pode desenvolver, ao longo da evolução da doença, características clínicas, bacteriológicas e histopatológicas com tendência a um dos polos do espectro. Se tender para resposta imune celular fará um “*upgrading*” no sentido das formas tuberculóides. Quanto mais fraca a resposta celular, mais tenderá a forma lepromatosa, fazendo o caminho de “*downgrading*”.

<sup>3</sup> Legenda: VV - forma clínica Virchowiana; BV, BB, BT – formas clínicas *borderline*; TT – forma clínica tuberculóide.





A forma indeterminada é considerada um estágio inicial da hanseníase e pode evoluir para qualquer um dos polos. Em até 75% destes pacientes, a doença é curada espontaneamente; alguns casos se mantêm nesta forma clínica por longo e imprevisível intervalo de tempo, enquanto outros indivíduos progridem para uma das formas estabelecidas da doença, dependendo da resposta imune do hospedeiro à infecção.

Esta forma clínica ilustrada no Quadro 1 apresenta-se como máculas indefinidas, ligeiramente hipopigmentadas na pele escura e ligeiramente eritematosas na pele mais clara. Ao histopatológico, encontram-se focos de exsudatos celulares inflamatórios, inflamação perineural na região das fibras nervosas mais finas dos plexos dérmicos, predominando linfócitos e histiócitos, com baciloscopia quase sempre negativa. Essas alterações são inespecíficas a menos que se encontrem bacilos BAAR nos nervos, nos músculos eretores do pelo ou subepidermicamente (SAXENA; AZAD, 2016).

Se houver uma resposta imune celular adequada, desencadeada pela interação inicial entre *M. leprae* e histiócitos, resultará na migração da forma indeterminada para TT, a qual se caracteriza por lesões cutâneas e lesões nervosas. Histologicamente, na forma TT há transformação de histiócitos em grupos de células epitelióides, as quais se combinam para formar células gigantes. Os focos dessas células são frequentemente cercados por uma zona de linfócitos e são conhecidos como granulomata epitelióide. Nesta forma tuberculóide, a fagocitose micobacteriana é eficiente e a apresentação do antígeno resulta em resposta imune Th1 do tipo mediado por células. Portanto, poucos, se houver, bacilos BAAR são vistos histologicamente. Os feixes nervosos tornam-se edemaciados pela proliferação de células de Schwann, que se desenvolvem em células epitelióides.

No outro polo do espectro da hanseníase encontra-se a forma lepromatosa (LL). Nela, as lesões cutâneas iniciais são pequenas máculas hipocrômicas com bordas indefinidas que, se não tratadas, formarão pápulas ou nódulos conhecidos como lepromas. Os macrófagos proliferam em lesões LL e podem tornar-se espumosos devido a grande quantidade de material lipídico micobacteriano. Há escassez de linfócitos e na forma avançada da doença, o tecido inflamatório crônico, com células cheias de bactérias domina a derme, enquanto que a zona subepidérmica está livre de infiltrado (KHATIB; KHAIRE, 2017).

**Quadro1-** Classificação das formas clínicas da hanseníase segundo classificação de Madri e classificação operacional do MS do Brasil.

Forma Clínica	Apresentação clínica	Classificação operacional	Baciloscopia
<p><b>Indeterminada</b></p> 	<p>Áreas de hipo ou anestesia, parestesias, manchas hipocrômicas e/ou eritemo-hipocrômicas, com ou sem diminuição da sudorese e rarefação de pelos.</p>	Paucibacilar	Negativa
<p><b>Tuberculoide</b></p> 	<p>Placas eritematosas, eritemato-hipocrômicas, Paucibacilar (PB) até 5 lesões de pele bem delimitadas, hipo ou anestésicas, podendo ocorrer comprometimento de nervos.</p>	Paucibacilar	Negativa
<p><b>Dimorfa</b></p> 	<p>Lesões pré-foveolares (eritematosas planas com o centro claro). Lesões foveolares (eritematopigmentares de tonalidade ferruginosa ou pardacenta), apresentando alterações de sensibilidade</p>	Multibacilar	Positiva ou negativa
<p><b>Virchowiana</b></p> 	<p>Eritema e infiltração difusas, placas eritematosas de pele, infiltradas e de bordas mal definidas, tubérculos e nódulos, madarose, lesões das mucosas, com alteração de sensibilidade.</p>	Multibacilar	Positiva

Fonte: BRASIL (2010); EICHELMAN et al (2013).

Na transição entre os polos TT e LL estão as formas *borderline*, limítrofes, com seus três subgrupos principais: *borderline* tuberculóide (BT), *borderline borderline* (BB), e *borderline* lepromatosa (BL).

O Ministério da Saúde do Brasil adota a classificação de Madri, que define quatro formas clínicas da doença: virchowiana, tuberculóide, dimorfa e indeterminada (Quadro 1). As duas primeiras consideradas polos estáveis e opostos da doença e as outras que são grupos instáveis, com tendência para os outros dois grupos anteriores (BRASIL, 2002).

No Brasil, considera-se um caso de hanseníase, segundo a Portaria 3.125 de 7 de outubro de 2010, a pessoa que apresenta um ou mais dos seguintes sinais cardinais e que necessita de tratamento poliquimioterápico: a) lesão (ões) e/ou área (s) da pele com alteração de sensibilidade; b) acometimento de nervo(s) periférico(s), com ou sem espessamento, associado a alterações sensitivas e/ou motoras e/ou autonômicas; c) baciloscopia positiva de esfregaço intradérmico.

Em relação a este último critério, a baciloscopia dos lóbulos auriculares e/ou cotovelos e lesão representa exame complementar que auxilia no diagnóstico da hanseníase. É considerado um procedimento de fácil execução e de baixo custo, de acordo com o MS pode ser realizada nas seguintes situações: dúvida na classificação operacional para implementação da MDT; para realizar diagnóstico diferencial com outras dermatoses e em casos suspeitos de recidiva.

Após coleta do material (raspado de tecido dérmico) a coloração é feita pelo método de Ziehl-Neelsen e o resultado é fornecido como índice baciloscópico (IB), uma escala logarítmica com variação entre 0 a 6 proposta por Ridley em 1962 (BRASIL, 2010).

Nos pacientes do polo multibacilar, a baciloscopia é positiva, porém no outro extremo, TT, a baciloscopia é por definição negativa. Portanto, um resultado negativo de baciloscopia não exclui o diagnóstico da hanseníase (BRASIL, 2016).

Mas, para fins de tratamento, foi adotada no país a classificação operacional da WHO (1982) que divide os pacientes em paucibacilares (PB) e multibacilares (MB) em concordância com o IB e pelo número de lesões, sendo considerados pauci, casos com até cinco lesões de pele e multibacilares, os casos com mais de cinco lesões de pele. 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; SAXENA; AZAD, 2016).

Conforme já referido, a hanseníase é multifacetada e seu diagnóstico diferencial, bem como de suas reações, por vezes é tarefa difícil, até para o dermatologista experiente, sendo facilmente confundidas com várias dermatoses, tais como: pitiríase versicolor, vitiligo, eczemátides, pitiríase rósea de Gilbert, nevo acromico, eritema polimorfo, eritema nodoso,

eritemas e granuloma anular, apresentações de lúpus eritematoso, eritema solar, alopecia areata, psoríase, farmacodermias, fotodermatites polimorfas, sarcoidose, esclerodermias, neurofibromatose de Von Recklinghausen e até mesmo com a sífilis (GARG; GORGIA; KAKAR, 2016; GUPTA et al., 2016).

Outro grande desafio diagnóstico dessa doença milenar é a forma clínica neural pura. Por isso, todos os casos suspeitos de hanseníase neural pura (PNL); ou seja, aqueles com comprometimento neural, sem lesão cutânea, bem como aqueles que apresentarem alteração sensitiva e/ou autonômica duvidosa e não houver lesão cutânea evidente deverão ser encaminhados para unidades de saúde de maior complexidade para confirmação diagnóstica (BRASIL, 2002).

Em crianças, o diagnóstico da Hanseníase exige exame dermatoneurológico ainda mais criterioso, em virtude da dificuldade de aplicação e interpretação dos testes de sensibilidade e requer a utilização do “Protocolo Complementar de Investigação Diagnóstica de Casos de Hanseníase em Menores de 15 Anos” (BRASIL, 2009).

## **2.5 Diagnóstico Laboratorial**

Embora a hanseníase seja uma doença infecciosa crônica, ela também é considerada uma doença imunológica complexa. Por esse motivo, o diagnóstico clínico da hanseníase continua a ser um desafio, principalmente para os pacientes paucibacilares, porque seus títulos de bacilos são muito baixos, tornando a detecção difícil usando o arsenal laboratorial convencional da baciloscopia em virtude de seu caráter examinador-dependente e de sua baixa sensibilidade (MARTINEZ et al., 2011; SINGH et al., 2014).

Das alternativas de exames complementares disponíveis na prática clínica, destaca-se a biópsia cutânea, que continua a ser o padrão-ouro; todavia é método invasivo, demorado e de difícil acesso em áreas endêmicas e carentes de recursos diagnósticos (DOBARIYA et al., 2017).

O exame histopatológico baseia-se na análise microscópica de biópsias de lesões de pele ou nervos corados pela hematoxilina-eosina ou Fite-Faraco, que coram bacilos álcool-ácido resistentes de vermelho nos cortes de parafina. No exame histopatológico da hanseníase se pesquisa a presença de granulomas, agressão neural, bacilos álcool-ácido resistentes, vasculite na derme e/ou hipoderme, paniculite, infiltrado celular, estratificação e espessamento de tecidos (SCOLLARD et al., 2006).

Outra vertente diagnóstica que vem ganhando espaço é o sorodiagnóstico associado ou não ao diagnóstico molecular, o qual será revisado a seguir.

Sabe-se que um dos maiores entraves para a erradicação da hanseníase é não haver teste laboratorial que detecte todas as formas desta patologia. Mas, alguns biomarcadores de infecção, progressão da doença e eficácia do tratamento foram desenvolvidos a partir do isolamento do glicolípido fenólico-I (PGL-I) da parede celular de *M. leprae*, um antígeno específico, cuja magnitude da resposta imunológica estabelece forte correlação com índice baciloscópico (STEFANI et al, 2012; HOOIJ et al., 2016).

Além destes atributos, a sorologia tem potencial de ser utilizada para ajudar a classificar os doentes para fins de tratamento, identificar os contatos saudáveis relacionados a um doente que têm maior risco de desenvolver a doença (BARRETO et al., 2015); além de prever o risco de recorrência de doença em um indivíduo em tratamento (DUARTE-CUNHA et al., 2015).

Os estudos iniciais da vasta seara do antígeno PGL-1 descreveram apenas a sua forma nativa cultivada em pata de tatu ou camundongos (FABRI et al., 2015). Contudo, posteriormente, derivados sintéticos neoglicolipídicos foram produzidos, dentre eles: 20 trissacarídeo natural-fenol-BSA (NT-P-BSA), monossacarídeo-octil-BSA (M-O-BSA), dissacarídeo-BSA (D-BSA), dissacarídeo natural-octil-BSA (ND-O-BSA) e dissacarídeo natural-octil-HSA (ND-OHSA) (DUTHIE et al., 2016; FREITAS et al., 2016).

A partir daí, vários ensaios foram desenvolvidos com o PGL-1 e seus derivados miméticos para detectar a presença de anticorpos das classes de imunoglobulinas IgM, IgG e IgA, utilizando as técnicas *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), teste de hemaglutinação passiva (PHA), teste de aglutinação com partícula de gelatina (MLPA), dipstick e teste de fluxo lateral (KUMAR; PARKASH; GIRGHAR, 2014).

Ao longo desse percurso de investigação antigênica, muitas foram as ponderações a favor das sorologias. Tanto que Fabri e colaboradores (2016) destacaram que, quando usadas como base para a seleção do regime de PQT, os testes anti-PGL-I são capazes de reduzir o dano nervoso e as incapacidades físicas associadas. Tal assertiva se explica no fato dos pacientes com função nervosa comprometida, tipicamente, terem altos níveis de IgM e IgG anti-PGL-I. Por seu turno, a associação entre títulos elevados de anticorpos e danos nos nervos destaca a necessidade de detectar e tratar indivíduos sorologicamente positivos o mais rapidamente possível, sob a grande possibilidade, também, de evolução para episódios reacionais.



Estudo recente de Barreto et al. (2015), numa coorte de seguimento de dois anos, avaliou 254 indivíduos testados sorologicamente com o ELISA anti PGL-1, no Pará. Foi identificado que 22,3% e 9,4% dos indivíduos previamente soropositivos e soronegativos, respectivamente, desenvolveram hanseníase ( $p=0,027$ ), com relato de significativa ascensão dos títulos anti- PGL-1 ( $p < 0,001$ ) antes do adoecimento. Os autores concluíram que a chance de desenvolver hanseníase nos soropositivos foi 2,7 vezes maior que os negativos.

Penna e colaboradores (2016) realizaram uma revisão sistemática de todos os estudos de coorte, que classificaram os contatos saudáveis de hanseníase de acordo com a positividade anti-PGL1, e tiveram pelo menos um ano de seguimento. A meta-análise concluiu que, embora estes autores tenham encontrado uma associação clara e consistente entre positividade ao anti PGL-1 e desenvolvimento de doença em contatos saudáveis, a seleção de contatos para profilaxia baseada na resposta Anti PGL1 perderia mais da metade dos futuros casos de hanseníase. Neste estudo, PGL1 parece não ser um teste útil na decisão de quais contatos devem receber quimioprofilaxia.

Embora a maioria dos estudos sorológicos utilize o PGL-1 como substrato, novos antígenos do *M. leprae* vêm sendo pesquisados e descritos, no sentido de melhorar a sensibilidade e especificidade nas diferentes apresentações da hanseníase. Nesse sentido, proteínas recombinantes de potencial sororreativo, como ML0405, ML0308, ML2331, ML0678, ML0757, ML2177, ML2224, ML2498 e proteínas de fusão foram identificadas e testadas (HUNGRIA et al., 2012). Por sua vez, dentre essas proteínas, duas se destacaram, as proteínas ML0405 e ML2331, que isoladamente, demonstraram alta especificidade contra o bacilo de Hansen em áreas hiperendêmicas do Brasil (DUTHIE et al., 2014).

De grande importância e representatividade para esta pesquisa são os resultados da coorte realizada no estado do Rio Grande do Norte, entre 2005-2014 e, detalhadamente, descrita a seguir. Nela, Amorim e colaboradores (2016) recrutaram 96 doentes de dois centros de referência de hanseníase, 183 contatos de PB e 167 contatos de MB. Foram utilizadas amostras de soro de pessoas residentes na área endêmica, mas sem história de contato com um caso de hanseníase, como controle endêmico e anticorpos para LID-1 e LID-NDO foram detectados por imunoenensaio enzimático (ELISA).

Conforme esperado, a magnitude das respostas de anticorpos variou de acordo com a classificação operacional dos pacientes (como PB ou MB). Um subgrupo de contatos domiciliares ( $n = 332$ ) vivendo na área hiperendêmica de Mossoró (recrutado de 2006 a 2008)

foi acompanhado por 7 a 10 anos, a fim de identificar os contatos domiciliares que se tornaram casos de hanseníase nesse intervalo de tempo.

Entre estes contatos, 3,6% desenvolveram hanseníase, sendo que 25% destes que adoeceram ao longo da coorte apresentaram respostas de anticorpos detectáveis contra LID-1 e 33,3 tiveram respostas contra LID-NDO, já no momento inicial do recrutamento. Estas percentagens de positividade foram aproximadamente o dobro das percentagens observadas para todos os demais contatos domiciliares recrutados no estudo (LID-1 = 11,9% e LID-NDO = 17,8%). Outro dado importante é a probabilidade de um contato domiciliar com sorologia positiva para desenvolver hanseníase foi de 8,3% para LID-1 ou 10,4% para LID-NDO.

Para ambos os antígenos, os doentes MB apresentaram níveis mais elevados de anticorpos em comparação com todos os outros grupos. A sensibilidade do ELISA para o diagnóstico de casos de MB na população endêmica foi de 89% para LID-1 e 95% para LID-NDO; enquanto a especificidade foi de 96% para LID-1 e 88% para LID-NDO.

A despeito de tamanha diversidade antigênica, aplicar todos estes antígenos em testes ELISA na seara da saúde pública não é de fácil acessibilidade nas áreas endêmicas carentes; onde é imperativo celeridade no diagnóstico. Assim, a fim de melhor compreender a extensão da infecção de *M. leprae* e identificar novos casos de hanseníase em tempo hábil, são necessárias ferramentas simples que possam detectar a infecção e a doença precocemente (WEN et al., 2014).

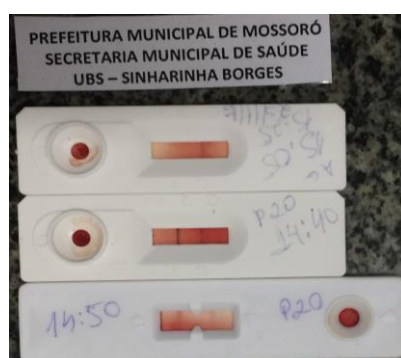
Na busca de preencher estes requisitos, foram lançados no mercado laboratorial os testes que utilizam imunocromatografia de leitura rápida, como o teste *ML Flow* (IgM ND-O-BSA), e, mais recentemente, outro teste produzido pela parceria da empresa brasileira Orange Life® com o Infectious Disease Research Institute (IDRI), instituto de referência localizado em Seattle nos EUA, que desenvolve e disponibiliza antígenos, utilizando-se do antígeno dissacarídeo (ND-O) associado com uma proteína recombinante específica do *M. leprae*, a LID-1 (associação das proteínas ML0405 e ML2331).

Por serem os únicos testes de fluxo lateral disponíveis no mercado, pela rapidez e facilidade de execução em campo com amostras de sangue total e fresco, ambos foram utilizados nesta pesquisa.

O teste rápido de fluxo lateral (*ML-flow*®) para anticorpos anti PGL-1 do *M. leprae*, demonstra que a presença desses anticorpos (ND-O-BSA IgM) é diretamente proporcional à intensidade de exposição do indivíduo à carga bacilar. Assim, títulos maiores são encontrados em multibacilares e menores nos paucibacilares. Porém, existe a limitação de nem sempre ser

detectado em pacientes PB e em casos muito recentes de hanseníase (SIMON et al., 2011). Outra limitação é a incapacidade sorológica de distinção de infecção subclínica e doença propriamente dita (SINGH et al., 2014).

A despeito destas limitações, o teste do Fluxo Lateral *ML-flow*® cumpre seu papel em pacientes e seus comunicantes, com a classificação correta das formas clínicas destes indivíduos para um tratamento adequado, evitando subdoses terapêuticas e recidivas (DÜPPRE et al., 2012). Tecnicamente, o *ML-flow*® é considerado negativo se houver ausência de uma linha na zona de teste e a presença de apenas uma linha de controle (Figura 6).



**Figura 6** - Resultados de testes rápidos de fluxo lateral OrangeLife® e *ML-flow*®<sup>4</sup>  
Fonte: Autor (2016).

De relevância para aplicabilidade na rotina clínica de um teste de rastreio é sua praticidade de uso. Para tanto, testes utilizando sangue fresco são mais aceitos. Por isto, estes últimos autores realizaram os testes *ML Flow* no Brasil e no Nepal, com sangue total e com soro, comparando-os. Em uma comparação intra-teste, não houve diferenças estatisticamente significativas entre nenhum dos grupos quando o teste *ML Flow* foi usado com sangue total ou soro, indicando que tanto um quanto o outro são utilizáveis. Estes resultados são consistentes com estudos anteriores que mostraram uma correlação muito forte entre os resultados de sangue total e soro (STEFANI et al., 2012).

Com vistas na importância da correlação do exame do contato combinando sorologia e avaliação de vacinação de BCG como importante estratégia para o controle de hanseníase, Düppre et. al, (2012) conduziram longa coorte no Rio de Janeiro de 1987 a 2007. Nesta, avaliaram as sorologias ELISA anti-PGL-1, *ML-flow*® e ML-dipstick em 2135 contatos domiciliares de hansenianos, dos quais 16% foram soropositivos. Por sua vez, 79% dos

<sup>4</sup> Os dois disquetes superiores são do kit OrangeLife®; sendo o primeiro negativo, com apenas a linha controle corada; o do meio, positivo para o antígeno NDO-LID-1, com as linhas teste e controle coradas. O disquete inferior, do kit *ML-flow*®, positivo para antígeno NT-P-BSA, com as linhas teste e controle coradas.

indivíduos deste subgrupo apresentavam cicatriz de vacina BCG, dos quais 4,8% evoluíram para a forma PB e nenhum para a forma MB. Já entre os soropositivos e sem cicatriz de BCG, a evolução foi de 7% para a forma PB e 5,5% para a forma MB. Já entre os 84% dos indivíduos que foram soronegativos, os indivíduos não vacinados corresponderam a 17% e deste subgrupo 3,6% evoluíram para casos PB e 0,7% evoluíram para MB. Nesse estudo, a concordância entre ELISA e *ML-flow*® foi de 91% e de ELISA e ML-dispstick foi de 97,2%.

O outro teste rápido disponível no mercado, o kit OrangeLife® (OL), guarda muitas semelhanças na técnica de execução com o anterior; diferindo, primordialmente, nos antígenos de reconhecimento e na possibilidade deste último teste ter sua leitura realizada por meio de aplicativo de *smartphones*, reduzindo o viés de leitura examinador dependente.

Quanto ao quesito variação antigênica, nota-se que o teste rápido *ML-flow*® e o ELISA anti-PGL-1 apresentam como alvo antigênico tri- ou dissacarídeos, NTP e NDO, respectivamente (STEFANI et al, 2012). Já o teste rápido OL, utiliza além deste último dissacarídeo, a proteína de fusão quimérica IDRI (LID-1), um antígeno reconhecido especificamente nos soros de pacientes com hanseníase em populações geograficamente e etnicamente diversas, com uma correlação direta entre sororreatividade e índice baciloscópico (DUTHIE et al., 2014).

Um aspecto favorável decorrente desta maior abrangência antigênica é que o teste é capaz de detectar anticorpos IgM específicos para PGL-I e IgG para LID-1 ao mesmo tempo (FABRI et al., 2016).

Com relação a estudos envolvendo a associação de antígenos no diagnóstico da hanseníase, Cardoso et al. (2013), realizaram um estudo em Goiânia/GO com 441 indivíduos, utilizando o teste rápido contendo o NDO-LID-1. Identificaram que o novo teste obteve sensibilidade de 87% e especificidade de 96,1% em pacientes multibacilares. A sensibilidade do teste em detectar multibacilares e paucibacilares foi de 87% e 21,2%, respectivamente, acima dos parâmetros obtidos com o teste ELISA que foi de 83,3% e 15,4%. Em contatos intradomiciliares, a positividade relatada foi de 2,7% com ELISA e 5,3% com o NDO-LID-1.

Outro estudo comparativo entre o teste rápido NDO-LID (OL) e *ML-flow*® (considerado padrão nesta análise) foi desenvolvido nas Filipinas por Duthie et al., (2014) para avaliar o desempenho do teste serológico NDO-LID. O teste NDO-LID detectou maiores proporções de MB e PB (87% e 32,3% no NDO-LID) que no *ML-flow* (81,7% e 6,5%, respectivamente); além de especificidade superior (97,4% e 90,4%, respectivamente). Juntamente com um novo aplicativo leitor de teste em *smartphones*.

Wen et al. (2014) avaliaram o desempenho de ELISA, do teste rápido NDO-LID 1 e do antígeno específico de sangue total como potenciais ferramentas de diagnóstico em população chinesa. O desempenho do teste rápido NDO-LID foi satisfatório, com positividade em 95% dos 20 pacientes MB e 63,6% para os 11 PB. De modo que NDO-LID-1 demonstrou a maior taxa de detecção de pacientes com hanseníase PB entre os três testes. Estes dados indicam uma melhoria da capacidade de detecção do formato de fluxo lateral em relação ao ELISA convencional para detectar a doença através de IgM anti ND-O-BSA, IgG anti-LID1 e da associação de ambos.

Em Minas Gerais, Fabri e colaboradores (2015) realizaram um estudo com 94 doentes, 104 contatos domiciliares e 2494 indivíduos saudáveis da população (contatos endêmicos) e avaliaram os resultados de ELISA anti-PGL-1 a partir de quatro antígenos diferentes, quais sejam: um nativo (IgM anti-PGL-1) e três sintéticos (IgM anti NDO-HSA, IgG anti-LID-1 e a associação destes últimos). Os resultados apontaram uma correlação positiva com índice baciloscópico; haja vista que todos aumentaram nos indivíduos multibacilares e nos contatos dos multibacilares. Sendo que a capacidade do ELISA NDO-LID de detecção em paucibacilares foi maior que as demais. Outro achado relevante foi que o PGL-1 nativo resultou em positividade maior do que os demais sintéticos. Quando compararam os sintéticos entre si, NDO-LID se destacou por maior capacidade de detecção entre os contatos e indivíduos controle. Os autores sugeriram que o NDO-LID seja explorado na vigilância de contatos domiciliares e na população geral.

Em outra perspectiva de análise, visando associar georeferenciamento com soroprevalência, Nicchio e colaboradores (2016), acompanharam 371 doentes e 53 contatos domiciliares numa coorte em Ituiutaba/MG durante 11 anos (2004 a 2014) com avaliação de sorologia (ELISA anti-PGL-I e teste de fluxo lateral rápido anti-NDO-LID) a fim de avaliar o padrão de distribuição da doença e as áreas de maior risco de doença. Como resultados, a soropositividade entre os contatos domiciliares foi de 17% para ELISA anti-PGL-I e 42% para o teste de fluxo lateral rápido NDO-LID. Pelo menos um dos testes imunológicos positivou em 49% dos contatos soropositivos. O painel demonstrado pelo estudo revelou heterogeneidade espacial substancial dos casos no perímetro urbano. Mesmo assim, quatro grupos principais de pacientes e três *clusters* principais de infecção subclínica foram identificados, embasando a defesa do uso destas técnicas no planejamento de ações futuras de intervenções de saúde por estes autores.

Novas possibilidades de sorologias rápidas estão em fase de pesquisa. Entre elas, Smith; Aerts (2016), elencaram o Fast ELISA® (InBios, Seattle, WA, EUA), que se baseia na detecção complementar de anticorpos e pode fornecer resultados em duas horas; e, além deste, o teste rápido CTK OnSite Leprosy® que começou a avaliação em 2014 e teve os primeiros resultados em 2016, mas ainda não está disponível no mercado.

Dentre estes resultados, estão os achados de Duthie et al. (2016) que detectaram anticorpos circulantes com dois testes diagnósticos rápidos envolvendo plataformas de fluxo lateral imunocromatográficas: Orange Life® e CTK OnSite®, anteriormente citado. Os hansenianos filipinos foram identificados com alto grau de sensibilidade em ambos os testes; embora diferença crítica tenha sido observada na especificidade entre os dois testes rápidos. A sensibilidade foi de 95,5% com NDO-LID® contra 77,3% do OnSite Leprosy Ab Rapid Test®. Todavia a especificidade foi de 25% e 96,4%, respectivamente. Como previsto, as taxas de soropositividade foram maiores nos contatos de pacientes com hanseníase do que nos controles endêmicos. No tocante à comparação entre o emprego do sangue total nos testes de campo e o uso de soro sanguíneo, apesar de discreta diminuição na intensidade de coloração da banda de teste quando aplicado o sangue total, a sensibilidade e especificidade destes não foi afetada. Estes autores consideraram os testes como alternativas substitutivas para baciloscopia, que é um método invasivo, doloroso e demorado; e, que, além disso, é examinador-dependente e requer exímia perícia em microscopia.

Assim, Duthie e colaboradores (2016) propuseram que, pela sua velocidade e aplicabilidade no campo, os testes rápidos podem ser utilizados como ponto de partida nos protocolos diagnósticos, com a ressalva de se fazer confirmação dos resultados obtidos por meio de avaliação de soro em laboratórios de referência.

A despeito de todas as contribuições de métodos rápidos de sorologia, Dara e Gadde (2016) reforçaram a importância de se desenvolver testes simples para a detecção precoce da hanseníase, com resultados objetivos e que superem as limitações de NDO-LID® e Fast ELISA® de incapacidade de diferenciar entre aqueles com uma infecção (e, portanto, a necessidade de poliquimioterapia) e com maior risco de desenvolver infecção devido à sua proximidade dos pacientes (e, portanto, necessidade de profilaxia) e aqueles sem infecção ou risco de infecção (e, portanto, não necessitando de qualquer intervenção).

## 2.6 Epidemiologia Molecular

A identificação do bacilo de Hansen é difícil por não ser cultivável *in vitro* (COSTA LIMA et al, 2015). E a baciloscopia é o método diagnóstico mais vastamente empregado e requer a presença de, pelo menos,  $10^4$  organismos por grama de tecido para a detecção confiável. Logo, a sensibilidade de detecção desta técnica é baixa, em especial para a maioria dos pacientes paucibacilares (TURANKAR et al., 2015).

Na tentativa de sanar esta deficiência, vários estudos utilizando testes de amplificação de ácidos nucleicos para *M. leprae*, que são mais sensíveis do que a microscopia, têm sido utilizados para detectar a presença de bacilos em amostras biológicas de hansenianos e de seus contactantes (ROSA et al., 2013), na busca da configuração da instigante rede de Epidemiologia Molecular da Hanseníase. Ou seja, com a aplicação dos princípios da biologia molecular aos estudos epidemiológicos preencher duas lacunas críticas do Mal de Hansen: ferramentas eficazes no rastreamento desta patologia (DARA; GADDE, 2016) e delimitação dos mecanismos de transmissão (TURANKAR et al., 2015).

Neste intuito, inicialmente, o DNA do *M. leprae* foi encontrado em secreções nasais de pacientes hansenianos, principalmente na forma virchowiana. Em seguida, foi encontrado em amostras de *swab* nasal de contatos intradomiciliares e também em outros indivíduos saudáveis de regiões endêmicas, sugerindo maior frequência de infecção subclínica do que anteriormente se pensava (ARAÚJO et al., 2012).

Nos últimos anos vêm aumentando a variedade de amostras clínicas nas quais se utiliza amplificação do DNA específico do bacilo por meio de PCR, incluindo biópsias de pele, linfa, sangue, bulbo capilar, urina, fragmento de concha nasal inferior, de região periodontal, saliva, sêmen, lágrima e suor (ABDALLA et al., 2010; CALEFFI et al., 2012, ROSA et al., 2013).

Além deste vasto arsenal de amostras aplicáveis a Biologia Molecular, outros elos para investigação da cadeia transmissiva precisam ser destacados e avaliados.

De antemão, sabe-se que aonde a hanseníase é endêmica, a maioria dos indivíduos é exposta ao bacilo de Hansen, mas poucos desenvolvem a doença, sugerindo que uma minoria de 5% seja susceptível, enquanto a maioria exposta apresenta alguma resistência genética (WHITE; FRANCO-PAREDES, 2015). Assim, indivíduos assintomáticos, sejam eles contatos intradomiciliares, vizinhos ou outros contatos sociais de hansenianos, principalmente dos multibacilares, têm um maior risco de contrair a doença e podem ser a maior fonte de

disseminação do bacilo, a despeito do alto nível de exposição natural nas próprias regiões endêmicas (SMITH; AERTS, 2014).

Assim, cada vez mais, estudos têm demonstrado por meio da PCR, a existência de portadores temporários e subclínicos (REIS et al., 2014), e que indivíduos infectados passam por uma fase transitória de excreção nasal. Para estas evidências, as técnicas de PCR e, mais recentemente a qPCR<sup>5</sup>, vêm se mostrando eficazes. Todavia, variações na positividade dos resultados de PCR podem ser amplas nos vários estudos devido à utilização de *primers* e protocolos de amplificação diferentes, sendo necessária uma padronização protocolar (MARTINEZ et al., 2014; MALTEMPE et al., 2016).

Em meio a tamanha diversidade, os marcadores de ácidos nucleicos RLEP, *rpo T*, *sod A*, Ag 85B e 16S rRNA, vêm se destacando no diagnóstico de hanseníase tanto pela sensibilidade quanto pela especificidade (MARTINEZ, 2011).

A especificidade é dada pelo uso de *primers* (iniciadores) específicos para o gene ou região do DNA de interesse. A utilização de dois *primers* delimitam o alvo para a replicação do DNA a partir da região pretendida, daí ocorre a repetição dos ciclos da PCR que dará origem a bilhões de cópias do alvo pretendido.

O RLEP se destaca por ser muito sensível e específico para *M. leprae*, detectando 10 fg de DNA de bacilo purificado. Já o 16S rRNA é um gene conservado em bactérias que codifica a parte 16S do ribossomo e, atualmente, é muito utilizado na RT-PCR para identificação de bacilos viáveis de pacientes (TURANKAR et al., 2015). Martinez et al.,(2011) relataram que RT-PCR de 16S rRNA age como um alvo melhor que a superóxido dismutase (Sod A) e por T para testes de viabilidade de *M. leprae*.

Devido a já demonstrada importância das vias aéreas superiores na transmissão e infecção do *Mycobacterium leprae*, com a detecção de DNA do *Mycobacterium leprae* na mucosa nasal e posterior detecção de DNA do *Mycobacterium leprae* em biópsias de corneto nasal (ARAUJO et al., 2016), foi possível indicar uma rota inicial de entrada e saída do bacilo. Ademais, a posterior detecção do DNA bacteriano em amostras de sangue apontou

---

<sup>5</sup> **qPCR ou PCR quantitativo em tempo real** (do inglês: *real time quantitative PCR*) é uma técnica de laboratório baseada no princípio da reação em cadeia da polimerase (PCR) para multiplicar ácidos nucleicos e quantificar o DNA obtido. A reação em cadeia de polimerização em tempo real combina a metodologia de PCR convencional com um mecanismo de detecção e quantificação por fluorescência. A metodologia permite que os processos de amplificação, detecção e quantificação de DNA sejam realizados em uma única etapa, agilizando a obtenção de resultados e diminuindo o risco de contaminação da amostra e dando maior precisão (SAUNDERS et al., 2004).



uma provável sequência da infecção pelos capilares da concha nasal e liberação na corrente sanguínea, após a invasão da mucosa nasal (REIS et al., 2014).

Em vistas desses achados, Araújo et al., (2016) correlacionaram a detecção do DNA de *M. leprae* através de qPCR com *primer* RLEP de material obtido em vestíbulo nasal, na mucosa das conchas nasais e em amostras de sangue periférico com a sorologia e testes cutâneos anti-PGL-I de 113 hansenianos residentes em Minas Gerais e 104 contatos domiciliares. A positividade de DNA entre pacientes foi de 66,4% em *swabs* nasais, 71,7% em biópsias de cornetos nasais, 19,5% em amostras de sangue e soropositividade de 62,8%; com incidências crescentes para o polo multibacilar (MB) do espectro clínico. Na avaliação dos contatos domiciliares destes doentes, encontraram 49% de positividade nos *swabs* nasais, 53,8% nas biópsias nasais, 6,7% no sangue e 18,3% de soropositividade para anti-PGL-I. Após seguimento de 5-7 anos, dentre os contatos domiciliares, 6,7% desenvolveram a doença. O risco para o desfecho doença foi estimado comparando os resultados de contatos domiciliares que desenvolveram hanseníase com aqueles não afetados. Nem a passagem nasal nem a positividade da mucosa foram determinantes do início da doença. Todavia, a presença do bacilo no sangue aumentou o risco de desenvolvimento da patologia, bem como a soropositividade. Logo, sugeriram fortemente que a via de infecção e transmissão predominante é o aerossol, e que contatos domiciliares de doentes contribuem para o risco de infecção de outros indivíduos.

Outros elementos apontados por Reis e colaboradores (2014) reforçam a importância de rastreio dos contatos. Estes pesquisadores realizaram um estudo caso-controle com amostras de sangue de 200 doentes e 826 contatos domiciliares através de qPCR tendo como alvo o antígeno ML0024 de *M. leprae*. Comparando os resultados de contatos saudáveis com aqueles que ficaram doentes, a positividade no momento do diagnóstico do seu respectivo caso-índice representou um risco de 14,78 vezes maior de aparecimento de hanseníase. Ou seja, os contatos com PCR positivo no sangue no momento do diagnóstico dos casos-índice estão em maior risco de aparecimento tardio da hanseníase, podendo este marcador ser combinado com outros marcadores prognósticos para o manejo de contatos.

Na Índia, Turankar et al. (2015) conduziram um estudo com 60 hansenianos não tratados a fim de encontrar correlação entre o índice baciloscópico e a positividade da PCR de amostras de sangue e raspado dérmico dos doentes; bem como do solo de áreas de circulação, entrada da casa e no entorno do domicílio destes indivíduos. Dos fragmentos pesquisados, *sod A*, 16S rRNA, *rpoT* e RLEP, este último apresentou a maior positividade de PCR a partir

de amostras de sangue e de raspado dérmico, com expressivos 100% e 83%, respectivamente. Até mesmo entre os paucibacilares, com baciloscopia negativa, a positividade da PCR de RLEP foi de 53% e 30% em amostras de sangue e raspado dérmico, respectivamente.

Tais resultados também funcionam como relés nessa rede de transmissão e sugerem que a pesquisa de RLEP por PCR poderia ser utilizada para a detecção precoce de casos de hanseníase e para o acompanhamento da redução de carga bacilar dos pacientes durante o tratamento.

Outro valioso exemplo de uso de PCR no rastreamento da hanseníase é o recente estudo de MALTEMPE e colaboradores (2016). Estes pesquisadores utilizaram-se de dois primers específicos, PCR-P e PCR-LP, e compararam o resultado da PCR com a baciloscopia de raspado dérmico. O DNA de *M. leprae* foi extraído de 106 amostras de linfa de 40 pacientes que apresentavam suspeição clínica de hanseníase. A especificidade de ambas as técnicas de PCR foi de 100% e a sensibilidade foi de 0,007 µg/mL e 0,015 µg/mL para a PCR-P e PCR-LP, respectivamente. Apesar de a PCR ainda não substituir a baciloscopia no diagnóstico da hanseníase, os autores apontaram esta técnica como ferramenta auxiliar eficiente para a detecção precoce da doença, especialmente em regiões endêmicas. Esta estratégia pode também ser útil nos casos em que os resultados de baciloscopia forem negativos, e em casos onde a biópsia da pele não pode ser realizada.

Um estudo caso-controle conduzido por Lima e colaboradores (2015) foi realizado para determinar a presença de DNA de *Mycobacterium leprae* em secreções nasais de 185 casos de hanseníase e 136 indivíduos contatos saudáveis em Fortaleza/CE. Para aumentar a análise espacial da prevalência positiva do elemento repetitivo específico de *M. leprae* (RLEP), foi incluído um grupo externo de 121 estudantes saudáveis. A PCR para a sequência RLEP foi realizada para todos os participantes. A prevalência de positividade de RLEP para casos e contatos foi de 69,2% e 66,9%, respectivamente, significativamente maior do que para o grupo controle de estudantes (28,1%). A análise geográfica demonstrou que o bacilo é generalizado entre a população saudável, com aglomerados de casos multibacilares positivos RLEP concentrados em áreas distintas da cidade. Estes pesquisadores sugeriram que em áreas endêmicas, como em Fortaleza/CE, deve ser implementada a vigilância tanto dos contatos não domiciliares de doentes quanto dos membros da população em geral que vivem em áreas de *clusters*.

A cavidade oral e sua secreção também têm sido foco de investigações moleculares. Em 2014, Rosa e colaboradores investigaram os distúrbios de sensibilidade na cavidade bucal

relacionados à presença de *Mycobacterium leprae* na saliva de pacientes previamente tratados com hanseníase no estado do Amazonas. Houve positividade em 31,6% dos paucibacilares (PB), sugerindo a possibilidade de um novo local para a coleta de amostras. Os resultados positivos, associando os resultados de índice baciloscópio, esfregaço cutâneo e qPCR de saliva aumentaram para 55,5%, abrindo assim a possibilidade de combinar estas diferentes técnicas para aumentar a taxa de diagnósticos positivos, especialmente em pacientes PB.

Estes resultados reforçam os achados de Martinez e colaboradores (2011) que obtiveram positividade global em pacientes e contatos de 18,26% e 6,83%, respectivamente, na PCR de *swab* oral de *primer* RLEP. Os pesquisadores correlacionaram estes resultados com dados clínicos e laboratoriais. A infecção subclínica entre os contatos foi considerada quando PCR e ELISA anti-PGL-1 apresentaram resultados positivos. Este estudo concluiu que a mucosa oral pode ser um sítio secundário de transmissão e infecção por *M. leprae*, e os contatos com o DNA bacilar podem ser envolvidos ativamente na transmissão. Além disso, o DNA de bacilos é mais frequentemente encontrado na mucosa oral de pacientes PB.

Assim, a associação poderosa de ferramentas moleculares como a PCR com pesquisa de anticorpos anti-PGL-1 no diagnóstico da infecção pelo *Mycobacterium leprae*, consegue delimitar ainda mais os indivíduos susceptíveis. Uma vez que tem permitido identificar ao mesmo tempo não apenas os portadores saudáveis de *M. leprae* por PCR, mas também se há ou não soropositividade e infecção subclínica que possa estar envolvida na disseminação do bacilo em áreas endêmicas (ROSA et al., 2013).

Um importante estudo com panorama de análise amplo foi desenvolvido no estado do Maranhão por Pinho e colaboradores (2015). Foram avaliadas 200 pacientes e 808 contatos domiciliares com avaliação sorológica através de ELISA e *ML-flow*<sup>®</sup>; além de pesquisa do *M. leprae* por PCR de *swab* nasal e *swab* de mucosa oral através de *primer* gene-específico RLEP3. A resposta sorológica foi observada em 14% dos indivíduos submetidos ao ELISA anti-PGL-1 e 15% de soropositividade com *ML-flow*<sup>®</sup>. Já a pesquisa do DNA bacilar foi positiva em 8,5% dos contatos; sendo, 5,6% positiva para *swab* oral, 4,6% *swab* nasal e 21,7% para ambos. Um dado de relevância é que 87% destes indivíduos eram contatos domiciliares de pacientes MB.

Os avanços no estudo da epidemiologia molecular do *Mycobacterium leprae* poderão continuar elucidando novas formas de transmissão e infecção, além de proporcionar bases para a utilização de novas estratégias de controle, podendo indicar, com segurança, a adoção

de quimioprofilaxia nos grupos de risco, como uma ação adicional para o controle da hanseníase (REIS et al. 2014).

Nesta perspectiva, Fischer e colaboradores (2011) propuseram, a partir de estudos de simulação, a estratégia de fazer o diagnóstico precoce de infecção subclínica associado ao tratamento e, assim obtiveram resultado superior à aplicação da quimioprofilaxia isoladamente.

Partindo para um panorama ainda mais amplo de investigação de doentes e contatos, Romero-Montoya, Beltram-Alzate, Cardona-Castro (2017), avaliaram 45 pacientes com hanseníase e 180 contatos domiciliares na Colômbia. Os voluntários realizaram biópsias de pele, esfregaços nasais (*swabs*) e genotipagem de *Mycobacterium leprae* a partir de fragmentos de pele da biópsia. Os *swabs* nasais e as amostras de pele foram submetidas à nested-PCR<sup>6</sup>. Adicionalmente, amostras de soro foram testadas quanto aos títulos de IgM anti-fenólico glicolípido-I (PGL-I). Como resultado, 4,1% dos contatos domiciliares tinham títulos de anticorpos IgM anti-PGL-I positivos, indicando infecção. A PCR de DNA isolado de *swabs* nasais foi positiva para *M. leprae* em 16% de todos os contatos domiciliares, sugerindo a presença de portadores. Quanto ao estudo do genótipo de *M. leprae* obtido de indivíduos do mesmo grupo familiar, houve concordância em 9 marcadores, mostrando que estes indivíduos são infectados pela mesma estirpe de *M. leprae*, um forte indicativo de transmissão familiar.

---

<sup>6</sup> **PCR nested** ou PCR aninhada é um método complementar, com uma segunda amplificação a partir do produto gerado da primeira amplificação, com resultados superiores aos alcançados apenas em uma única PCR. Pode ser utilizado dois pares de *primers* diferentes; um maior para a primeira PCR e um menor para a segunda.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Estudar a dinâmica de transmissão ambiental da hanseníase em *cluster* da cidade de Mossoró, através de dados clínicos, epidemiológicos, de soroprevalência e detecção de DNA do *M. leprae* nestes indivíduos, em seus contactantes e no ambiente doméstico.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Identificar fatores de risco de adoecimento apontados pela análise sociodemográfica e epidemiológica.
- Determinar a frequência de infecção sorológica e estratificar a soroprevalência anti NDO-LID-1 e anti NT-P-BSA em doentes, em contatos intradomiciliares e vizinhos de casos novos de hanseníase, através de testes rápidos;
- Detectar DNA de *Mycobacterium leprae* em saliva, *swab* nasal e poeira domiciliar de doentes e de seus contactantes;
- Avaliar a sensibilidade, especificidade e aplicabilidade prática dos *primers* 16S rRNA e RLEP no rastreamento populacional e ambiental da hanseníase em áreas endêmicas;
- Correlacionar os dados moleculares obtidos com avaliação clínica, baciloscópica, epidemiológica e sorológica dos indivíduos nesta área endêmica.

## 4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

### 4.1 Tipo de pesquisa

Trata-se de um estudo analítico, observacional, retrospectivo, com abordagem quantitativa, do tipo caso-controle. A avaliação quantitativa utilizou o banco de dados do SIAB, SINAM e IBGE para o cálculo dos indicadores da afecção. Utilizamos também tecnologia laboratorial através de métodos moleculares para detecção de *Mycobacterium leprae* em amostras biológicas de seres humanos e de poeira domiciliar, testes sorológicos rápidos e baciloscopia de linfa.

### 4.2 Local da pesquisa

O estudo foi desenvolvido no bairro Barrocas, um dos bairros da zona norte de Mossoró/RN. Esta cidade de clima semiárido teve população estimada em 291.937 habitantes para o ano de 2016, distribuída num território de 200.360 km<sup>2</sup>, com uma densidade populacional estimada de 123,76 habitantes/km<sup>2</sup> (IBGE, 2016).

Dias et al. (2005; 2007) e Queiroz et al. (2010) apontaram um aumento na incidência de hanseníase no Rio Grande do Norte desde o início da década de 1990, com destaque para a cidade de Mossoró. Tais pesquisadores georeferenciaram os casos de hanseníase deste município e delimitaram uma área de 8,5 km no sentido longitudinal por 12 km latitudinalmente, compreendendo dois bolsões críticos ou *clusters* da doença com risco relativo elevado de adoecimento de 5,9 e 6,9. Esta faixa territorial se estende pelos bairros: Barrocas, Santo Antônio, Bom Jardim e Paredões. A localidade em destaque apresenta densidade populacional homogênea e indicadores de pobreza de grande relevância. Os casos foram mais frequentemente encontrados próximos ao Rio Apodi-Mossoró e aos canais pluviais, que atravessam este recorte territorial e que drenam também esgoto e lixo, decorrentes de saneamento ambiental insatisfatório (QUEIROZ et al., 2010).

Os números registrados no município são preocupantes, pois correspondem a uma incidência que variou entre 35,40/100.000 habitantes a 40,6/100.000 habitantes no período de 2010 a 2015 (MOSSORÓ, 2015), índices considerados muito altos pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde. Enquanto que, no mesmo período, a prevalência variou entre 4,42 e 4,61 a cada 10.000 habitantes. Números bem distantes da meta de menos de 1 caso a

cada 10.000 habitantes. O bairro Barrocas é epicentro de um dos *clusters* da doença no município, sendo a UBS Sinharinha Borges a unidade de ESF com maiores incidência e prevalência da doença no município nos últimos anos. Somente em 2010, aquela UBS respondeu por 10,6% de todos os casos notificados no estado do Rio Grande do Norte e em 2014 apresentou taxa de detecção de 11,92 casos novos/10.000 habitantes, três vezes superior à taxa do município (MOSSORÓ, 2015).

### **4.3 Comitê de ética e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual do Rio Grande do Norte, sob CAAE 47180115.1.0000.5294, conforme comprovante presente no Apêndice A. Após esta etapa, todos os indivíduos participantes assinaram o termo de consentimento livre esclarecido (TCLE). Em caso de menores, a inclusão deu-se após consentimento dos pais ou responsável, disponível no Apêndice B.

### **4.4 Identificação e perfil dos participantes**

Todos os indivíduos participantes do estudo pertenciam à área de adscrição da UBS Sinharinha Borges, Barrocas, Mossoró/RN. Os casos índice de hanseníase foram todos aqueles diagnosticados no período imediatamente seguinte a aprovação deste projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética da UERN até novembro de 2016. Recrutaram-se tais indivíduos, no momento do diagnóstico na UBS Sinharinha Borges; seja por atendimento em regime de demanda espontânea ou por busca ativa da equipe da Estratégia de Saúde da Família na sua área de adscrição do PSF. A partir de então, os casos-índice foram convidados a participar da pesquisa, bem como seus contatos intradomiciliares e peridomiciliares.

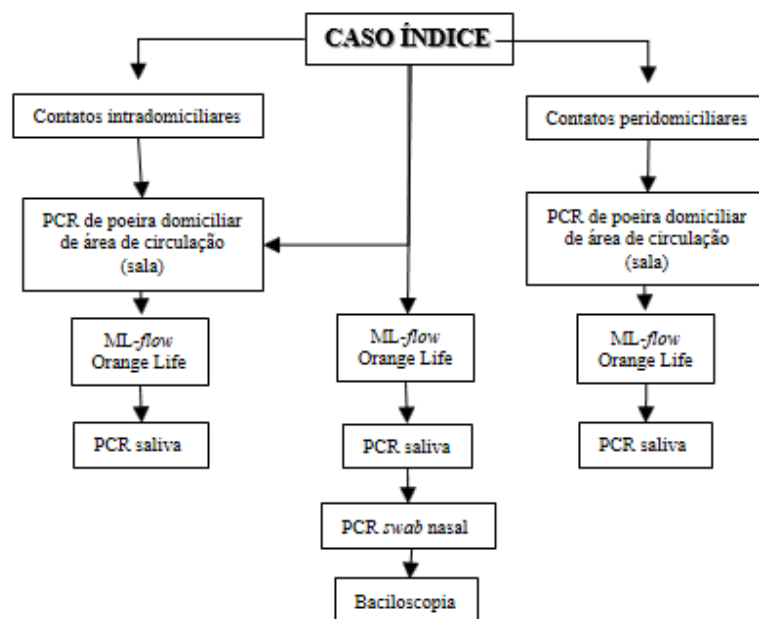
A abordagem destes últimos deu-se na sequência: primeiro, os indivíduos do domicílio à direita do caso-índice, em seguida, os do domicílio à esquerda, e, por fim, aqueles residentes no domicílio mais próximo ao quintal do caso-índice, caso houvesse negativas em participar do projeto. Todas as amostras biológicas foram coletadas antes que fosse iniciada a poliquimioterapia. Considerou-se um contato domiciliar todo indivíduo que conviveu com o caso índice nos últimos cinco anos e que não apresentou sinais e sintomas da doença durante a pesquisa. Todos os contatos foram submetidos à avaliação clínica dermatoneurológica criteriosa antes de serem considerados assintomáticos.

Além disso, aqueles contatos domiciliares que não apresentaram duas cicatrizes de BCG foram encaminhados para uma segunda dose da vacina. Este procedimento é preconizado pela OMS e pelo Programa Brasileiro de Controle da Hanseníase desde 1991, na tentativa de estimular uma resposta imune protetora nos contatos assintomáticos (DÜPPRE et al., 2012).

Estes indivíduos obedeceram à seleção de acordo com o seguinte critério de proporção: para cada caso índice de hanseníase, dois contatos domiciliares assintomáticos e dois vizinhos assintomáticos foram recrutados. Os casos índices foram agrupados com base em critérios clínicos e baciloscópicos como Paucibacilar (PB) e Multibacilar (MB). Os contatos domiciliares serão agrupados e designados da seguinte maneira: Contatos de paciente Paucibacilar (CPB) e Contato de paciente Multibacilar (CMB). Os indivíduos controle devem ser moradores vizinhos do caso, preferencialmente, com o mesmo sexo e com idade próxima a idade do caso com variação de +/- 10 anos e que não apresentem diagnóstico de hanseníase. O grupo controle teve sua designação da seguinte maneira: Vizinho de pacientes Paucibacilar (VPB) e Vizinho de paciente Multibacilar (VMB).

#### 4.5 Coleta das amostras biológicas de seres humanos e de poeira doméstica

Esta etapa da pesquisa seguiu o fluxograma apresentado na Figura 7.



**Figura 7** – Fluxograma de coleta de material biológico e poeira domiciliar.

Fonte: Autoria própria (2017)



As amostras foram armazenadas em *freezer* do Laboratório de Ciência Vegetal da UFERSA até o encerramento da coleta e processamento. Após término da pesquisa, todo o material coletado será autoclavado e destinado ao descarte realizado pela empresa SERQUIP.

#### 4.5.1 Coleta de raspado dérmico

As amostras de raspado dérmico do lóbulo da orelha direita e/ou das lesões cutâneas foram colhidas no Laboratório Regional de Mossoró onde também realizamos a baciloscopia. A coleta e a análise das lâminas seguiram o padrão do Manual de Baciloscopia em Hanseníase (BRASIL, 2010).

#### 4.5.2 Coleta de saliva

A coleta da saliva seguiu o protocolo adaptado de Abdalla et al. (2010). Os indivíduos foram orientados a mastigar uma peça de 1 centímetro de um tubo de látex previamente esterilizado (Auriflex, São Roque, São Paulo, BRA) para estimular a produção de saliva.

Todos os indivíduos engoliram a saliva produzida durante os primeiros 30 segundos e, em seguida, recolhemos a saliva produzida nos 5 minutos seguintes num coletor universal estéril. Um total de 500 µL de saliva foi depositado em cada coletor universal e, assepticamente, transferido para um microtubo de 1,5 ml com uma micropipeta. Os microtubos contendo amostras foram armazenados a -20 °C até a extração de DNA.

#### 4.5.3 Coleta das amostras de *swab* nasal

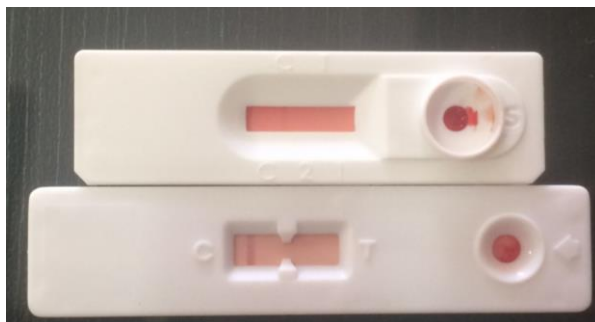
A coleta dos *swabs* nasais foi realizada com a introdução de pequenas hastes de algodão e escovas flexíveis, estéreis, esfregando o septo nasal em ambas as fossas nasais. Cada amostra foi individualmente acondicionada em microtubos *eppendorf* estéril e mantida a -20°C até a extração de DNA.

#### 4.5.4 Coleta de sangue

A coleta de sangue total por punção digital seguiu o manual do fabricante do kit OrangeLife®, a saber: limpeza do dedo da pessoa a ser testada com um pedaço de gaze

estéril. Usando uma lanceta estéril, fazer uma punção na pele ligeiramente fora do centro da ponta do dedo. Segurar o dedo para baixo e aplicar uma leve pressão ao lado do ponto de punção. Evitar apertar o dedo para fazê-lo sangrar. Pegar o dispositivo de coleta de amostra, colocar a extremidade sobre a gota de sangue e fazer com que seja preenchida com 10µl de sangue, adicionando-se, posteriormente, 03 gotas de tampão de corrida. Os poços para depósito do sangue ficam à direita dos dispositivos (Figura 8).

O teste *ML-flow* fabricado pela OmegaTeknika Limited (Dublin, Irlanda) e pelo Royal Tropical Institute (KIT, Amsterdã, Holanda) foi executado de acordo com as especificações definidas pelo manual do fabricante. Com mesmo protocolo de limpeza e preparo utilizado no kit OrangeLife®. Em resumo, foram depositados 5 µL de sangue no recipiente de aplicação da amostra e foram adicionados 130 µL de tampão de corrida.



**Figura 8** – Resultado negativo dos testes rápidos OrangeLife® (superior) e *ML-flow*® (inferior).  
Fonte: Autoria própria (2016)

#### 4.5.5 Coleta das amostras de poeira domiciliar

As amostras de poeira domiciliar foram coletadas de acordo com protocolo adaptado de Campos, Liporaci e Terra (2010). Através da aspiração de estofados, móveis e chão da principal área de circulação de pessoas durante cinco minutos por toda a sua superfície, utilizando aspirador de pó portátil marca Britânia (modelo ASP 1380, 250W), ao qual foi acoplado um filtro de papel estéril em sua porção intermediária, para retenção de poeira.

Estes filtros foram dobrados, identificados, embalados em sacos plásticos e estocados em *freezer* a - 20°C para posterior análise. Ao trocar de um microambiente para outro, para fazer a aspiração, o tubo coletor do aspirador foi lavado com água corrente, detergente e álcool etílico absoluto, sendo seco com papel absorvente.

## 4.6 Realização de entrevistas

No momento de coleta de material biológico e poeira, utilizando-se de roteiro estruturado, foram realizadas entrevistas aos pacientes-caso, seus contactantes e aos respectivos indivíduos-controle no ambiente domiciliar ou na UBS Sinharinha Borges. O referido roteiro encontra-se no Apêndice C.

## 4.7 Extração de DNA

A primeira etapa da extração de DNA de amostras de poeira domiciliar, de *swab* nasal e de saliva ocorreu no Laboratório de Microbiologia Veterinária da UFERSA (LAMIV), sob a orientação da Profa. Dra. Ioná Santos Araújo Holanda e do Prof. Dr. Francisco Marlon Carneiro Feijó. As demais ocorreram no Laboratório de Ciências Vegetais da UFERSA seguindo o manual do fabricante do kit NucleoSpin® Tissue, MACHEREY-NAGEL GmbH&Co.

### 4.7.1 Extração de DNA em amostras de poeira domiciliar

Seguindo o manual do fabricante do kit NucleoSpin® Tissue, MACHEREY-NAGEL GmbH&Co, com adaptações na etapa de pré-lise, a extração do DNA seguiu as etapas descritas abaixo.

Pré-lise: Foram homogeneizados 50mg de amostra de poeira doméstica com nitrogênio líquido, vortexizamos vigorosamente com microesferas de aço por 1 minuto. Em seguida, adicionamos 180 µL de Buffer T1 e 25 µL de solução de Proteinase K, vortexizamos novamente e cobrimos as amostras completamente com a solução de lise. Incubamos a 56 °C em *overnight*.

Lise da amostra: Vortexizamos as amostras vigorosamente, adicionamos 200 µL de Buffer B3, misturamos em vórtex vigorosamente mais uma vez e incubamos a 70 °C por 10 minutos. Misturamos em vórtex rapidamente. Centrifugamos por 10 minutos a 11.000 G e transferimos o sobrenadante para um novo tubo de microcentrífuga.

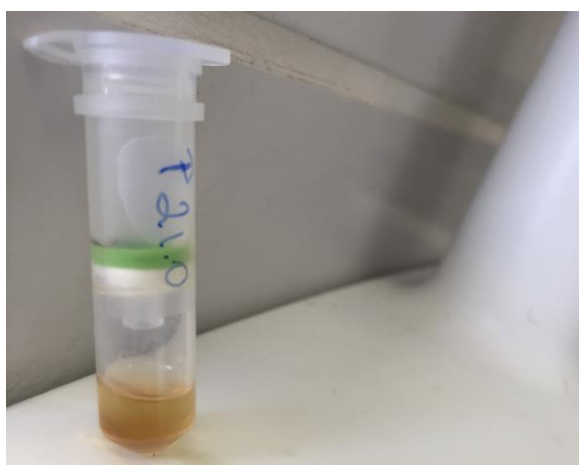
Adicionamos 210µL de etanol 96% à amostra e vortexizamos vigorosamente. Transferimos todo o precipitado sobre a coluna para o passo seguinte.

Para cada amostra, colocamos uma coluna NucleoSpin® Tissue em um tubo de coleta. Aplicamos a amostra à coluna, centrifugamos durante 1 minuto a 11.000 G, descartamos o tubo de coleta com o fluido filtrado e colocamos a coluna em um novo tubo de coleta. Quando a amostra não era completamente extraída da matriz, o passo de centrifugação a 11000 G foi repetido. Descartamos o líquido filtrado.

Primeira lavagem: adicionamos 500 µL de Buffer BW, centrifugamos por 1 minuto a 11.000 G, descartamos o fluido filtrado e colocamos a coluna de volta no tubo de coleta.

Segunda lavagem: adicionamos 600 µL de Buffer B5 à coluna e centrifugamos por 1 minuto a 11.000 G. Descartamos o fluido filtrado e colocamos a coluna de volta no tubo de coleta. Centrifugamos a coluna por 1 minuto a 11.000 G, para remoção do etanol residual (Figura 9).

Eluição: colocamos a coluna NucleoSpin® Tissue em um tubo de microcentrífuga de 1,5 mL e adicionamos 50 µL de Buffer BE, deixamos incubando por 3 minutos em temperatura ambiente e centrifugamos por 1 minuto a 11.000 G. Repetimos esta etapa mais uma vez.



**Figura 9** - Produto da extração de DNA de poeira domiciliar em tubo de coleta NucleoSpin® Tissue.  
Fonte: Autoria própria (2017)

#### 4.7.2 Extração de DNA em amostras de *swab* nasal

Todas as etapas seguiram o manual do fabricante do kit NUCLEOSPIN ® Tissue, MACHEREY-NAGEL GmbH& Co, descritos a seguir.

Pré-lise: Colocamos o *swab* de algodão em microtubos de 2 mL. Em seguida, adicionamos 180 µL de Buffer T1 e 25 µL de solução de Proteinase K, vortexizamos e cobrimos as amostras completamente com a solução de lise. Incubamos a 56°C em *overnight*.

Lise da amostra: Vortexizamos as amostras vigorosamente, adicionamos 200  $\mu$ L de Buffer B3, misturamos em vórtex vigorosamente mais uma vez e incubamos a 70°C por 10 minutos. Misturamos em vórtex rapidamente. Centrifugamos por 10 minutos a 11.000 G e transferimos o sobrenadante para um novo tubo de microcentrífuga.

Adicionamos 210  $\mu$ L de etanol 96% à amostra e vortexizamos vigorosamente. Transferimos todo o precipitado sobre a coluna para o passo seguinte.

Para cada amostra, colocamos uma coluna NucleoSpin® Tissue em um tubo de coleta. Aplicamos a amostra à coluna, centrifugamos durante 1 minuto a 11.000 G, descartamos o tubo de coleta com o fluido filtrado e colocamos a coluna em um novo tubo de coleta. Quando a amostra não era completamente extraída da matriz, o passo de centrifugação a 11000 G foi repetido. Descartamos o líquido filtrado.

Primeira lavagem: adicionamos 500  $\mu$ L de Buffer BW, centrifugamos por 1 minuto a 11.000 G, descartamos o fluido filtrado e colocamos a coluna de volta no tubo de coleta.

Segunda lavagem: adicionamos 600  $\mu$ L de Buffer B5 à coluna e centrifugamos por 1 minuto a 11.000 G. Descartamos o fluido filtrado e colocamos a coluna de volta no tubo de coleta. Centrifugamos a coluna por 1 minuto a 11.000 G, para remoção do etanol residual.

Eluição: colocamos a coluna NucleoSpin® Tissue em um tubo de microcentrífuga de 1,5 mL e adicionamos 50  $\mu$ L de Buffer BE, deixamos incubando por 3 minutos em temperatura ambiente e centrifugamos por 1 minuto a 11.000 G. Repetimos esta etapa mais uma vez.

#### 4.7.3 Extração de DNA em amostras de saliva

Pré-lise: Foram obtidos pellets por centrifugação do tubo de saliva durante 5 minutos a 13.000 G e descartamos o sobrenadante. Em seguida, adicionamos 180  $\mu$ L de Buffer T1 e 25  $\mu$ L de solução de Proteinase K, vortexizamos e cobrimos as amostras completamente com a solução de lise. Incubamos a 56 °C em *overnight*.

Lise da amostra: Vortexizamos as amostras vigorosamente, adicionamos 200  $\mu$ L de Buffer B3, misturamos em vórtex vigorosamente mais uma vez e incubamos a 70 °C por 10 minutos. Misturamos em vórtex rapidamente. Centrifugamos por 10 minutos a 11.000 G e transferimos o sobrenadante para um novo tubo de microcentrífuga. Adicionamos 210 $\mu$ L de etanol 96% à amostra e vortexizamos vigorosamente. Transferimos todo o precipitado sobre a coluna para o passo seguinte. Para cada amostra, colocamos uma coluna NucleoSpin® Tissue

em um tubo de coleta. Aplicamos a amostra à coluna, centrifugamos durante 1 minuto a 11.000 G, descartamos o tubo de coleta com o fluido filtrado e colocamos a coluna em um novo tubo de coleta. Quando a amostra não era completamente extraída da matriz, o passo de centrifugação a 11000 G foi repetido. Descartamos o líquido filtrado.

Primeira lavagem: adicionamos 500 µL de Buffer BW, centrifugamos por 1 minuto a 11.000 G, descartamos o fluido filtrado e colocamos a coluna de volta no tubo de coleta.

Segunda lavagem: adicionamos 600 µL de Buffer B5 à coluna e centrifugamos por 1 minuto a 11.000 G. Descartamos o fluido filtrado e colocamos a coluna de volta no tubo de coleta. Centrifugamos a coluna por 1 minuto a 11.000 G, para remoção do etanol residual.

Eluição: colocamos a coluna NucleoSpin® Tissue em um tubo de microcentrífuga de 1,5 mL e adicionamos 50 µL de Buffer BE, deixamos incubando por 3 minutos em temperatura ambiente e centrifugamos por 1 minuto a 11.000 G. Repetimos esta etapa mais uma vez.

#### 4.8 Ensaio de PCR convencional

A amplificação e leitura de DNA de amostras de poeira domiciliar, *swab* nasal e saliva foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, sob a orientação da Profa. Dra. Ioná Santos Araújo Holanda e seguiram o protocolo de Turankar et al. (2015), com adaptações.

Nesta etapa, foram utilizados os *primers* específicos:

- RLEP: PS1(5'-TGC ATG TCA TGG CCT TGA GG-3') e PS2 (5'-CAC CGA TAC CAG CGG CAG AA-3')
- 16SrRNA: (5'-TCG AAC GGA AAG GTC TCT AAA AAA TC-3') e (5'-CCT GCA CCG CAA AAA GCT TTC C-3')

**Diluição dos *Primers*:** Esta etapa seguiu a volumetria sugerida pelo fabricante Sinapse Biotecnologia®, Brasil.

**Amplificação:** A amplificação foi realizada em um termociclador PTC-100, Bio-Rad, sob as seguintes condições:

- RLEP: 95°C durante 5 minutos para a desnaturação inicial seguido de 40 ciclos; 94°C durante 30 segundos para a desnaturação do DNA; 58°C durante 30 segundos para o anelamento do *primer*; 72°C durante 60 segundos para a extensão; e 72°C durante 10 minutos para a extensão final.

- 16S rRNA: 95°C durante 5 minutos para a desnaturação inicial seguido de 40 ciclos; 95°C durante 30 segundos para a desnaturação do DNA; 60°C durante 90 segundos para o anelamento do *primer*; 72°C durante 60 segundos para a extensão; e 72°C durante 10 minutos para a extensão final.

O produto de PCR contendo fragmentos amplificados da região alvo foi sujeito à eletroforese em gel de agarose a 2%, utilizando tampão Tris-Borato-EDTA a 110 V de voltagem a 400 mA constante por 90 minutos (TURANKAR et al., 2015). Foram extraídos 10µL do produto da reação de PCR, homogeneizados com 3µL de tampão de corrida concentrado (azul de bromofenol) e as amostras foram aplicadas nos poços. Foram reservados 02 poços para utilização de um padrão de corrida (*Ladder*-50 pb e 100 pb). Os resultados obtidos foram fotografados.

Para a validação do teste foram utilizados: (1) água estéril, como controle negativo e (2) controle positivo obtido de DNA de *M. leprae* cepa Thai-53 purificado de pata de camundongo e gentilmente cedido pela FIOCRUZ.

Os produtos de PCR foram caracterizados como positivos para *M. leprae* quando visualizadas no gel com faixa de 129 pares de base no *ladder* para RLEP e 171 pb para 16S rRNA.

#### 4.9 Análise estatística

Os dados foram analisados através do *software* SPSS 21.0 (*Statistical Package for the Social Sciences*), sendo expressos em média e desvio padrão, bem como valores mínimos, máximos, frequência simples e porcentagem. Para verificar associações de soropositividade, presença de DNA bacteriano nas diversas amostras com variáveis presente no questionário frente à positividade da doença, foi tomado uso de *odds ratio* (OR), intervalos de confiança de 95% (IC 95%), e significância determinada através do teste do Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ) e exato de Fisher. Este último utilizado sempre que se verificou valores com frequência esperada inferior a 5. Modelos de regressão logística foram elaborados para se obter estimativas de OR e IC95% ajustados.

A concordância entre positividade das diferentes amostras biológicas processadas por PCR e baciloscopia foi obtida através do teste Kappa e as diferenças de percentual discordante obtida por McNemar. Foram calculados também a sensibilidade, especificidade,

valor preditivo positivo e negativo dos testes com amostras obtidas em saliva, *swab* nasal e raspado dérmico. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos.



## 5 RESULTADOS

Participaram da pesquisa 22 doentes e 88 indivíduos-controle, sendo 44 controles domiciliares (CD) e 44 vizinhos destes doentes, denominados de controles endêmicos (CE). No total, dos dois grupos-controle, 07 indivíduos foram excluídos da análise estatística por recusa em participar de algum tipo de coleta de material biológico.

Ressalta-se que um subgrupo de 07 doentes foi submetido à realização de estudo histopatológico para conclusão diagnóstica e fechamento do caso para notificação.

Nesta pesquisa, os resultados sociodemográficos apontaram média das idades (desvio padrão) de todos os indivíduos participantes de 36,69 (16,62), com mínimo e máximo de 06 a 79 anos, respectivamente. Já a média de idade encontrada dos doentes foi um pouco superior, 39,04 anos, com duas faixas de concentração: menor de 15 anos (27,3%) e 45 a 60 anos (27,3%), conforme dados apresentados na Tabela 1.

Em relação a variável sexo, o gênero feminino correspondeu a 72,7% dos casos, e foi observado que a infecção em autodeclarados pardos foi mais frequente (54,5%), seguida pelos indivíduos negros (27,3%) e brancos (18,2%).

**Tabela1** – Distribuição de valores de frequência simples (%) das variáveis sociodemográficas e de condições de moradia no grupo-caso (doente) e nos grupos-controle (contato domiciliar e contato endêmico) de residentes das Barrocas, Mossoró, RN, no período de novembro de 2015 a novembro de 2016.

Variáveis	Doente		Contato domiciliar		Contato endêmico	
	Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%
<b>Sexo</b>						
Masculino	06	27,3	20	48,8	15	37,5
Feminino	16	72,7	21	51,2	25	62,5
<b>Idade</b>						
Até 15 anos	06	27,3	04	9,8	01	2,5
15 a 30 anos	02	9,1	08	19,5	15	37,5
30 a 45 anos	05	22,7	18	43,9	17	42,5
45 a 60 anos	06	27,3	08	19,5	04	10,0
Acima de 60 anos	03	13,6	03	7,3	03	7,5
<b>Raça</b>						
Branca	04	18,2	12	29,3	11	27,5
Negra	06	27,3	10	24,4	7	17,5
Parda	12	54,5	19	46,3	22	55,0

**Escolaridade**

Sem escolaridade	03	13,6	5	12,2	3	7,5
Fundamental	14	63,6	18	43,9	21	52,5
Médio	05	22,7	18	43,9	13	32,5
Superior	0	0,0	0	0,0	3	7,5

**Morou em outro endereço**

Sim	13	59,1	22	55,0	23	57,5
Não	09	40,9	18	45,0	17	42,5

**Endereço antigo em outra cidade**

Sim	03	15,0	6	16,7	3	8,3
Não	17	85,0	30	83,3	33	91,7

**Endereço antigo em outro bairro**

Sim	09	42,9	15	39,5	7	18,4
Não	12	57,1	23	60,5	31	81,6

**Tem bolsa família**

Sim	9	40,9	17	41,5	20	50,0
Não	13	59,1	24	58,5	20	50,0

**Renda**

Até 01 salário	6	27,3	12	29,3	10	25,0
02 a 03	15	68,2	26	63,4	23	57,5
04 a 05	1	4,5	3	7,3	5	12,5
Acima de 05	0	0,0	0	0,0	2	5,0

**Situação do local de moradia**

Alugado	5	22,7	9	22,0	17	42,5
Própria	17	77,3	32	78,0	13	32,5
Cedida	0	0,0	0	0,0	10	25,0

**Abastecimento de água**

CAERN	21	95,5	38	95,0	0	0,0
Poço	1	4,5	2	5,0	40	100,0

**Tipo de esgoto**

Fossa Séptica	02	9,1	4	9,8	0	0,0
Fossa Rudimentar	0	0,0	1	2,4	0	0,0
Céu aberto	4	18,2	7	17,1	0	0,0
Saneamento completo	9	40,9	16	39,0	15	37,5
Saneamento incompleto	7	31,8	13	31,7	25	62,5

**Quantidade de cômodos**

Até 03	17	77,3	27	65,9	27	67,5
Acima de 03	5	22,7	14	34,1	13	32,5

**Quantidade de janelas**

Até 02	18	81,8	32	78,0	21	52,5
--------	----	------	----	------	----	------

Acima de 02	4	18,2	9	22,0	19	47,5
<b>Paredes úmidas da casa</b>						
Sim	8	36,4	20	50,0	13	32,5
Não	14	63,6	20	50,0	27	67,5
<b>Casa iluminada</b>						
Sim	12	54,5	19	47,5	14	35,0
Não	10	45,5	21	52,5	26	65,0
<b>Número de pessoas na casa</b>						
Até 04	11	50,0	21	51,2	24	60,0
Acima de 04	11	50,0	20	48,8	16	40,0
<b>Na casa alguém teve hanseníase</b>						
Sim	6	27,3	12	31,6	5	12,5
Não	16	72,7	26	68,4	35	87,5
<b>Casa já foi invadida por enchente</b>						
Sim	4	18,2	11	26,8	8	20,0
Não	18	81,8	30	73,2	32	80,0
<b>Tipo de piso</b>						
Cerâmico	13	59,1	23	57,5	26	65,0
Cimento	9	40,9	17	42,5	14	35,0
<b>Quintal cercado com</b>						
Madeira	0	0,0	0	0,0	03	7,5
Tijolo	19	86,4	33	82,5	36	90,0
Arame	03	13,6	07	17,5	0	0,0
Tela	0	0,0	0	0,0	01	2,5
<b>Quando chove o quintal fica alagado mais de um dia</b>						
Sim	2	9,5	5	12,8	2	5,0
Não	19	90,5	34	87,2	38	95,0
<b>Acumula lixo doméstico no quintal</b>						
Sim	5	22,7	8	21,6	3	7,9
Não	17	77,3	29	78,4	35	92,1

No que diz respeito à escolaridade, 77,2% dos doentes tinham, no máximo, o nível fundamental. Ao passo que, esse percentual no grupo controle endêmico foi de 60%.

Já em termos de avaliação das características epidemiológicas de migração dos moradores da comunidade estudada, mereceu destaque o longo tempo de residência no bairro. Neste aspecto, apesar de 59,1% dos indivíduos doentes envolvidos na pesquisa terem residido em outro endereço nos últimos 10 anos, o antigo endereço em 57,1% deles se localizava no bairro atual.

Relativamente à renda familiar, 27,3% das famílias dos doentes sobreviviam com, no máximo, 01 salário mínimo; e, quase 60% destas não recebiam auxílios governamentais. Estes resultados foram muito próximos aos obtidos nos dois grupos-controle.

Torna-se importante salientar que, adotando-se a condição doença como variável dependente, nenhuma das variáveis acima apresentadas foi significativa; por esta razão não foram tabuladas.

A análise do segundo grupo de variáveis (condições de habitação) revelou que o número de moradores no domicílio no grupo-caso apresentou uma média de 4,4 pessoas por domicílio, com média de área construída de 65,1 m<sup>2</sup>, sem diferença estatística em relação aos grupos-controle (Tabela 2).

**Tabela 2**– Valores de média das variáveis relacionadas a aglomeração domiciliar segundo grupo-caso e grupos-controle.

Variáveis	Grupos		p-valor
	Caso (doentes)	Controle (contactantes)	
Metros quadradas da casa	65,1 ± 25,44	61,45 ± 19,92	0,781
Número de pessoas na casa	4,43 ± 1,27	4,46 ± 1,07	0,909

\* Significância estatística (p<0,05 – Mann-Whitney)

Em um terceiro grupo de análise de variáveis, com o intuito de encontrar alguma associação entre o desfecho hanseníase com a poeira domiciliar, alergias, rinite hanseníca ou parasitismo intestinal, os indivíduos pesquisados foram interrogados com perguntas do questionário validado “International Study of Asthma and Allergies in Childhood” (ISAAC<sup>7</sup>) e demais perguntas elaboradas pelo autor da presente pesquisa (Tabela 3). Os resultados não apresentaram significância estatística entre o grupo caso e os grupos controle; exceto, pela condição de lacrimejamento ou prurido ocular no mês de setembro que foi relatado por 13,6% dos indivíduos do grupo-caso e 1,2% dos indivíduos-controle (OR=12,63, 1,24 – 128,25, p=0,03). Contudo, este resultado, isoladamente, não apresenta força de expressão.

<sup>7</sup> ISAAC, Estudo Internacional de Asma e Alergias na Infância, é um programa único de investigação epidemiológica mundial, criado em 1991 para investigar asma, rinite e eczema em crianças, devido à preocupação considerável que estas condições estavam aumentando nos países ocidentais e em desenvolvimento (SOLÉ et al. 2014).

**Tabela 3** – Distribuição de valores de frequência simples (%) das variáveis referentes aos antecedentes patológicos, queixas alérgicas e modo de limpeza doméstica de indivíduos do grupo-caso (doente) e dos grupos-controle (contato domiciliar e contato endêmico) nas Barrocas, Mossoró, RN, no período de novembro de 2015 a novembro de 2016.

Variáveis	Paciente		Contato domiciliar		Contato endêmico	
	Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%
<b>Teve espirro/coriza sem resfriado (gripe)</b>						
Sim	7	31,8	9	22,0	11	27,5
Não	15	68,2	32	78,0	29	72,5
<b>Em 12 meses teve espirro/coriza sem resfriado (gripe)</b>						
Sim	8	36,4	16	39,0	14	35,0
Não	14	63,6	25	61,0	26	65,0
<b>Lacrimejamento ou coceira nos olhos (Janeiro)</b>						
Sim	1	4,5	0	0,0	0	0,0
Não	21	95,5	41	100,0	40	100,0
<b>Lacrimejamento ou coceira nos olhos (Fevereiro)</b>						
Sim	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Não	22	100,0	41	100,0	40	100,0
<b>Lacrimejamento ou coceira nos olhos (Março)</b>						
Sim	0	0,0	2	4,9	0	0,0
Não	22	100,0	39	95,1	41	100,0
<b>Lacrimejamento ou coceira nos olhos (Abril)</b>						
Sim	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Não	22	100,0	41	100,0	40	100,0
<b>Lacrimejamento ou coceira nos olhos (Maio)</b>						
Sim	2	9,1	1	2,4	1	2,5
Não	20	90,9	40	97,6	39	97,5
<b>Lacrimejamento ou coceira nos olhos (Junho)</b>						
Sim	2	9,1	0	0,0	3	7,5
Não	20	90,9	41	100,0	37	92,5
<b>Lacrimejamento ou coceira nos olhos (Julho)</b>						
Sim	3	13,6	1	2,4	2	5,0
Não	19	86,4	40	97,6	38	95,0
<b>Lacrimejamento ou coceira nos olhos (Agosto)</b>						
Sim	2	9,1	1	2,4	1	2,5
Não	20	90,9	40	97,6	39	97,5
<b>Lacrimejamento ou coceira nos olhos (Setembro)</b>						
Sim	3	13,6	1	2,4	0	0,0
Não	19	86,4	40	97,6	40	100,0

**Lacrimejamento ou coceira nos olhos (Outubro)**

Sim	1	4,5	2	4,9	0	0,0
Não	21	95,5	39	95,1	40	100,0

**Lacrimejamento ou coceira nos olhos (Novembro)**

Sim	1	4,5	1	2,4	0	0,0
Não	21	95,5	40	97,6	40	100,0

**Lacrimejamento ou coceira nos olhos (Dezembro)**

Sim	1	4,5	2	4,9	0	0,0
Não	21	95,5	39	95,1	40	100,0

**Rinite**

Sim	5	23,8	7	18,4	9	23,1
Não	16	76,2	31	81,6	30	76,9

**Alergia a poeira**

Sim	7	33,3	10	29,4	8	25,0
Não	14	66,7	24	70,6	24	75,0

**Fez teste alérgico**

Sim	3	13,6	3	7,9	2	5,1
Não	19	86,4	35	92,1	37	94,9

**Obstrução nasal frequente**

Sim	6	27,3	11	26,8	3	7,5
Não	16	72,7	30	73,2	37	92,5

**Espirro frequente**

Sim	8	36,4	15	36,6	4	10,5
Não	14	63,6	26	63,4	34	89,5

**Coriza frequente**

Sim	3	13,6	5	12,2	4	10,0
Não	19	86,4	36	87,8	36	90,0

**Coceira no nariz frequente**

Sim	5	22,7	8	19,5	4	10,0
Não	17	77,3	33	80,5	36	90,0

**Coceira no ouvido**

Sim	4	18,2	11	26,8	8	20,0
Não	18	81,8	30	73,2	32	80,0

**Coceira nos olhos**

Sim	7	31,8	12	29,3	8	20,0
Não	15	68,2	29	70,7	32	80,0

**Amebíase / giardíase**

Sim	4	28,6	5	21,7	12	37,5
Não	10	71,4	18	78,3	20	62,5

**Faz limpeza doméstica**

Sim	12	57,1	17	42,5	18	46,2
Não	9	42,9	23	57,5	21	53,8
<b>Varredura da casa quantas vezes por semana</b>						
Até 02	6	27,3	10	24,4	12	30,0
Acima de 02	16	72,7	31	75,6	28	70,0
<b>Limpa os móveis</b>						
01 vez	0	0,0	0	0,0	3	7,5
02 vezes	14	63,6	19	46,3	12	30,0
03 vezes	7	31,8	13	31,7	19	47,5
04 vezes	1	4,5	9	22,0	6	15,0
<b>Passa pano úmido no chão por semana</b>						
Não passa	3	13,6	7	17,1	0	0,0
01 vez	9	40,9	13	31,7	5	12,5
02 a 04	4	18,2	9	22,0	14	35,0
Acima de 04	3	13,6	8	19,5	18	45,0
Todos os dias	3	13,6	4	9,8	3	7,5

No que concerne os hábitos de vida de doentes e seus contatos, a análise estatística dos dados da Tabela 4, apesar de não ter encontrado associação de risco, apontou alguns hábitos de risco desta comunidade, tais como: (1) compartilhar escovas de dente com seus contatos domiciliares, com 14,6% de frequência nos contatos domiciliares e 2,5% entre os contatos endêmicos; (2) o grupo-caso é o que mais visita seus vizinhos (71,4%); (3) os doentes comem carne de tatu com mais frequência que as famílias-controle (40,9% e 10%, respectivamente).

**Tabela 4** – Distribuição de valores de frequência simples (%) das variáveis relacionadas aos hábitos de vida em indivíduos do grupo-caso (doente) e dos grupos-controle (contato domiciliar e contato endêmico) nas Barrocas, Mossoró, RN, no período de novembro de 2015 a novembro de 2016.

Variáveis	Paciente		Contato domiciliar		Contato endêmico	
	Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%
<b>Conviveu com doentes</b>						
Sim	03	15,0	2	6,7	0	0,0
Não	17	85,0	28	93,3	32	100,0
<b>Come peixe da “bueira”</b>						
Sim	2	11,1	2	5,4	0	0,0
Não	16	88,9	35	94,6	30	100,0
<b>Comeu carne de tatu</b>						
Sim	9	40,9	14	34,1	4	10,0

Não	13	59,1	27	65,9	36	90,0
<b>Lazer (piscina)</b>						
Sim	3	13,6	4	9,8	4	10,0
Não	19	86,4	37	90,2	36	90,0
<b>Lazer (córrego)</b>						
Sim	3	13,6	2	4,9	2	5,0
Não	19	86,4	39	95,1	38	95,0
<b>Lazer (Rio)</b>						
Sim	3	13,6	4	9,8	4	10,0
Não	19	86,4	37	90,2	36	90,0
<b>Lazer (Lagoa)</b>						
Sim	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Não	22	100,0	41	100,0	40	100,0
<b>Lazer (Represa)</b>						
Sim	0	0,0	0	0,0	2	5,0
Não	22	100,0	41	100,0	38	95,0
<b>Faz pescaria nas bueiras</b>						
Sim	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Não	22	100,0	41	100,0	40	100,0
<b>Faz pescaria no Rio Apodi-Mossoró</b>						
Sim	2	9,1	2	4,9	1	2,6
Não	20	90,9	39	95,1	38	97,4
<b>Visita vizinho</b>						
Sim	5	71,4	9	60,0	18	62,1
Não	2	28,6	6	40,0	11	37,9
<b>Toma água no mesmo copo que outras pessoas</b>						
Sim	11	52,4	23	56,1	23	59,0
Não	10	47,6	18	43,9	16	41,0
<b>Toma água de torneira</b>						
Sim	3	13,6	4	9,8	0	0,0
Não	19	86,4	37	90,2	40	100,0
<b>Toma água de poço</b>						
Sim	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Não	22	100,0	41	100,0	40	100,0
<b>Toma água mineral</b>						
Sim	19	86,4	36	87,8	38	95,0
Não	3	13,6	5	12,2	2	5,0
<b>Toma água de origem desconhecida</b>						
Sim	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Não	22	100,0	41	100,0	40	100,0



<b>Escova dentes com escova de outras pessoas</b>						
Sim	3	14,3	6	14,6	1	2,5
Não	18	85,7	35	85,4	39	97,5
<b>Molha quintal</b>						
Sim	10	45,5	19	46,3	5	12,5
Não	12	54,5	22	53,7	35	87,5
<b>Pratica jardinagem</b>						
Sim	5	22,7	4	9,8	2	5,0
Não	17	77,3	37	90,2	38	95,0
<b>Anda descalço</b>						
Sim	8	36,4	23	57,5	18	45,0
Não	14	63,6	17	42,5	22	55,0
<b>Come fruta do quintal</b>						
Sim	5	22,7	6	15,0	2	5,0
Não	17	77,3	34	85,0	38	95,0
<b>Lava frutas/ legumes antes de comer</b>						
Sim	0	0,0	36	92,3	35	97,2
Não	22	100,0	3	7,7	1	2,8

Analisando as variáveis clínicas dos doentes (Tabela 5), a classificação operacional predominante neste *cluster* foi a paucibacilar (72,7%), com 54,5% dos indivíduos acometidos apresentando a forma clínica indeterminada ao diagnóstico, acompanhada da forma tuberculóide (18,2%). Nenhum paciente virchowiano foi diagnosticado e 27,3% dos doentes foram classificados como dimorfos. Observou-se que 90,9% dos pacientes possuíam até cinco lesões no momento da avaliação, sendo que 68,2% destes apresentaram grau de incapacidade física 0 (zero) ao diagnóstico, 27,3% com grau 1 de incapacidade e 4,5% com grau 2 de incapacidade.

No que se refere ao exame baciloscópico, apenas 9,1% (2/22) dos pacientes pesquisados tiveram positividade no exame de baciloscopia; sendo que, em sua totalidade, foram pacientes multibacilares o que resultou em 33,3% (2/6) de positividade neste grupo.

Em se tratando de análises sorológicas, os dois testes rápidos analisados comportaram-se de modo semelhante. Quando foi delimitada a análise das variáveis somente entre doentes, houve maior resultado de positividade com o teste OrangeLife® (IgM e IgG NDO-LID 1) com 50% de soropositividade; enquanto ML-*flow* (IgM ND-O-BSA) apresentou 36,4%. Todavia, os achados não apresentaram significância estatística, e se revelaram muito próximos nos grupos-controle (contato domiciliar e contato endêmico).

**Tabela 5** – Valores de frequência simples (%) das variáveis clínicas e sorológicas de hansenianos, contatos domiciliares e contatos endêmicos, Barrocas, Mossoró/RN, novembro de 2015 a novembro de 2016.

Variáveis	Paciente		Contato domiciliar		Vizinho	
	Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%
<b>Classificação operacional</b>						
Paucibacilar	16	72,7				
Multibacilar	6	27,3				
<b>Forma clínica</b>						
Indeterminada	12	54,5				
Tuberculóide	4	18,2				
Dimorfa	6	27,3				
<b>Baciloscopia</b>						
Positivo	2	9,1	-	-	-	-
Negativo	20	90,9	-	-	-	-
<b>ML-flow®</b>						
Positivo	8	36,4	7	17,1	3	7,5
Negativo	14	63,6	34	82,9	37	92,5
<b>OrangeLife®</b>						
Positivo	11	50,0	8	19,5	4	10,0
Negativo	11	50,0	33	80,5	36	90,0

Quando as variáveis clínicas foram analisadas quanto à positividade da sorologia, os dados apresentados na Tabela 6 apontaram para grande semelhança entre ambos, contudo mais uma vez também sem significância estatística.

**Tabela 6** – Valores de frequência simples (%) dos casos soropositivos para os testes OrangeLife® (n=11) e ML flow (n=08) em hansenianos, de acordo com as variáveis clínicas.

Variável	OrangeLife® n (%)	ML Flow® n (%)	p-valor
<b>Classificação operacional</b>			
Paucibacilar	06 (54,5)	04 (50,0)	0,527
Multibacilar	05 (45,5)	04 (50,0)	0,739
<b>Forma clínica</b>			
Indeterminada	02 (18,2)	01 (12,5)	0,564
Tuberculóide	04 (36,4)	03 (37,5)	0,705
Dimorfa	05 (45,5)	04 (50,0)	0,739

\* Significância estatística ( $p < 0,05$  – Qui-quadrado para proporções homogêneas)

Como o teste OrangeLife® foi o que apresentou maior positividade no grupo Paucibacilar, a condição soropositividade para este teste foi empregada como variável dependente frente a todas as demais variáveis presentes no questionário. Daí, os resultados com significância foram apresentados na Tabela 7.

**Tabela 7** - Valores de frequência simples (%) dos casos soropositivos para os testes OrangeLife®, de acordo com as variáveis sociodemográficas, clínicas e epidemiológicas, Barrocas, Mossoró, RN, novembro de 2015 a novembro de 2016.

Variáveis	Orange Life		OR	IC95%	p-valor
	Positivo (%)	Negativo (%)			
<b>Idade</b>					
Até 15 anos	02 (8,7)	09 (11,3)	1		
15 a 30	03 (13,0)	22 (27,5)	0,61	0,08 – 4,31	0,041**
30 a 45	08 (34,8)	32 (40,0)	1,12	0,20 – 6,26	
45 a 60	06 (26,1)	12 (15,0)	2,25	0,36 – 13,88	
Acima de 60	04 (17,4)	05 (6,3)	3,60	0,47 – 27,12	
<b>Fez teste alérgico</b>					
Sim	05 (21,7)	03 (3,9)	6,75	1,47 – 30,95	0,016*
Não	18 (78,3)	73 (96,1)	1		
<b>Quantidade de janelas</b>					
Até 02	20 (87,0)	51 (63,8)	3,79	1,03 – 13,85	0,034*
Acima de 02	03 (13,0)	29 (36,3)	1		
<b>Na casa alguém teve hanseníase</b>					
Sim	09 (39,1)	14 (18,2)	2,89	1,04 – 8,00	0,036*
Não	14 (60,9)	63 (81,8)	1		

\* Significância estatística ( $p < 0,05$ ); \*\* Significância estatística ( $p < 0,05$  – Qui-Quadrado para associação linear); OR: Odds Ratio; IC95%: Intervalo de confiança a 95%.

Nesta tabela, observando a variável idade, foi verificado que, quanto maior a idade de um indivíduo residente neste *cluster*, maior a chance de ser soropositivo pelo teste OrangeLife®. Posto isto, nas Barrocas, Mossoró /RN, um indivíduo com mais de 60 anos de idade tem 3,6 vezes mais chances de ter reação sorológica positiva para hanseníase com o teste avaliado do que um jovem menor de 15 anos de idade ( $p=0,041$ , IC 95%, 0,47 – 27,12).

Outros resultados significativos foram: histórico de realização de teste alérgico e quantidade de janelas no domicílio.

A análise desta última variável, constatou uma chance quase quatro vezes maior de ter IgM e IgG reagente contra NDO-LID 1 quando se mora em residências com menos de duas janelas no território pesquisado ( $p=0,034$ , OR= 3,79, IC 95%,1,03 – 13,85).

Chamou atenção o fato de 77,3% destas moradias de hansenianos possuírem até 03 cômodos e 81,8% delas possuírem, no máximo, 02 janelas; todavia, não houve associação estatisticamente significativa, conforme dados apresentados anteriormente na Tabela 1.

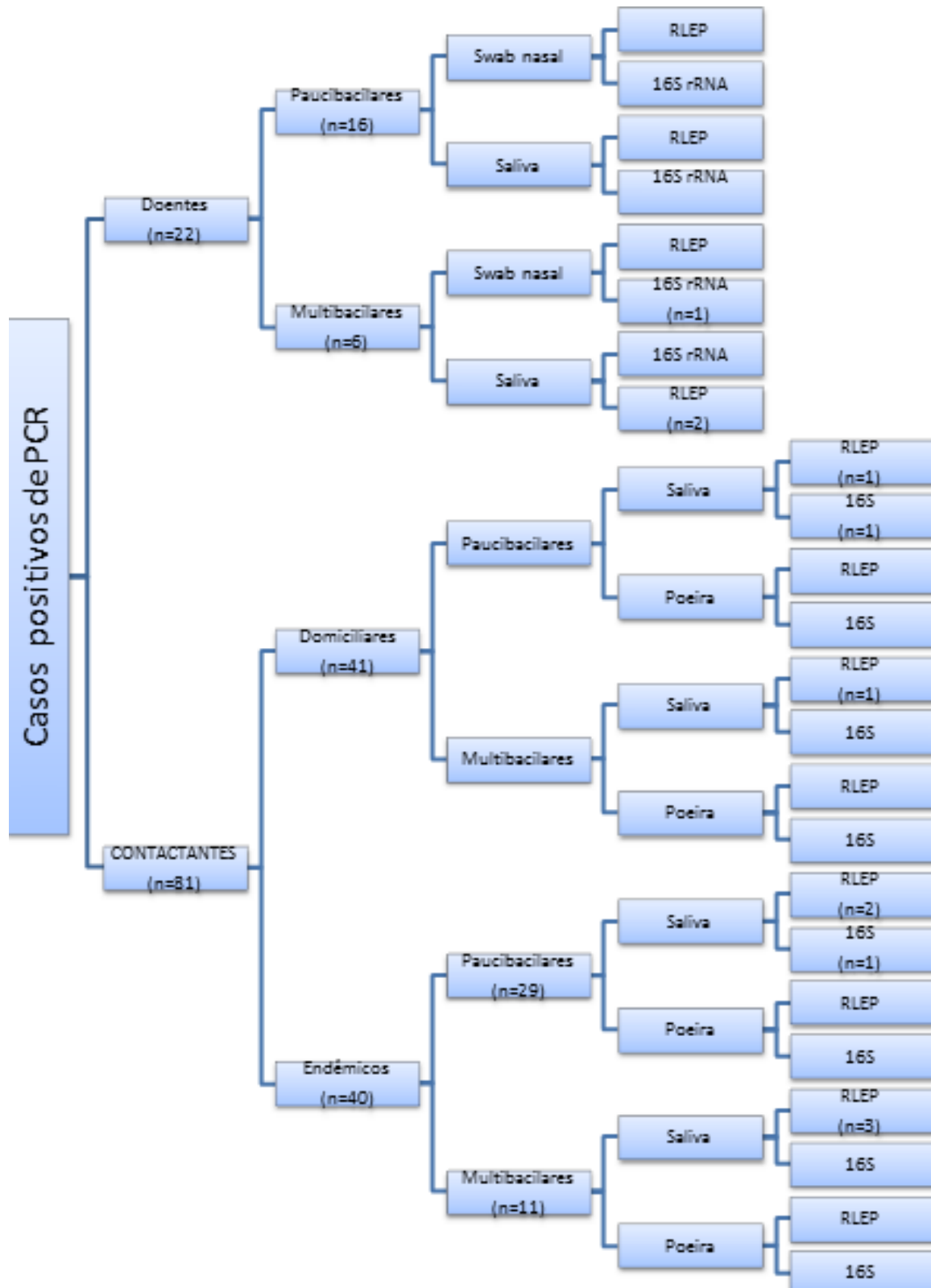


**Figura 10** – Padrão arquitetônico das casas geminadas, compartilhando paredes e telhado, sem janelas nas laterais, com canal pluvial que carrega esgoto e lixo à frente. Rua Juvenal Lamartine, Barrocas, Mossoró, RN.  
Fonte: Autor (2016)

Já a observação da associação entre ser soropositivo para o teste rápido OL e realização de exames alérgicos (teste alérgico), apontou para histórico de realização do exame para constatação de alergia quase sete vezes maior entre os soropositivos ( $p= 0,016$ , IC95% 1,47-30,95, OR 6,75) do que entre aqueles que foram soronegativos para o OL.

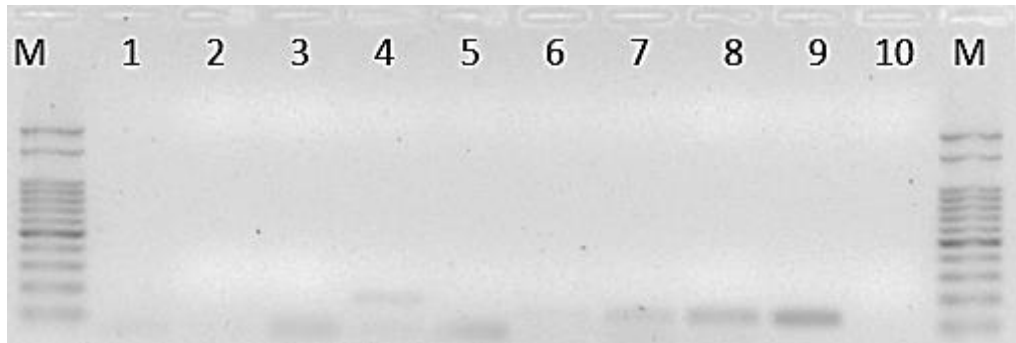
A última análise de variáveis clínicas e sorológicas foi a avaliação de histórico de casos antigos de hanseníase dentro do domicílio, na qual ter histórico de, pelo menos um membro doente de hanseníase na família, esteve associado a um risco 2,89 vezes maior de um membro sadio dessa família ser OL soropositivo ( $p=0,036^*$ , IC 95%, 1,04 – 8,00, OR =2,89).

O último pilar de análises deste trabalho foi a pesquisa molecular de *M. leprae* em amostras biológicas e ambientais, com resultados demonstrados na Figura 11.



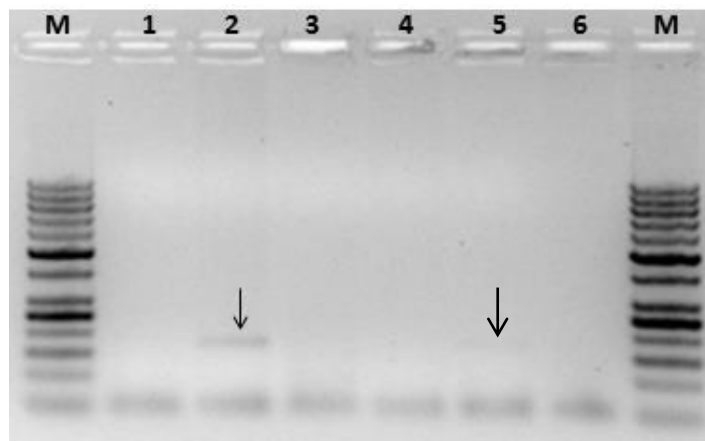
**Figura 11** – Fluxograma de resultados de positividade de PCR com *primers* RLEP e 16S rRNA nos grupos caso e controle, Barrocas, Mossoró, RN, novembro de 2015 a novembro de 2016.

A pesquisa de DNA bacilar nas amostras de saliva de doentes resultou em positividade em 33,3% (2/6) pacientes multibacilares com *primer* RLEP (Figura 12).



**Figura 12** – Gel de agarose a 1,5% corado com brometo de etídio e submetido à eletroforese. M: marcador de peso molecular de 100pb (Sinapse® Biotecnologia). Canaleta 5: controle positivo com *primer* 16S rRNA. Canaletas 7 e 8: produtos de reação de saliva de dois pacientes multibacilares com *primer* RLEP. Canaleta 9: Controle positivo, *primer* RLEP. Canaleta 10: controle negativo, sem adição de DNA

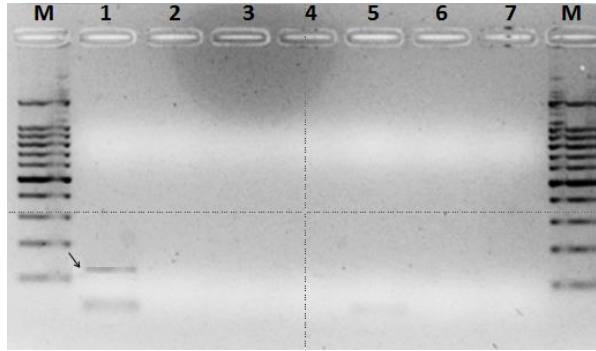
No mesmo grupo de doentes multibacilares, 16,7% (1/6) teve amostra de *swab* nasal positiva para o *primer* 16s rRNA.



**Figura 13** – Gel de agarose a 2% corado com brometo de etídio e submetido à eletroforese. M: marcador de peso molecular de 50 pb (Sinapse® Biotecnologia). Canaleta 2: produto de PCR de *swab* nasal de paciente multibacilar, utilizando *primer* 16S rRNA. Canaleta 5: controle positivo. Canaleta 6: controle negativo, sem adição de DNA.

Considerando os contatos domiciliares de todos os envolvidos na pesquisa, houve positividade para saliva em 7/81 com o *primer* RLEP e 2/81 para o 16S rRNA.

Quando se analisa, isoladamente, o grupo de contatos domiciliares, obteve-se positividade na saliva em 2/41 para RLEP e 1/41 16S rRNA (Figura 14).



**Figura 14** – Gel de agarose a 2% corado com brometo de etídio e submetido à eletroforese. M: marcador de peso molecular de 100pb (Sinapse® Biotecnologia). Canaleta 1: produto de PCR de amostra de saliva de contato domiciliar de doente paucibacilar, utilizando *primer* 16S rRNA. Canaleta 7: controle negativo, sem adição de DNA.

Já em relação aos contatos endêmicos (vizinhos), houve positividade na saliva de 12,5% (5/40) para *primer* RLEP e de 2,5% (1/40) para 16S rRNA.

A pesquisa de DNA de *M. leprae* na poeira domiciliar de doentes e contatos endêmicos apresentou resultado negativo nas 44 amostras estudadas.

## 6 DISCUSSÃO

Este estudo caracterizou um *cluster* de hanseníase na endêmica cidade de Mossoró, localizado na área de adscrição da UBS Sinharinha Borges, no bairro Barrocas. Nesta discussão, para aproximar a análise comparativa dos aspectos encontrados na literatura com o *status* atual da população pesquisada, foi dada prioridade aos artigos realizados em populações das áreas hiperendêmicas do Brasil, em especial da região nordeste, baseado na existência de características regionais no acometimento da hanseníase, já revisados neste trabalho.

Observando as variáveis sociodemográficas, nota-se que muitos aspectos avaliados permaneceram muito próximos aos encontrados nos primeiros estudos realizados no município de Mossoró há 12 anos.

Um deles é o acometimento mais frequente em mulheres. Enquanto a literatura traz predominância do sexo masculino, o presente estudo apontou percentual de 72,7% de mulheres acometidas, refletindo um padrão semelhante ao encontrado por Dias e colaboradores (2007) em toda a cidade de Mossoró. Para a WHO (2010), os homens são mais afetados que as mulheres na maior parte do mundo, geralmente numa proporção de 2:1, devido à maior exposição do homem ao bacilo no ambiente não doméstico. Mas, a prevalência de casos entre mulheres na atual pesquisa diverge, até mesmo, do restante do estado do Rio Grande do Norte, no qual o percentual foi de 47% (AMORIM et al., 2016).

Não obstante, resultados com predominância feminina foram obtidos estados do Maranhão, Paraíba, Ceará, Minas Gerais e Mato Grosso nos últimos dois anos; ainda que os mesmos tenham demonstrado percentuais inferiores de predominância, o percentual de mulheres variou entre 51,8 e 52,5%, (PINHO et al., 2015; BRITO et al., 2016; QUEIRÓS et al., 2016; NICCHIO et al., 2016; MARTINS et al., 2016).

Queirós e colaboradores (2016) atribuíram tais resultados ao êxito dos programas de saúde pública focados na saúde da mulher, ao maior autocuidado feminino, ao senso de responsabilidade familiar e a maior preocupação com a estética. Mas, provavelmente, o principal fator dessa maior ocorrência entre as mulheres tenha sido a crescente integração no mercado de trabalho e a aproximação com os cenários de exposição ao bacilo, há tempos verificado entre os homens.

Em relação à idade, a população estudada é jovem. A média de idade dos doentes foi de 39,1 anos, com 27,3% destes indivíduos com menos de 15 anos de idade. Na última década



o percentual desta faixa etária na composição total dos casos do município era de 19% (DIAS et al., 2007). Isto faz com que o *cluster* do Bairro Barrocas, Mossoró, RN ande na contramão das tendências dos municípios com maior hiperendemicidade, pois em vez de haver uma diminuição na detecção entre os menores de 15 anos, observa-se, aqui, um aumento, com expressiva composição de casos com forma clínica indeterminada (54,5%); assim como destacado por Freitas, Duarte e Garcia (2016). Antagonicamente ao padrão mossoroense e seguindo o padrão esperado das cidades hiperendêmicas, houve baixa prevalência (3%), nessa faixa de idade, em Uberlândia/MG e nos dois estados vizinhos ao Rio Grande do Norte (Ceará e Paraíba) os resultados foram 6,3 e 8,28%, respectivamente (QUEIRÓS et al., 2016; BRITO et al., 2016).

Uma justificativa para a elevada detecção entre os jovens pode ser as grandes mudanças na atenção à saúde que ocorreram no Brasil entre 2007 e 2010, uma vez que a descentralização de assistência à saúde orientada para a atenção primária, com vistas no controle de doenças em crianças menores de 15 anos e monitoramento de contatos, resultou no rastreamento bem direcionado em escolas, principalmente nas localidades mais acometidas das cidades hiperendêmicas (BRITO et al., 2016).

Em consonância com estes autores, foi verificado que entre as ações de saúde executadas em Mossoró, o Programa de Saúde da Escola (PSE)<sup>8</sup> pode ter sido um dos fatores responsáveis por estes números; haja vista grande busca ativa realizada pelas equipes da Estratégia de Saúde da Família em todas as escolas da rede municipal de ensino de Mossoró, RN no ano de 2015, por exemplo (BRASIL, 2007; 2008d; MOSSORÓ, 2015). Neste *cluster*, verificou-se ampla cobertura do território pelas equipes 120 e 121 do município de Mossoró/RN, habituadas na busca ativa de doentes e perspicazes no diagnóstico clínico.

Na pormenorização dos dados sociodemográficos da população em análise, a maioria dos doentes se autodeclarou parda (54,5%); similarmente ao relatado pelos investigadores do estudo de Souza et al. (2013) e Miranzi et al. (2010).

Já concernente ao nível educacional e à renda familiar dos indivíduos estudados nesta comunidade, conforme esperado, a maior faixa de doentes (77,2%) possuía, no máximo, o ensino fundamental; e, expressivos, 68,2% das famílias de doentes declararam renda mensal total de até 03 salários mínimos. Estes resultados são muito próximos aos do trabalho de Araújo e colaboradores de 2014, no qual 90% das famílias de doentes possuíam até 04

---

<sup>8</sup> **Programa de Saúde na Escola** foi instituído através Decreto nº 6.286, de 5 de dezembro de 2007, com o objetivo de promover cuidado multidisciplinar e atenção integral à saúde de crianças e adolescentes, aproximando as unidades básicas de saúde às escolas do ensino fundamental.

salários mínimos de renda total mensal e 79,8% dos doentes tinham baixa escolaridade. Estes autores também não encontraram diferença significativa destes critérios entre o grupo-caso e o grupo-controle. Eis aqui mais uma ratificação de que baixa escolaridade e pobreza figuram juntas no retrato da iniquidade social da hanseníase (DUARTE-CUNHA et al., 2015).

Outro pilar relacionado à desigualdade social que sofreu pouca alteração nos últimos anos foi o sanitarismo, que no grupo-caso e nos grupos-controle se revelaram com elevados percentuais de residências sem saneamento básico completo, assim como documentado em estudos de georeferenciamento realizados no município em questão (DIAS et al., 2005; ARAÚJO et al., 2014).

Ainda neste sentido, a análise das condições de salubridade residencial do universo amostral estudado revelou que, apesar de constituírem aglomerados de indivíduos residindo em pequenos espaços, de modo surpreendente, não houve significância estatística na associação das variáveis: área construída, número de residentes no domicílio, número de cômodos, iluminação, umidade, cobertura de abastecimento de água, tipo de piso, histórico de enchentes, acúmulo de lixo na residência, forma e frequência de limpeza doméstica. Tal elenco de variáveis pouco têm sido estudado; todavia, os resultados ora encontrados, divergem dos apontados pelo estudo de Dias et al. em 2014 realizado em Gurupi/TO.

Quando se procurou a intersecção entre os resultados dos estudos de georeferenciamento de Queiroz et al. (2010), que apontaram maior concentração de casos junto aos canais pluviais que carregam lixo e esgoto e que entrecortam o território, com os dados epidemiológicos pesquisados no presente trabalho (práticas de lazer e pesca nessas águas, inundamento das residências nas enchentes, abastecimento de água, forma de água ingerida, hábito de andar descalço) o resultado foi negativo.

Continuando a observação das variáveis relacionadas às condições de habitação, uma delas se destacou por estar associada a risco significativo para adoecimento por hanseníase, qual seja: residir onde há, no máximo, duas janelas ( $p= 0,034$ , IC95%, 1,03 – 13,85, OR 3,79). Esta importante associação abre um grande leque de possibilidades investigativas sobre a dinâmica do ar nestas residências e sobre como se dá a ressuspensão das partículas contaminantes nestes ambientes.

Partindo para a exploração dos parâmetros clínicos avaliados, a maioria dos casos foi classificada operacionalmente com a forma Paucibacilar; com 27,3% de doentes multibacilares, corroborando os resultados anteriores encontrados em todo o município por Moura e colaboradores (2013). Tal padrão de distribuição municipal divergiu da maior parte

dos trabalhos brasileiros recentemente publicados, que variaram o percentual de multibacilares entre 57,4 a 67,3% (NICCHIO et al., 2016; AMORIM et al., 2016; MARTINS et al., 2016; MORANO et al. 2016).

Em relação a estes achados, uma justificativa seria a concentração de casos em indivíduos jovens, nos quais se espera encontrar mais casos paucibacilares (FLACH et al., 2010; OLIVEIRA; DINIZ, 2016). Analogamente, houve predomínio nesta faixa etária em Salvador, com 17% dos doentes classificados como forma clínica indeterminada e 69,3% com a forma tuberculóide (SANTOS et al., 2016).

Este perfil clínico de distribuição dos doentes concentrado no polo paucibacilar reflete diretamente na avaliação baciloscópica; uma vez que este exame só é positivo quando há massa expressiva de bacilos por grama de tecido (BRASIL, 2010).

Assim, levando-se em consideração todos os doentes diagnosticados neste trabalho, a positividade da baciloscopia foi de 9,1% (2/22); porém, quando se excluiu os paucibacilares, a positividade elevou-se para 33,3% (2/6). Queirós e colaboradores (2016) encontraram positividade em 28,7% dos exames; além de 17,4% de laudos inconclusivos. Os resultados destes pesquisadores são expressivos em se tratando de um universo de pacientes, predominantemente, multibacilares (69,2%). Também com amostras, majoritariamente, de multibacilares, os achados variaram de 12,1% a 29,3% na Paraíba, Ceará e Cuiabá/MT (Brito et al., 2016; Queirós et al., 2016; Martins et al., 2016).

Outra variável clínica avaliada foi o grau de incapacidade física. Nas Barrocas, 77,3% dos doentes não apresentaram incapacidade física no momento do diagnóstico (grau 0). Este indicador tem ampla variação na literatura, indo de 42,1% a 76,3% (MORANO et al., 2016; BRITO et al., 2016; QUEIRÓS et al., 2016).

De modo semelhante ao argumento anteriormente empregado na discussão da positividade da baciloscopia, é sabido que, quanto maior for o perfil de multibacilaridade, maior a possibilidade de encontrar elevados graus de incapacidade em um dado ambiente; tal como se obteve nos estudos de Martins e colaboradores (2016), com 11,5% dos doentes com grau 2 de incapacidade. Como esta pesquisa apresentou elevados percentuais de paucibacilaridade, houve percentual reduzido de grau 2 de incapacidade (4,5%).

Além disso, estes resultados, segundo Queiroz Xavier et al. (2016) estimam a eficiência no diagnóstico precoce dos casos e demonstram a qualidade na atenção ao paciente com hanseníase.

Ainda no campo das repercussões clínicas, a análise da cobertura vacinal com BCG, um marcador de forte impacto nas ações de prevenção da hanseníase, revelou ausência de cicatriz vacinal em 31,8% (7/22) dos doentes. Quando se particularizou o grupo multibacilar, houve elevação desse percentual para 66,7%. Semelhantemente, Pinho e colaboradores (2015) apontaram a falta de cicatriz vacinal em 47,5% dos doentes pesquisados no Maranhão. A relevância deste marcador se explica na proteção conferida contra a hanseníase que pode chegar a 80% por meio de reação imunológica cruzada contra o Bacilo de Calmette-Guerin (ROMERO-MONTOYA, BELTRAN-ALZATE, CARDONA-CASTRO, 2017).

Na correlação dos resultados de soroprevalência entre os dois testes, foi semelhante e com discreta superioridade do OL, o qual foi tomado como referência. Com este teste sorológico, a soropositividade entre multibacilares (45,5%) foi menor que os resultados publicados por Wen et al. (2014) na China e por Duthie et al. (2014) no Nepal e no Brasil, cujos percentuais foram, respectivamente, 95%, 87% e 84%. Por outro lado, a soropositividade de 54,5% entre os paucibacilares apontados no presente trabalho foi superior ao percentual encontrado por Duthie et al. (2014) no Nepal (32,3%) e por Cardoso et al., (2013) em Goiás, Brasil (21,2%).

Cabe aqui registrar que alguns indivíduos 15,9% (7/44), especialmente os mais jovens, recusaram-se em colaborar com a coleta de, pelo menos, um dos testes aplicados. Tal fato também ocorreu no estudo de DÜPPRE et al. (2012), no Rio de Janeiro, no qual a dificuldade em fazer punção digital em crianças elevou a média de idade entre os que tiveram a sorologia pesquisada. Isto pode ter sido uma das causas responsáveis pela configuração de soropositividade encontrada no presente trabalho, que divergiu do padrão predominante na literatura.

Outra importante ressalva é que no presente estudo não foi diagnosticado nenhum doente virchowiano, o que compromete, sobremaneira, a porcentagem de soropositividade no polo multibacilar do espectro clínico. Em um trabalho recente, englobando todo o estado do Rio Grande do Norte, e com percentual de 66% de doentes multibacilares, Amorim et al. (2016) ratificaram a magnitude da resposta sorológica variando conforme a classificação operacional dos doentes utilizando-se do mesmo antígeno NDO-LID 1. Contudo, apesar de se tratar do mesmo antígeno, na pesquisa anteriormente citada foi empregada a metodologia laboratorial ELISA, mais dispendiosa e dependente de operacionalidade eficiente no sistema público de saúde. O teste ELISA com soro de doentes apresentou sensibilidade para o antígeno NDO-LID 1 de 95% e especificidade de 88% entre os multibacilares.

Tal como ocorre nas técnicas de Epidemiologia Molecular, a diversidade de antígenos, de técnicas e de material amostral (sangue total fresco ou soro), acrescidas às diversidades inerentes aos grupos populacionais, já aqui revisadas em sua heterogeneidade, dificultou a comparação entre resultados tão variados.

Um exemplo dessa pluralidade revelou-se durante a avaliação de soropositividade entre os contactantes domiciliares e entre os contatos endêmicos. Enquanto Duthie et al. (2014) e Cardoso et al (2013), com seus respectivos 3,9% e 5,3% de soropositividade com OL entre contatos domiciliares apresentaram resultados inferiores aos 19,5% de soropositividade nas Barrocas, Mossoró/RN, 2017; Wen et al. (2014) e Nicchio et al. (2016) apresentaram, respectivamente, 21,4% e 42,5%.

Já em relação à soropositividade entre os contatos endêmicos, o *cluster* das Barrocas apresentou o mesmo resultado (10%) encontrado na China por Wen et al. (2014), e maiores que Duthie et al. (2014) e Cardoso et al (2013).

Como não existe nenhuma técnica laboratorial que seja capaz de, isoladamente, diagnosticar a hanseníase (CHAN; SMOLLER, 2016), e cada vez mais percebe-se perda da capacidade de diagnóstico clínico entre os médicos (DUTHIE et al., 2014; YAP et al., 2015), principalmente, os formados em áreas não endêmicas, sem material humano para estudo, faz-se necessário discutir a utilização de teste rápido para saúde pública no intuito de auxiliar na avaliação de populações de alto risco e que, funcionem como ponto de corte na tomada de decisões sobre a PQT e no rastreamento dos indivíduos portadores assintomáticos e casos subclínicos (BAHMANYAR et al., 2016). No Brasil, já existe portaria 77/2012 do MS que dispõe sobre a realização de testes rápidos, na atenção básica, para a detecção de HIV e sífilis, assim como testes rápidos para outros agravos, no âmbito da atenção pré-natal para gestantes e suas parcerias sexuais.

Esta normatização encontra-se com boa operacionalidade na rede de atenção básica de Mossoró e poderia ser ampliada com o rastreamento de hanseníase, pelo menos, nos dois *clusters* georeferenciados no município por Queiroz et al., 2010. É oportuno relatar que não houve dificuldade de execução da realização dos testes rápidos na UBS Sinharinha Borges, Mossoró/RN; haja vista que dispositivos sorológicos de natureza semelhante já são familiares na rede de atenção básica de saúde e já fazem parte da rotina de trabalho destes profissionais.

Outra valiosa comparação entre recursos diagnósticos ocorreu entre baciloscopia e soropositividade. Neste paralelo, as sorologias apresentaram positividade entre 45,5 e 54,5%, incluindo os dois grupos clínicos operacionais, constituindo maior detecção que a

baciloscopia, com 33,3% (2/6) de positividade no grupo restrito de pacientes MB. Corroborando estes resultados, Amorim et al. (2016) também encontraram maior sensibilidade sorológica que baciloscópica no Rio Grande do Norte.

Quanto à divergência de alguns resultados deste estudo com os achados na literatura, uma das hipóteses cabíveis é a possibilidade de ter havido incongruência na classificação clínica dos doentes baseada no exame histopatológico, ainda considerado padrão ouro; a despeito de todas as limitações já aqui referenciadas.

Tal incongruência pode ter existido, principalmente no grupo dos doentes classificados em MHT, haja vista que a variação na concordância entre quadro clínico/classificação operacional da WHO e exame histopatológico varia entre 58,1 a 74,7% (CHAN; SMOLLER, 2016). Os mais baixos percentuais de concordância se dão nos indivíduos com a forma indeterminada (28,57%) e MHT (44,44%) (KHATIB; KHAIRE, 2017), pontualmente os principais grupos encontrados nesta pesquisa.

Por fim, adentrando na análise do último eixo de investigação deste trabalho, o estudo molecular de amostras de *swabs* nasais, de saliva e de poeira doméstica, os resultados apresentaram baixa positividade, com insuficiência de dados para análise estatística.

Entre os doentes, a positividade em amostras de saliva para RLEP foi de 9,1% (2/22) e de 4,5% (1/22) para 16S rRNA. Estes resultados foram inferiores aos 31,6% de positividade entre paucibacilares descritos por Rosa e colaboradores em 2014, com a importante ressalva de que estes pesquisadores se utilizaram de técnica qPCR, mais sensível e mais dispendiosa que a PCR convencional empregada na presente pesquisa.

Ao passo que, valendo-se de PCR convencional, Martinez e colaboradores (2011) obtiveram positividade global também superior aos resultados desta pesquisa, com positividade em pacientes e contatos de 18,26% e 6,83%, respectivamente, na PCR convencional de *swab* oral com *primer* RLEP. Aqui também se faz o reforço de que estes pesquisadores se utilizaram de amostras de *swab* oral em vez de saliva para obtenção de DNA, o que pode influenciar na taxa de positividade final.

No tocante a pesquisa de DNA bacilar em *swab* nasal de doentes com *primer* RLEP, os resultados do presente estudo (4,5% ou 1/22) estiveram aquém de resultados encontrados por Lima e colaboradores em 2015 na cidade de Fortaleza/CE, os quais obtiveram a positividade de *swab* nasal em doentes com *primer* RLEP de 69,2%. Já Araújo et al. (2016) conseguiram detecção do DNA de *M. leprae* através de qPCR de RLEP no vestíbulo nasal de

66,4% dos pacientes. Mais uma vez cabe a ressalva da utilização de variante de metodologia no último trabalho citado.

Quanto ao estudo dos contatos domiciliares, o único indivíduo com positividade de saliva para o *primer* 16S rRNA respondendo por 4,5% (1/22) desta classe de indivíduos, também apresentou soropositividade para os dois testes rápidos. Esta combinação de resultados possibilitou o diagnóstico do indivíduo como caso subclínico. Parâmetros semelhantes de definição de subclenicidade foram utilizados por outros autores, que consideraram a infecção subclínica entre os contatos quando PCR e ELISA anti-PGL-1 apresentaram resultados positivos, na ausência de sinais e sintomas clínicos (ROSA et al., 2014).

Já o rastreio dos contatos endêmicos (vizinhos), revelou positividade de saliva para o *primer* 16S rRNA em 2,5% (1/40) e 12,5% (5/40) com o *primer* RLEP. Nestes indivíduos, quando foi feita a associação deste resultado molecular com o resultado sorológico negativo para ambos os testes sorológicos empregados, houve preenchimento de critérios para *status* de portador assintomático.

Salienta-se ainda que, todos os contatos que apresentaram positividade de PCR neste estudo, possuíam 01 cicatriz vacinal de BCG. Também há que se reforçar que tanto o *status* portador assintomático quanto o caso subclínico requerem afincos no seguimento clínico, com controvérsias sobre a adoção ou não de quimioprofilaxia (DÜPPRE et al., 2012).

Quanto à pesquisa de *M. leprae* na poeira doméstica, nenhuma amostra apresentou positividade com as condições usuais de PCR convencional. Em virtude do pioneirismo desta pesquisa, não foram encontrados protocolos e resultados de PCR voltados, especificamente, para a extração do DNA bacteriano na poeira domiciliar.

Muito embora o DNA deste micro-organismo já tenha sido encontrado no solo de áreas de lazer, em áreas comuns e até no solo de peridomicílio de alguns *clusters*, conforme levantamento do referencial teórico aqui apresentado, os achados mais próximos ao investigado no presente trabalho foram os de Kettleson et al. (2013) que documentaram a presença do gênero *Mycobacterium* na poeira doméstica através de qPCR, mas não de PCR convencional; nem tampouco houve direcionamento no estudo destes pesquisadores para identificação de espécies deste gênero.

Contudo, a associação estatística encontrada entre o número de janelas/residência menor que 2 e aumento de soropositividade para hanseníase, somados aos achados de Qian, Peccia e Ferro (2014) - os quais demonstraram que a ressuspensão de partículas dentro de

casa aumenta o risco de exposição prolongada por inalação e ingestão não intencional de patógenos, sendo uma importante fonte de material contaminante - , junto às evidências de que o solo trazido por calçados e partículas oriundas da infiltração do ar externo são relevantes na composição da poeira doméstica (LAYTON; BEAMER, 2009), agregado aos achados nesta comunidade pesquisada que indicam que o grupo-caso é o que tem mais hábito de frequentar a residência de vizinhos e que as moradias são muito próximas, compartilhando paredes laterais e telhado numa configuração de casas geminadas ou conjugadas, embasam a continuidade de estudos para detectar o *M. leprae* na poeira doméstica e estabelecer seu papel na dinâmica rede de transmissão da doença.



## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desde a sua concepção, esta pesquisa incorporou o conceito de tríade ambiente-tecnologia-sociedade indissociável e capaz de perpassar todos os seus estágios evolutivos: da problemática inicial ao retorno dos resultados à sociedade.

Ante as várias questões levantadas acerca da endemicidade da hanseníase, a constatação de maior detecção em jovens menores de 15 anos, com grau 0 (zero) de incapacidade e predominância de formas paucibacilares apontaram para diagnóstico precoce da doença na população analisada.

Além destas evidências, fez-se notório que o padrão de baixa escolaridade, baixa renda, insalubridade ambiental, aglomeração populacional e hábitos de vida inadequados compuseram um perfil sociodemográfico e epidemiológico que atestou o contexto de vulnerabilidade social da população afetada.

Nestes indivíduos, não houve diferença estatística entre o número de cicatrizes de vacina BCG nos doentes e nos seus contatos. Ambos os grupos apresentaram baixa cobertura vacinal.

Da correlação clínica-epidemiologia-sorologia, este estudo revelou que os dois testes rápidos sorológicos avaliados, ML-flow e OrangeLife®, apresentaram resultados semelhantes, com maior positividade entre os paucibacilares através deste último. Ambos foram superiores à baciloscopia.

Destaca-se que ter histórico de casos de hanseníase na família aumenta em quase três vezes o risco de apresentar soropositividade pelo teste sorológico IgM e IgG anti NDO-LID 1 (OrangeLife®) nesta comunidade.

Esta análise apontou ainda que residir em moradias com até duas janelas oferece quatro vezes mais chance de evoluir para este desfecho, provocando à continuidade de pesquisas sobre os mecanismos de ressuspensão de partículas contaminantes nestes ambientes insalubres com pouca ventilação natural.

Com o objetivo de estudar a dinâmica de transmissão ambiental da doença, lançou-se mão de investigação inédita por PCR convencional com os marcadores moleculares RLEP e 16S rRNA. Não foi detectado DNA bacilar nos domicílios de doentes nem de seus vizinhos.

Quanto à detecção de DNA bacilar em amostras biológicas humanas, houve maior positividade com o primer RLEP do que com primer 16S rRNA. Além de maior positividade

nas amostras de saliva do que nas amostras de *swab* nasal de multibacilares com o primer RLEP. Não foi detectado DNA bacteriano entre os *swabs* de paucibacilares.

Já em relação à pesquisa de DNA em saliva de contatos endêmicos, maior positividade se deu com o *primer* RLEP entre os vizinhos de multibacilares.

A associação de detecção molecular e avaliação sorológica possibilitou identificar casos de subclínica entre contatos domiciliares e indivíduos com *status* portador assintomático entre os contactantes.

Em sua totalidade, a realização deste estudo colaborou para uma melhor compreensão do perfil de adoecimento deste *cluster* na endêmica cidade de Mossoró e poderá favorecer a elaboração de projetos de combate bem direcionados às singularidades locais, além do fortalecimento e aperfeiçoamento dos programas em andamento, a fim de acelerar o processo de eliminação, em um futuro próximo, desta endemia silenciosa, sequelante e onerosa aos sistemas públicos de saúde e previdenciário.

## 7.1 Contribuições e perspectivas futuras

Este estudo revelou maior detecção em mulheres e jovens em idade escolar, fazendo-se necessário que se mantenha celeridade no diagnóstico desses públicos-alvo e que sejam elaboradas estratégias mais eficazes de alcance ao difícil e pouco participativo público masculino na faixa etária da população economicamente ativa; pois a demora nesse processo causa sequelas e deformidades, além de importantes repercussões sociais e psicológicas.

Outra contribuição desta pesquisa não prevista em sua idealização inicial foi a constatação prática de que a realização dos testes rápidos e a coleta de material biológico para PCR não ofereceram dificuldades ou entraves na rotina de trabalho das equipes da ESF envolvidas, já que as mesmas mostraram-se habituadas na realização de outros exames sorológicos de finalidades diversas e regulamentados por portarias ministeriais.

Destaca-se também que, apesar de teste rápido molecular e teste rápido sorológico terem finalidades diferentes entre si e fornecerem informações diferentes e complementares para elaboração do raciocínio clínico e tomada de conduta, eles compartilharam os benefícios de serem mais rápidos, menos invasivos, menos dolorosos e mais aceitos pela população que a baciloscopia e biópsia, que são os métodos disponíveis na rede pública de saúde para diagnóstico da hanseníase.

A despeito de todas as limitações no âmbito da pesquisa molecular já discutidas em seção anterior, os resultados deste trabalho apontam como perspectivas futuras para o enfrentamento da doença: (1) realização de teste sorológico rápido (OrangeLife®) no máximo de indivíduos residentes nos *clusters* do município, o qual se mostrou de fácil aplicabilidade em campo e com positividade geral superior ao teste sorológico ML-*flow* e à baciloscopia; (2) vigilância e rigor no cumprimento da Portaria nº 3.125, de 7 de outubro de 2010, que dispõe sobre a aplicação da vacina BCG-intradérmica nos contatos intradomiciliares sem presença de sinais e sintomas de hanseníase no momento da avaliação, independentemente de serem contatos de casos PB ou MB e ampliação da cobertura vacinal de BCG aos contatos endêmicos sem cicatriz, o que denota falta de proteção entre contatos diretos de doentes e demais moradores da região; (3) elaboração de protocolos de diagnóstico e classificação dos indivíduos das áreas endêmicas do município com *status* subclínico e portadores assintomáticos, baseados nos resultados de sorologia e de PCR, tal como já é feito na rede pública de saúde em Mossoró/RN, com o emprego de teste rápido molecular para diagnóstico de tuberculose; (4) implementação de programa de monitoramento destes indivíduos de risco, com envolvimento massivo dos ACSs, fechando o cerco à doença, através de visitas domiciliares e atividades educativas.

## REFERÊNCIAS

- ABDALLA, L.F.; SANTOS, J.H.A.; COLLADO, C.S.C. et al. *Mycobacterium leprae* in the periodontium, saliva and skin smears of leprosy patients. **Revista Odonto Ciência** 25(2): 148-153, 2010.
- ADRIATY, D. et al. TTC Repeats Variation of *Mycobacterium leprae* Isolates for Analysis of Leprosy Transmission in Leprosy Endemic Area in East Java, Indonesia. **Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease**, Vol. 1. No. 1 January–April 2010.
- ALENCAR, C. H. et al. Clusters of leprosy transmission and of late diagnosis in a highly endemic area in Brazil: focus on different spatial analysis approaches. **Tropical Medicine; International Health**, v. 17, n. 4, p. 518-525, 2012.
- AL-TUBAIKH, Jarrah Ali. Infectious Diseases and Tropical Medicine. In: **Internal Medicine**. Springer International Publishing, 2017. p. 441-493.
- AMORIM, Francianne M. et al. Identifying Leprosy and Those at Risk of Developing Leprosy by Detection of Antibodies against LID-1 and LID-NDO. **PLoS - Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 9, 2016.
- ARAUJO, Sergio et al. Molecular Evidence for the Aerial Route of Infection of *Mycobacterium leprae* and the Role of Asymptomatic Carriers in the Persistence of Leprosy. **Clinical Infectious Diseases**, p. ciw570, 2016.
- ARAÚJO, Sérgio Ricardo Fernandes et al. Examining ERBB2 as a candidate gene for susceptibility to leprosy (Hansen's disease) in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 2, p. 182-188, 2014.
- BAHMANYAR, Edith Roset et al. Leprosy Diagnostic Test Development As a Prerequisite Towards Elimination: Requirements from the User's Perspective. **PLoS - Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 2, 2016.
- BARRETO, Josafá Gonçalves et al. Spatial epidemiology and serologic cohorts increase the early detection of leprosy. **BMC infectious diseases**, v. 15, n. 1, p. 1, 2015.
- BOKHARY, Mahmoud; PHUNG, Thuy L. Molecular Pathogenesis of Leprosy. **Current Tropical Medicine Reports**, p. 1-4, 2016.
- Brasil. Lei Federal nº 9.010 de 29 de março de 1995. Dispõe sobre a terminologia oficial relativa à hanseníase e dá outras providências. Brasília. (DF); 1995.
- \_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Departamento de Atenção Básica, Secretaria de Políticas de Saúde, Ministério da Saúde. **Hanseníase: atividades de controle e manual de procedimentos**. Brasília: Ministério da Saúde; 2004.
- \_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Estratégias do Ministério da Saúde: Doenças negligenciadas**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília/DF, p. 200-2, 2010.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Plano Integrado de Ações Estratégicas de Eliminação da Hanseníase, Filariose, Esquistossomose e Oncocercose como Problema de Saúde Pública, Tracoma Como Causa de Cegueira e Controle das Geohelmintíase**. Brasília-DF. 2012.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação Geral de Planejamento e Orçamento. **Agenda Estratégica 2011-2015**. 1ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico. **Situação epidemiológica da hanseníase no Brasil – análise de indicadores selecionados na última década e desafios para eliminação**. Ministério da Saúde, v.44, nº 11. – Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Hanseníase no Brasil: Dados e Indicadores Selecionados**. 1ª Ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de procedimentos técnicos: baciloscopia em hanseníase**, 2010. Acesso em: 03 de outubro de 2014.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. SINAN (Sistema de Informações de Agravos Notificáveis). Disponível em: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/tabnet?sinannet/hansenise/bases/Hansbrnet.def> Acesso em: 11 de janeiro de 2017.

\_\_\_\_\_. MINISTÉRIO DO PLANEJAMENTO, ORÇAMENTO E GESTÃO. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, IBGE. Disponível em: 04 de dezembro de 2016<<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>.

BRATSCHI, Martin W. et al. Current knowledge on *Mycobacterium leprae* transmission: A systematic literature review. **Leprosy Review**, v. 86, n. 2, p. 142-55, 2015.

BRITO, Karen Krystine Gonçalves et al. Epidemiological and temporal analysis of leprosy in a Brazilian endemic state. **International Archives of Medicine**, v. 9, n. 1, 2016.

CALEFFI, K.R.; HIRATA, K.R.; R.D.C.; HIRATA, M.H.; CALEFFI, V.L.D.; CARDOSO, R.F. Use of the polymerase chain reaction to detect *Mycobacterium leprae* in urine. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Volume 45(2) 153-157, 2012.

CAMPOS, A. G.; LIPORACI, T. P. C.; TERRA, S. A. Identificação de ácaros da poeira domiciliar de Ituverava/SP. **Nucleus**, v. 7, n. 1, 2010.

CARDONA-CASTRO, Nora et al. Human genetic ancestral composition correlates with the origin of *Mycobacterium leprae* strains in a leprosy endemic population. **PLoS - Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 9, 2015.

CHAN, Michelle Mei Fung; SMOLLER, Bruce R. Overview of the Histopathology and Other Laboratory Investigations in Leprosy. **Current Tropical Medicine Reports**, p. 1-7, 2016.

COLE S. T., et al. **Massive gene decay in the leprosy bacillus**. *Nature*, Paris-França, v. 1007, n. 409, p. 11, fevereiro, 2001.

DA SILVA NEUMANN, Arthur et al. Experimental Infection of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Triatominae) with *Mycobacterium leprae* Indicates Potential for Leprosy Transmission. **PloS – Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 5, 2016.

DARA, SunilAnand; GADDE, RajanBabu. Epidemiology, Prognosis, and Prevention of Leprosy Worldwide. **Current Tropical Medicine Reports**, p. 1-5, 2016.

DAVIS, Grace L. et al. Molecular assays for determining *Mycobacterium leprae* viability in tissues of experimentally infected mice. **PLoS - Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 8, p. e2404, 2013.

DIAS, Julliany Lopes et al. Características determinantes entre portadores de hanseníase em uma área hiperendêmica. **Revista de Atenção à Saúde (antiga Rev. Bras. Ciên. Saúde)**, v. 11, n. 38, p. 32-37, 2014.

DIAS, M. C. F. S. et al.. The use of Geographical Information System (GIS) to improve active leprosy case finding campaigns in the Municipality of Mossoró, Rio Grande do Norte State, Brazil. **Leprosy Review**, v. 78, p. 261-269, 2007.

DIAS, M. C. F. S.; NOBRE, M. L. Distribuição espacial da hanseníase no município de Mossoró/RN, utilizando o Sistema de Informação Geográfica – SIG. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.80, p.289-294, 2005.

DOBARIYA, Trushali et al. A Study of Histopathological Spectrum of Leprosy. **International Journal of Scientific Research**, v. 5, n. 11, 2017.

DONAGH, A. M.; SEXTRO, R. G.; BYRNE, M. A. Mass transport of deposited particles by surface-to-surface contact. **Journal of Hazardous Materials**. V. 227-228, 2012.

DOSHI, Darshit et al. Sociocultural Factors Affecting Diagnosis of Leprosy: A Cross-Sectional Study. **International Journal of Scientific Research**, v. 5, n. 6, 2016.

DUARTE-CUNHA, Mônica; DA CUNHA, Geraldo Marcelo; SOUZA-SANTOS, Reinaldo. Geographical heterogeneity in the analysis of factors associated with leprosy in an endemic area of Brazil: are we eliminating the disease?. **BMC infectious diseases**, v. 15, n. 1, p. 1, 2015.

DÜPPRE, Nádia C. et al. 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, 2012.

DUTHIE, Malcolm S. et al. Comparative evaluation of antibody detection tests to facilitate the diagnosis of multibacillary leprosy. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 100, n. 7, p. 3267-3275, 2016.

\_\_\_\_\_. Rapid quantitative serological test for detection of infection with mycobacterium leprae, the causative agent of leprosy. **Journal of clinical microbiology**, v. 52, n. 2, p. 613-619, 2014.

EICHELMANN, K. et al. Leprosy. An update: definition, pathogenesis, classification, diagnosis, and treatment. **Actas Dermo-Sifiligráficas (English Edition)**, v. 104, n. 7, p. 554-563, 2013.

FABRI, Angélica da Conceição Oliveira Coelho et al. Integrative literature review of the reported uses of serological tests in leprosy management. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, V. 49, N. 2, Abril, 2016.

\_\_\_\_\_. Antigen-specific assessment of the immunological status of various groups in a leprosy endemic region. **BMC infectious diseases**, v. 15, n. 1, p. 1, 2015.

FARIA, Lina; SANTOS, Luiz Antonio de Castro. Hanseniasis and its history in Brazil: the history of a “national scourge”. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 22, n. 4, p. 1491-1495, 2015.

FISCHER, E.A.J et al. The Long Term Effect of Current and New Interventions on the New Case Detection of Leprosy: A Modeling Study. **PLoS - Neglected Tropical Diseases**, V. 5, N. 9, 2011.

FLACH, Diana Mary Araújo de Melo et al. Analysis of the historical series from 2001 to 2009 of the leprosy cases in people under 15 years-old, in Rio de Janeiro state, Brazil. **Hansenologia internationalis (Online)**, Bauru, V. 35, N. 1, 2010.

FREITAS, Aline Araújo et al. Application of Mycobacterium Leprae-specific cellular and serological tests for the differential diagnosis of leprosy from confounding dermatoses. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 86, n. 2, p. 163-168, 2016.

FREITAS, Lucia RS; DUARTE, Elisabeth C.; GARCIA, Leila P. Trends of main indicators of leprosy in Brazilian municipalities with high risk of leprosy transmission, 2001–2012. **BMC Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, p. 472, 2016.

GARG, G.; GOGIA, A.; KAKAR, A. Leprosy: A Great Mimicking Disease. **Indian Journal of Leprosy**. V. 88, p. 123-127, 2016.

GOULART, Isabela Maria Bernardes et al. Asymptomatic leprosy infection among blood donors may predict disease development and suggests a potential mode of transmission. **Journal of clinical microbiology**, v. 53, n. 10, p. 3345-3348, 2015.

GUPTA, Latika et al. Leprosy in the rheumatology clinic: an update on this great mimic. **International Journal of Rheumatic Diseases**, v. 19, n. 10, p. 941-945, 2016.

GUTHI, Visweswara Rao; AREPALLI, Sreedevi; GANAPA, Praveena. Study of socio demographic factors among persons affected by leprosy in Kurnool division of Kurnool district, Andhra Pradesh, India. **International Journal of Community Medicine and Public Health**, v. 3, n. 12, p. 3548-3555, 2016.

HAN XY, SIZER KC, VELARDEFÉLIX JS, FRIASCASTRO LO, VARGASOCAMPO F. The leprosy agents *Mycobacterium lepromatosis* and *Mycobacterium leprae* in Mexico. **International Journal of Dermatology**. V. 51, Agosto, 2012.

HAN, X. Y.; SILVA, F. J. On the age of leprosy. **Plos - Neglected Tropical Diseases**, V. 53 N. 10, fev/2014.

HOUSMAN, Genevieve et al. Validation of qPCR Methods for the Detection of *Mycobacterium* in New World Animal Reservoirs. **PLoS - Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 11, 2015.

JAGIELSKI, Tomasz et al. Methodological and Clinical Aspects of the Molecular Epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* and Other *Mycobacteria*. **Clinical microbiology reviews**, v. 29, n. 2, p. 239-290, 2016.

KERR, Ligia Regina Franco Sansigolo. et al. Série histórica da AIDS no Estado do Ceará, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, vol.20 no.4 Rio de Janeiro Apr. 2015

KETTLESON et al. *Stenotrophomonas*, *Mycobacterium*, and *Streptomyces* in home dust and air: associations with moldiness and other home/family characteristics. **Indoor air**, v. 23, n. 5, p. 387-396, 2013.

KHATIB, Yasmeen; KHAIRE, Surekha. Clinicohistopathological Correlation of Leprosy in A Peripheral Hospital of Mumbai. **Global Journal For Research Analysis**, v. 5, n. 11, 2017.

KOSGEI, Benson Kiprono; YUN-PENG, Luo. Progress in research on immunological mechanism of leprosy. **Asian Journal of Medical Sciences**, v. 7, n. 1, p. 1-5, 2015.

LASTÓRIA, Joel Carlos; ABREU, Marilda Aparecida Milanez Morgado de. Leprosy: review of the epidemiological, clinical, and etiopathogenic aspects-Part 1. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 89, n. 2, p. 205-218, 2014a.

LASTÓRIA, Joel Carlos; ABREU, Marilda Aparecida Milanez Morgado de. Leprosy: a review of laboratory and therapeutic aspects-Part 2. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 89, n. 3, p. 389-401, 2014b.

LAVANIA, Mallika et al. Genotyping of *Mycobacterium leprae* strains from a region of high endemic leprosy prevalence in India. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 36, p. 256-261, 2015.

LAYTON, D. W.; BEAMER, P. I. Migration of Contaminated Soil and Airborne Particulates to Indoor Dust. **Environmental Science & Technology**. V.43, 2009.

LIMA, Luana Nepomuceno Gondim Costa et al. Presença de *Mycobacterium leprae* em escarro de paciente sintomático respiratório com hanseníase multibacilar. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 7, n. 2, p. 75-78, 2016.

LIMA, Luana Nepomuceno Gondim Costa et al. Widespread nasal carriage of *Mycobacterium leprae* among a healthy population in a hyperendemic region of northeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 7, p. 898-905, 2015.



MALTEMPE, F. G. et al. Critical analysis: use of polymerase chain reaction to diagnose leprosy. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 1, p. 163-169, 2016.

MARTINEZ, A.N.; LAHIRI, R.; PITTMAN, T.L.; SCOLLARD, D.; TRUMAN, R.; MORAES, M.O.; WILLIAMS, D.L. Molecular detection of Mycobacterium leprae Viability by use of Real-Time PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, 47, 7, 2124-2130, julho. 2009.

MARTINEZ, A.N.; RIBEIRO-ALVES, M.; SARNO, E.N.; MORAES, M.O. Evaluation of qPCR-Based Assays for Leprosy Diagnosis Directly in Clinical Specimens. **PLoS Negl Trop Dis**, 5,10, 1354. 2011.

MARTINEZ, Alejandra Nóbrega et al. PCR-Based Techniques for Leprosy Diagnosis: From the Laboratory to the Clinic. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 4, p. e2655, 2014.

MARTINEZ, T. S. et al. 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**, v. 17, n. 11, p. 1653-1658, 2011.

MARTINEZ, T.S.; NAHAS, A.A.; FIGUEIRA, M.M.N.R.; COSTA, A.V.; GONÇALVES, M.A.; GOULART, L.R.; GOULART, I.M.B. Oral Lesion in Leprosy: Borderline Tuberculoid Diagnosis Based on Detection of Mycobacterium leprae DNA by qPCR. **Acta DermatoVenereologica**. V. 91, N. 6, 2011.

MARTINS, A. C.C. ET AL. Estudo da mucosa nasal de contatos de hanseníase, com positividade para o antígeno glicolípido fenólico 1. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 76, n5, São Paulo, 2010.

MARTINS, Ronald Jefferson et al. Sociodemographic and epidemiological profile of leprosy patients in an endemic region in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, n. 6, p. 777-780, 2016.

MAZINI, PriscilaSaamara et al. Gene Association with Leprosy: A Review of Published Data. **Frontiers in immunology**, v. 6, 2015.

MEDRONHO, R.A.; BLOCH, K.V.; LUIZ, R.R.; WERNECK, G. L. **Epidemiologia**. 2 ed. São Paulo: Atheneu.2008. 790p.

MENDONCA, Vanessa Amaral et al . Imunologia da hanseníase. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro , v. 83, n. 4, p. 343-350, Aug. 2008.

MIRANZI SSC, PEREIRA LHM, NUNES AA. Perfil epidemiológico de hanseníase em um município brasileiro, no período de 2000 a 2006. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.43, n.1, p.62-67 2010.

MOHANTY, P. S. et al. Viability of Mycobacterium leprae in the environment and its role in leprosy dissemination. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**. V. 82, p.23-7.2016.

MORANO, S et al . Lepra en Santa Fe: Características clínico-epidemiológicas. **Revista Argentina de Dermatología.**, Ciudad Autónoma de Buenos Aires , v. 97, n. 4, p. 19-29, dic. 2016.

MOSSORÓ. Gerência Municipal de Saúde. Boletim epidemiológico de hanseníase, 2011.

Disponível em:

<[http://www.prefeiturademossoro.com.br/vigilanciaasaude/epidemiologica/boletim\\_epidemiologico\\_de\\_hanseniaze.pdf](http://www.prefeiturademossoro.com.br/vigilanciaasaude/epidemiologica/boletim_epidemiologico_de_hanseniaze.pdf)> Acessado em 30 de maio de 2015.

MOURA, M. L.N. et al. Active surveillance of Hansen's Disease (leprosy): importance for case finding among extra-domiciliary contacts. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 3, p. e2093, 2013.

NEIVA, Ricardo Jardim. Perspectivas históricas do diagnóstico e tratamento da hanseníase. **Saúde & Transformação Social.** v. 7, n. 1, p. 088-097, 2016.

NICCHIO, Mariana VC et al. Spatial and temporal epidemiology of *Mycobacterium leprae* infection among leprosy patients and household contacts of an endemic region in Southeast Brazil. **Acta Tropica**, v. 163, p. 38-45, 2016.

NOBRE ML, Dupnik KM, Nobre PJ, Freitas De Souza MC, Duppre NC, Sarno EN, et al. Human migration, railways and the geographic distribution of leprosy in Rio Grande do Norte State—Brazil. **Leprosy Review**, v. 86, n. 4, p. 335–44. Dezembro/2015 .

NORIEGA, Leandro Fonseca et al. Leprosy: ancient disease remains a public health problem nowadays. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 91, n. 4, p. 547-548, 2016.

OLIVEIRA, Marcela Bahia Barretto de; DINIZ, Lucia Martins. Leprosy among children under 15 years of age: literature review. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 91, n. 2, p. 196-203, 2016.

OLIVEIRA, Marlice Fernandes de et al. Estudo epidemiológico da hanseníase em Patrocínio/MG, no período 2001 a 2014. **Hansenologia internationalis**, p. 24-35, 2015.

PENNA, Maria Lucia F. et al. Anti-PGL-1 Positivity as a Risk Marker for the Development of Leprosy among Contacts of Leprosy Cases: Systematic Review and Meta-analysis. **PLoS - Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 5, p. e0004703, 2016.

PENNA, Maria Lucia Fernandes; DE OLIVEIRA, MLVDR; PENNA, Gerson Oliveira. The epidemiological behaviour of leprosy in Brazil. **Leprosy review**, v. 80, n. 3, p. 332, 2009.

PFYFFER, Gaby E. *Mycobacterium*: general characteristics, laboratory detection, and staining procedures. In: **Manual of Clinical Microbiology, Eleventh Edition**. American Society of Microbiology, . p. 536-569.2015.

PINHO, J. D. et al. 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**, v. 14, n. 4, p. 14479-14487, 2015.

PREMALATHA, P. et al. Utility of Bacillary Index in Slit Skin Smears in Correlation with Clinical and Histopathological Alterations in Hansen's Disease: An Attempt to Revive a Simple Useful Procedure. **Annals of Medical and Health Sciences Research**, v. 6, n. 3, p. 181-184, 2016.

QIAN, J.; PECCIA, J.; FERRO, A. R.. Walking-induced particle resuspension in indoor environments. *Atmospheric Environment*. V. 89, p 464-481, 2014.

QUEIRÓS, Maria Iranilda et al. Clinical and epidemiological profile of leprosy patients attended at Ceará, 2007-2011. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 91, n. 3, p. 311-317, 2016.

QUEIROZ XAVIER, Bárbara Letícia et al. Features of Clinical and Epidemiological Reactions of Leprosy Cases in a City of the High Backlands of Paraíba. **International Archives of Medicine**, v. 9, n. 1, 2016.

QUEIROZ, J. W. et al. Geographic Information Systems and Applied Spatial Statistics Are Efficient Tools to Study Hansen's Disease (Leprosy) and to Determine Areas of Greater Risk of Disease. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.**, 82(2), pp. 306–314, 2010.

REIS, E.M. et al. *Mycobacterium leprae* DNA in peripheral blood may indicate a bacillimigration route and high risk for leprosy onset. **Clinical Microbiology and Infection**, Volume 20 Number 5, May 2014.

RIVITTI, Evandro A. **Manual de dermatologia clínica de Sampaio e Rivitti**. Artes Médicas Editora, 2014.

RIVOIRE, Becky L. et al. The Challenge of Producing Skin Test Antigens with Minimal Resources Suitable for Human Application against a Neglected Tropical Disease; Leprosy. **PLOS Negl Trop Dis**, v. 8, n. 5, p. e2791, 2014.

ROMERO-MONTOYA, M, BELTRAM-ALZATE, J.C., CARDONA-CASTRO, N. Evaluation and Monitoring of *Mycobacterium leprae* Transmission in Household Contacts of Patients with Hansen's Disease in Colombia. **PLoS - Neglected Tropical Diseases** V1, 2017.

ROSA, F. B. et al. Detection of *Mycobacterium leprae* in saliva and the evaluation of oral sensitivity in patients with leprosy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 5, p. 572-577, 2013.

ROUQUARIOL, MZ et al. Risk factors of stillbirths in Fortaleza-Brazil: a case-control study. **Journal of Pediatrics**. V.72, N.6, p. 374-378, 1996.

SALGADO, C. G.; BARRETO, J. G. Leprosy transmission: still a challenge. **Acta dermatovenereologica**, v. 92, n. 3, p. 335-335, 2012.

SANTOS, Selton Diniz et al. Leprosy in children and adolescents under 15 years old in an urban centre in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, n. AHEAD, p. 0-0, 2016.

SARKAR, Rashmi; PRADHAN, Swetalina. Leprosy and women. **International Journal of Women's Dermatology**, 2016.

SAUNDERS, N.A Real-time PCR In: **Methods in Molecular Biology**. V. 266: p. 191-211, 2004.

SAXENA, Anil Kumar; AZAD, ChandraSourabh. **Neglected Tropical Bacterial Diseases**. India: Springer Berlin Heidelberg, 2016.

SCOLLARD, David M. Infection with Mycobacterium lepromatosis. 2016.

SHETH, R. et al. A study of etiological factors, management, and complications of atrophic rhinitis. **International Journal of Medical Science and Public Health**, 2016.

SILVESTRE, MPSA; LIMA, LNGC. Hanseníase: considerações sobre o desenvolvimento e contribuição (institucional) de instrumento diagnóstico para vigilância epidemiológica. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeua , v. 7, n. esp, p. 93-98, dez. 2016.

SIMNER, Patricia J. et al. Mycobacterium: Laboratory Characteristics of Slowly Growing Mycobacteria. In: **Manual of Clinical Microbiology, Eleventh Edition**. American Society of Microbiology, p. 570-594, 2015.

SIMON, Marise et al. Clinical, immunological, and genetic aspects in leprosy. **Drug Development Research**, v. 72, n. 6, p. 509-527, 2011.

SINGH, A. Recent advances in diagnostic and treatment of infectious disease leprosy. **Journal of drug discovery and therapeutics**, v. 2, n. 21, 2014.

SINGH, P.; COLE, S. T. Mycobacterium leprae: genes, pseudogenes and genetic diversity. **Future microbiology**, v. 6, n. 1, p. 57-71, 2011.

SIWAKOTI, Shraddha et al. Evaluation of Polymerase Chain Reaction (PCR) with Slit Skin Smear Examination (SSS) to Confirm Clinical Diagnosis of Leprosy in Eastern Nepal. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 12, p. e0005220, 2016.

SMITH, W. C.; AERTS, Ann. Role of contact tracing and prevention strategies in the interruption of leprosy transmission. **Leprosy Review**, v. 85, n. 1, p. 2-17, 2014.

SOLÉ, Dirceu et al. Asthma in children and adolescents in Brazil: contribution of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). **Revista Paulista de Pediatria**, v. 32, n. 1, p. 114-125, 2014.

SOUZA, M. M. Tools in diagnosis of leprosy: the conventional and innovations. **Grupo Editorial Moreira Junior**, v.13, p. 16-22, 2013.

STEFANI MM, et al. Comparison of two rapid tests for anti-phenolic glycolipid-I serology in Brazil and Nepal. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, V.107, p.124–131, 2012.

TALHARI, Carolina; TALHARI, Sinésio; PENNA, Gerson Oliveira. Clinical aspects of leprosy. **Clinics in Dermatology**, v. 33, n. 1, p. 26-37, 2015.

TALHARI, Sinésio et al . Hansen's disease: a vanishing disease? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 107, supl. 1, p. 13-16, Dec. 2012.

TRUMAN, R.; FINE, P. E. M. Environmental' sources of *Mycobacterium leprae*: Issues and evidence. **Leprosy Review**, p. 89–95, 2010.

TURANKAR, R. P. et al. Dynamics of *Mycobacterium leprae* transmission in environmental context: deciphering the role of environment as a potential reservoir. **Infection, Genetics and Evolution.**, p. 121-6, 2012.

TURANKAR, R. P. et al. Presence of viable *Mycobacterium leprae* in environmental specimens around houses of leprosy patients. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 34, n. 3, p. 315, 2016.

TURANKAR, Ravindra P. et al. Comparative evaluation of PCR amplification of RLEP, 16S rRNA, rpoT and Sod A gene targets for detection of *M. leprae* DNA from clinical and environmental samples. **International Journal of Mycobacteriology**, v. 4, n. 1, p. 54-59, 2015.

VAN HOANG, Minh; VAN BUI, Duc; PHUNG, Thuy Linh. Clinical Characteristics and Treatment of Leprosy. **Current Tropical Medicine Reports**, v. 3, n. 4, p. 138-143, 2016.

VAN HOOIJ, Anouk et al. Quantitative lateral flow strip assays as User-Friendly Tools To Detect Biomarker Profiles For Leprosy. **ScientificReports**, v. 6, 2016.

WAHYUNI, R. et al. *Mycobacterium leprae* in Daily Water Resources of Inhabitants Who Live in Leprosy Endemic Area of East Java. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**, v. 1, n. 2, p. 65-68., agosto 2010.

WEN, Yan et al. Evaluation of Novel Tools to Facilitate the Detection and Characterization of Leprosy Patients in China. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.

WHEAST, W.H et al. Long-term survival and virulence of *Mycobacterium leprae* in amoebal cysts. **Plosneglected tropical diseases** v. 8, issue 12 2014.

WHITE, Cassandra; FRANCO-PAREDES, Carlos. Leprosy in the 21st century. **Clinical microbiology reviews**, v. 28, n. 1, p. 80-94, 2015.

**Wkly Epidemiol Rec.** No. 35, 91, 405–420. 2016. Disponível em <<http://www.who.int/wer>> Acesso em: 4 dez 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Enhanced Global Strategy for Further Reducing the Disease Burden due to Leprosy (Plan Period: 2011-2015). New Delhi 110 002, India, 2010.  
WORLD HEALTH ORGANIZATION. Relevé épidémiologique hebdomadaire.

YAP, Felix Boon-Bin; KIUNG, Sze Ting. Knowledge and confidence in the diagnosis and management of leprosy among Family Medicine Specialists in Malaysia. **Journal of Dermatology; Dermatologic Surgery**, 2015

## APÊNDICE A

**Comprovante de aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética****DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** QUANTIFICAÇÃO POR PCR EM TEMPO REAL DE *Mycobacterium leprae* NO AMBIENTE DOMICILIAR E EM CONTACTANTES DE ÁREA ENDÊMICA DE HANSENIASE

**Pesquisador Responsável:** Michelline do Vale Maciel

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 47180115.1.0000.5294

**Submetido em:** 23/09/2015


**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO - UFERSA

**Situação da Versão do Projeto:** Aprovado

**Localização atual da Versão do Projeto:** Pesquisador Responsável

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio



Comprovante de Recepção:  PB\_COMPROVANTE\_RECEPCAO\_5503

## APÊNDICE B

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Este é um convite para você participar da pesquisa **QUANTIFICAÇÃO POR PCR EM TEMPO REAL DE *Mycobacterium leprae* NO AMBIENTE DOMICILIAR E EM CONTACTANTES DE ÁREA ENDÊMICA DE HANSENÍASE**, que é coordenada pela Prof.<sup>a</sup> Dra. Michelline do Vale Maciel e que segue as recomendações da resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares.

Sua participação é voluntária, o que significa que você poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento ou recusar-se a participar da pesquisa, sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade.

**JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS DA PESQUISA.** Essa pesquisa se justifica pela importância da hanseníase em Mossoró. A hanseníase é uma doença transmissível de pessoa a pessoa, e é muito comum no seu bairro. Esta infecção demora alguns anos para apresentar os sintomas e afeta nervos e pele, formando manchas “dormentes”. Quanto mais demormos a fazer o diagnóstico da doença e iniciarmos o tratamento, maiores serão as sequelas nos nervos e mais pessoas serão infectadas com a bactéria causadora da infecção. Um dos motivos de o diagnóstico não ser precoce é que os exames de que dispomos hoje só conseguem detectar a doença quando já existe uma grande carga da bactéria no organismo. Por isso, nesta pesquisa, estamos avaliando métodos que consigam detectar a doença no estágio inicial e investigando o ambiente domiciliar como reservatório da bactéria. A hanseníase, que antigamente era chamada de lepra, tem cura e o tratamento é fornecido inteiramente pelo SUS. Mas, infelizmente não existe uma vacina específica para doença e a melhor forma de evitar que outras pessoas se contaminem é conseguir diagnosticar os portadores da bactéria que ainda não apresentam sintomas, mas que tem enorme risco de desenvolver a doença nos próximos anos. Para isso, esta equipe está propondo a você participar de uma pesquisa onde deverão ser realizados todos os exames de rotina para o diagnóstico da hanseníase e que já são disponíveis no SUS, como por exemplo, o exame clínico dermatoneurológico e baciloscopia de raspado dérmico. Será avaliado também o *swab* nasal, exame na saliva e exame *ML-flow*®, como métodos de diagnóstico da doença. Espera-se que, com este estudo, seja possível detectar em que estágio de desenvolvimento se encontra a doença no paciente, bem como definir os possíveis portadores sadios e aqueles que já estejam infectados com a bactéria entre os comunicantes e vizinhos, para que possam ser acompanhados com regularidade pela equipe da UBS Sinharinha Borges, a fim de prevenir o aparecimento da doença nestes indivíduos. Além disso, esclarecer o papel do microambiente domiciliar no processo de transmissão da hanseníase.

**PROCEDIMENTO.** Caso decida aceitar o convite, você será submetido (a) ao (s) seguinte(s) procedimento(s): (1) assinar esse termo de consentimento autorizando a sua participação, (2) submeter-se ao exame clínico dermatoneurológico pela médica pesquisadora, Dra. Ismênia Glaucete de O. B. da Silveira, (3) realizar os exames de baciloscopia, de raspado dérmico, *swab* nasal, coleta de saliva e *ML-flow*®, e (4) submeter-se a aplicação de um questionário com o pesquisador.

**POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS ENVOLVIDOS COM SUA PARTICIPAÇÃO.** (1) O exame clínico dermatoneurológico não causa nenhum desconforto e não apresenta riscos. (2) Para fazer o *swab* da cavidade nasal, será utilizado escovinha própria e descartável que será passada nas suas narinas. A médica pesquisadora estará usando luvas descartáveis para evitar infecção. Este método não causa nenhuma dor. (3) Quanto à baciloscopia de raspado dérmico, esta será realizada no Laboratório Regional, pelo técnico especializado nesta coleta e seguindo os padrões do Ministério da Saúde. Trata-se de um exame padronizado que oferece pequeno desconforto na coleta e baixo risco de infecção. (4) A coleta de saliva em tubo coletor poderá causar constrangimento, que será resolvido com isolamento do indivíduo em sala da UBS Sinharinha Borges, durante os cinco minutos de coleta. (5) A coleta de poeira domiciliar por aspirador de pó não oferece nenhum risco ou desconforto, além do barulho do aparelho funcionando por cinco minutos, e será realizada pelo pesquisador. Para minimizar um possível constrangimento relacionado à aplicação do questionário, garantimos a privacidade no momento da aplicação do questionário e o sigilo da identidade pessoal e informações obtidas.

**BENEFÍCIOS.** Você terá os seguintes benefícios ao participar da pesquisa: (1) proporcionar o conhecimento científico para a melhoria do diagnóstico dessa doença, (2) se você estiver com infecção subclínica, terá o diagnóstico da doença acelerado.



**ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA.** Se você aceitar o convite, será acompanhado pela Dra. Ismênia Glauce de Oliveira Barreto da Silveira, pós-graduada em dermatologia, que estará presente na primeira consulta e em seus retornos ao ambulatório da UBS Sinharinha Borges. Ela também estará disponível para contato por telefone se você tiver dúvidas em qualquer momento.

**ESCLARECIMENTOS.** Reforçamos que você tem todo direito de pedir esclarecimentos a respeito da finalidade da pesquisa, de saber o destino do material coletado e resultados dos exames realizados e, se concordar em participar da pesquisa, poderá desistir a qualquer momento, sem que isso lhe traga nenhum tipo de prejuízo. Se você tiver algum gasto que seja devido à sua participação na pesquisa, você será ressarcido. Se você sofrer algum dano, que seja comprovadamente decorrente desta pesquisa, você terá direito a indenização. Você ficará com uma via deste Termo, que deverá ser rubricada e assinada em cada página e toda a dúvida que você tiver a respeito desta pesquisa, poderá perguntar diretamente para Dra. Ismênia Glauce de O. B. da Silveira, no endereço Rua Riachuelo, S/N, Barrocas-Mossoró/RN, telefone: 3315-4881, ou então à Prof.<sup>a</sup> Dra. Michelline do Vale Maciel, no endereço Av. Presidente Dutra, 701- Bairro Alto de São Manoel- Mossoró- RN – Brasil CEP: 59.628-000 ou pelo telefone: (84) 3312-0143. Dúvidas a respeito da ética dessa pesquisa poderão ser questionadas ao Comitê de Ética em Pesquisa da UERN no endereço: Rua Miguel Antônio da Silva Neto, S/N, Aeroporto, 3º Pavimento da Faculdade de Ciências da Saúde. Mossoró/RN CEP: 59607-360 ou pelo telefone: (84) 3318-2596.

**GARANTIA DE SIGILO.** Garantimos que os dados obtidos a partir de sua participação na pesquisa não serão utilizados para outros fins além dos previstos neste termo. Todas as informações obtidas serão sigilosas e seu nome não será identificado em nenhuma fase/etapa desta pesquisa. Os dados serão guardados em local seguro e a divulgação dos resultados será feita de forma a não identificar os voluntários.

#### **Consentimento Livre e Esclarecido**

Estou de acordo com a participação no estudo descrito acima. Fui devidamente esclarecido (a) quanto aos objetivos da pesquisa, ao(s) procedimento(s) ao(s) qual (is) serei submetido e dos possíveis riscos que possam advir de minha participação. Foram-me garantidos esclarecimentos que eu venha a solicitar durante o curso da pesquisa e o direito de desistir da participação em qualquer momento, sem que minha desistência implique em qualquer prejuízo a minha pessoa ou de minha família. (Caso minha participação na pesquisa implique em algum gasto, serei ressarcido e caso sofra algum dano, serei indenizado). Autorizo assim a publicação dos dados desta pesquisa sendo-me garantido o meu anonimato e o sigilo dos dados referentes à minha identificação.

---

Participante da pesquisa

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Michelline do Vale Maciel<sup>1</sup>  
Pesquisadora responsável

<sup>1</sup>Endereço profissional do (a) pesquisador (a) responsável: Av. Presidente Dutra, 701- Bairro Alto de São Manoel- Mossoró- RN – Brasil CEP: 59.628-000. Fone: (84) 3312-0143. E-mail: michellinevet@gmail.com

<sup>2</sup>Endereço do Comitê de Ética em Pesquisa: Rua Miguel Antônio da Silva Neto, S/N, Aeroporto, 3º Pavimento da Faculdade de Ciências da Saúde. Mossoró/RN CEP: 59607-360. Fone: (84) 3318-2596. E-mail: cep@uern.br

## APÊNDICE C

### ROTEIRO DE ENTREVISTA

Data da entrevista: ____/____/____	Número: _____
Código de identificação: _____	
Endereço para contato: _____	
Ponto de referência: _____ ACS: _____	
Fone: _____ E-mail: _____	
Grau de parentesco: _____	
IDENTIFICAÇÃO	
1. Sexo:	(1) Masculino (2) Feminino
2. Data de nascimento:	____/____/____ Idade: _____
3. Raça:	(1) Branca (2) Negra (3) Parda (4) Amarela (5) Indígena
4. Ocupação:	_____
5. Alguém na família recebe benefício governamental tipo “bolsa”?	(1) Sim (2) Não
6. Qual a renda familiar total da família?	(1) até 01 salário mínimo (2) 1-3 Salários mínimos (3) 3-5 salários mínimos (4) > 5 salários mínimos
7. Escolaridade:	(1) Sem escolaridade (2) Ensino Fundamental (2.1) incompleto (2.2) completo (3) Ensino Médio (3.1) incompleto (3.2) completo (4) Ensino Superior
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E EPIDEMIOLOGICAS GERAIS	
8. Nos últimos 10 anos já morou em outro endereço que não o atual?	(1) Sim (2) Não (3) Não se aplica (4) Não sabe
9. Há quanto tempo reside no atual endereço?	_____ anos e _____ meses
10. O seu antigo endereço era em outra cidade?	(1) Sim (2) Não (3) Não se aplica (4) Não sabe
11. O seu antigo endereço era em outro bairro de Mossoró?	(1) Sim (2) Não (3) Não se aplica (4) Não sabe
12. Qual a situação do local onde você mora?	(1) Alugado (2) Casa própria (3) Abrigo (4) Sem teto (5) Cedida
13. Qual o tipo de abastecimento de água da sua residência?	(1) Rede (CAERN) (2) Poço (3) Poço e Rede
14. O esgoto da sua casa é do tipo:	(1) Fossa Séptica (2) Fossa rudimentar (3) Céu aberto (4) Rede pública (saneamento completo) (5) Saneamento incompleto
15. A casa do (a) senhor (a) tem quantos cômodos (considerar apenas quarto e sala):	(1) Não se aplica (2) Não sabe (3) _____
16. Quantas portas dão acesso ao meio externo?	(1) 1 porta (2) 2 portas (3) 3 portas
17. Quantas janelas dão acesso ao meio externo?	(1) nenhuma (2) 1 janela (3) 2 janelas (4) 3 janelas (4) 4 janelas
18. O Senhor (a) considera as paredes da sua casa úmidas?	(1) Sim (2) Não
19. O Senhor (a) considera a sua casa ser bem iluminada pelo sol?	(1) Sim (2) Não
20. Quantos metros quadrados tem sua casa?	_____ m2 ( _____ metros frente x _____ metros comprimento)
21. Quantas pessoas moram nesta casa?	(1)1 (2)2 (3)3 (4)4 (5)5 (6)6 a 10 (7) Mais de 10
22. Alguém na residência teve ou tem hanseníase?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar. <b>Se a resposta for NÃO, ir para a questão 26.</b>

23.	Quando foi diagnosticado (a)?	(1) Ano: ____/____/____ (2) Não se aplica (3) Não sabe
24.	Ele (a) fez o tratamento completo?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar
25.	Tomou medicamento por quantos meses?	(1) PQT/PB – 6 meses (2) PQT/MB – 12 meses (3) Não se aplica (4) Não sabe
26.	Nos últimos 10 anos conviveu com mais outra pessoa que tinha a doença?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar
27.	Quem foi?	(1) Filho (2) Esposo (3) Irmão (4) Avô (5) Tio (6) Pai (7) Mãe (8) Cunhado (9) Outros especificar: _____
28.	Sua casa já foi invadida por água de enchentes? Quantas vezes?	(1) Sim (2) Não _____ vezes
29.	O senhor (a) é quem faz a limpeza doméstica?	(1) Sim (2) Não (3) às vezes
30.	Quantas vezes a casa é varrida por semana?	(1) 1 vez (2) De 2 a 4 vezes (3) Mais de 4 vezes (4) todos os dias
31.	Como o senhor (a) costuma fazer a limpeza dos móveis?	(1) Com espanador (2) Com pano úmido (3) Com pano seco (4) Não costumo retirar o pó
32.	Como é o piso da sua casa?	(1) Cerâmica (2) Cimento (3) Não sabe informar
33.	O senhor (a) costuma passar o pano úmido no chão da casa ou lavá-la quantas vezes por semana?	(1) Não costumo (2) 1 vez por semana (3) De 2 a 4 vezes (4) Mais de 4 vezes (5) todos os dias
34.	O senhor come carne de peixes pescados na “bueira”?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar
35.	O senhor (a) já comeu carne de tatu? Quantas vezes?	(1) Sim (2) Não _____ vezes
36.	Faz quanto tempo que o senhor (a) vem comendo essa carne?	_____ Anos
37.	Alguma vez na vida você teve problemas com espirros ou coriza (corrimento nasal) quando não estava resfriado ou gripado?	(1) Sim (2) Não
38.	Nos últimos 12 meses, você teve algum problema com espirros, coriza (corrimento nasal) ou obstrução nasal quando não estava gripado ou resfriado?	(1) Sim (2) Não <b>Se a resposta foi não passe para a questão 42</b>
39.	Nos últimos 12 meses, esse problema nasal foi acompanhado de lacrimejamento ou coceira nos olhos?	(1) Sim (2) Não
40.	Em qual dos últimos 12 meses esse problema nasal ocorreu? (por favor, marque em qual ou quais meses isso ocorreu).	(1) janeiro (5) maio (9) setembro (2) fevereiro (6) junho (10) outubro (3) março (7) julho (11) novembro (4) abril (8) agosto (12) dezembro
41.	Nos últimos 12 meses, quantas vezes suas atividades diárias foram atrapalhadas por esse problema nasal?	(1) nada (2) um pouco (3) moderado (4) muito
42.	Alguma vez na vida você teve rinite?	(1) Sim (2) não
43.	O senhor (a) já teve amebíase/giardíase?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar
44.	Para o lazer aquático costuma frequentar:	(1) Piscina (2) Córrego (3) Rio (4) Lagoa (5) Represa local (6) Não se aplica
45.	O senhor (a) pratica pescaria nas bueiras do bairro?	(1) Sim (2) Não (3) Não se aplica
46.	O senhor (a) pratica pescaria no Rio Apodi-Mossoró?	(1) Sim (2) Não (3) Não se aplica
47.	Com que frequência visita seus vizinhos?	(1) Sempre (2) Às vezes (3) Raramente (4) Nunca
48.	O senhor (a) toma água e outras bebidas no mesmo copo que outras pessoas utilizaram?	(1) Sim (2) Não
49.	Qual a água que utiliza para beber:	(1) Torneira da cozinha (2) Poço (3) Água mineral (4) Não sabe
50.	O senhor costuma escovar os dentes com a escova de outra pessoa?	(1) Sim (2) Não
51.	O senhor costuma molhar o quintal?	(1) Sim (2) Não

52.	Pratica jardinagem/horticultura no quintal?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar
53.	Como o seu quintal é cercado?	(1) Madeira (2) Tijolos (3) Arame liso/farpado (4) Tela de arame (5) Cerca viva (6) Sem cercado (7) Não se aplica
54.	Quando chove o quintal fica alagado ou com poças d'água por mais de 01 dia?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar
55.	Anda descalço no quintal/casa?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar
56.	Algum lugar no quintal é acumulado lixo doméstico?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar
57.	Consome alguma fruta produzida no quintal?	(1) Sim (2) Não (3) Não se aplica
58.	Costuma lavar frutas e legumes antes de consumir?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar
59.	O senhor (a) tem alergia a poeira?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar
60.	O senhor (a) já fez teste alérgico?	(1) Sim (2) Não
61.	O senhor (a) apresenta obstrução nasal com frequência?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar
62.	O senhor (a) apresenta espirros com frequência?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar
63.	O senhor (a) apresenta coriza com frequência?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar
64.	O senhor (a) apresenta coceira no nariz com frequência?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar
65.	O senhor (a) apresenta coceira no ouvido com frequência?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar
66.	O senhor (a) apresenta coceira no olho com frequência?	(1) Sim (2) Não (3) Não sabe informar