



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
CURSO DE FARMÁCIA**

JULIANA ALVES GUIMARÃES

**ANÁLISE DOS TÍTULOS SÉRICOS DE IgA ANTI-ANTÍGENO GLICOLIPÍDIO
FENÓLICO 1 EM PACIENTES COM HANSENÍASE E SEUS CONTATOS
MENORES DE 15 ANOS**

FORTALEZA

2016

JULIANA ALVES GUIMARÃES

ANÁLISE DOS TÍTULOS SÉRICOS DE IgA ANTI-ANTÍGENO GLICOLIPÍDIO
FENÓLICO 1 EM PACIENTES COM HANSENÍASE E SEUS CONTATOS MENORES DE
15 ANOS

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia
do Departamento de Farmácia Odontologia e
Enfermagem da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial à obtenção do
título de Farmacêutico.

Orientador: Profa. Dra. Aparecida Tiemi
Nagao-Dias

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

G978a Guimarães, Juliana Alves.

Análise dos títulos séricos de IgA anti-antígeno glicolipídio fenólico 1 em pacientes com hanseníase e seus contatos menores de 15 anos/ Juliana Alves Guimarães. – Fortaleza, 2016.
60 f. : il.

Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem. Curso de Farmácia, Fortaleza, 2016.
Orientação: Profa. Dra. Aparecida Tiemi-Nagao.

1. Hanseníase. 2. Glicolipídeos. I. Título.

CDD 616.998

JULIANA ALVES GUIMARÃES

ANÁLISE DOS TÍTULOS SÉRICOS DE IgA ANTI-ANTÍGENO GLICOLIPÍDIO
FENÓLICO 1 EM PACIENTES COM HANSENÍASE E SEUS CONTATOS MENORES DE
15 ANOS

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia
do Departamento de Farmácia Odontologia e
Enfermagem da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial à obtenção do
título de Farmacêutico.

Aprovada em: ____/____/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Aparecida Tiemi Nagao-Dias (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Ana Paula Soares Gondim
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Thereza Lúcia Prata de Almeida
Dermatologista

Aos meus pais e irmãos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por me mostrar ao longo dos anos como sou pequena diante da Sua Criação, que a caminhada é longa, mas que Seu Amor é infinito e poderoso.

Aos meus pais, por terem me presenteado com um lar, uma criação e uma vida da melhor forma que puderam. Obrigada por amor, esforço e dedicação. Eu os amo imensamente e eternamente.

Aos meus irmãos: Larissa, prodigiosa na ciência, exemplo de dedicação em tudo que faz, além de minha eterna cúmplice e ao Lucas, o caçula que sempre me surpreende e melhor pessoa para implicar (#tmj). Ao Pedro por fazer parte da nossa família há muito tempo e a quem certamente quero muito bem. A Mariana, por ser uma prima de coração, presente em todos os momentos da minha vida.

A família de oração do Santuário Nossa Senhora de Lourdes, por ser instrumento de Luz na minha vida, onde tenho apoio nos momentos mais difíceis e onde divido os momentos mais felizes.

A avó Rosália, por ser minha referência de sabedoria e inteligência. Obrigada pelas palavras e orações santas que me sustentaram muitas vezes. Tenho muito que aprender.

A Profa. Aparecida Tiemi, pela excelente orientação, por tudo o que me ensinou e tudo aquilo que gerou mudança na minha vida, mesmo sem saber. Fica a minha sincera admiração como profissional e como pessoa.

Ao Alexandre Casimiro, a quem eu devo o aprendizado prático do ELISA e com quem eu dividi as manhãs e tardes demoradas de experimento. Obrigada pela paciência, acredito que seu doutorado terá muitos desafios e sucessos.

Ao LABIM, a cada integrante que conheci durante esses anos, por dividirem comigo não só a bancada e as obrigações acadêmicas, mas também almoços e confraternizações. Tivemos muitos momentos tensos e divertidos que ficarão na memória. Especialmente agradeço ao Raphael, por ser o *MacGyver* do laboratório, obrigada por usar dos seus conhecimentos para nos ajudar.

As minhas duas turmas 2015.1 e 2015.2. Em ambas encontrei pessoas bondosas, divertidas, inteligentes, desesperadas (com o curso) que dividiram comigo essa árdua jornada da faculdade. A gente nunca sabe com quem vai se dar bem, durando pouco ou muito tempo, acredito na marca que cada pessoa consegue deixar. Em especial: Elana (verdadeiro tesouro), Angelina, Gizele, Romário, Jessilane, Karine, Ivo e Cibelle.

Agradeço a Ipharma Consultoria Farmacêutica Jr, a qual eu atribuo uma parte muito empolgante e desafiadora da minha graduação. Agradeço a todos os membros, dos fundadores aos mais novos, especialmente ao Richard e ao Fabrício, pela motivação e pela equipe que formamos e ao Darlan, com quem construí genuínos laços de amizade. Agradeço também a Cristianne Medina por ter me dado a oportunidade de dividir tantas obrigações, estresses e desabafos. Ainda aposto (par ou ímpar?) em uma sociedade no futuro. A Luanna Loyola, pelo otimismo, apoio e proatividade eletrizante (difícil de acompanhar): fez toda a diferença. Agradeço também ao professor Said, tutor da Ipharma Jr., pelo apoio dado a ela e por ser uma pessoa singular no meio acadêmico; tem minha admiração.

A dança, por fazer parte do quem eu sou, tornando minha vida mais leve, mesmo com todas as dores e entrevamentos.

Aos professores participantes da banca examinadora Profa. Aparecida Tiemi, Profa. Ana Paula Gondim e Dra. Thereza Lúcia pelo tempo disponibilizado, pelas valiosas colaborações e sugestões.

A Norma Linhares, pela ajuda concedida a esse trabalho.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

“A coragem é a primeira das qualidades humanas porque garante todas as outras.”
(Aristóteles)

RESUMO

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae*, que apresenta predileção pelos nervos periféricos. Na parede celular desses microorganismos encontra-se um grupo fenólico glicosilado com um trissacarídeo específico para o *M. leprae*: o glicolipídeo fenólico 1 (PGL 1), responsável pela alta especificidade da resposta imune humoral à infecção. Desde sua descoberta, em 1980, tem sido empregado em técnicas para detecção de anticorpos contra o *M. leprae* e muito utilizado em estudos soroepidemiológicos. A análise dos anticorpos anti-PGL 1 na maior parte das vezes restringe-se ao isotipo IgM no soro, outros estudos trazem resultados com IgG sérica, além de IgA e IgM na saliva. Diante do desempenho como ferramenta diagnóstica em outras doenças, este trabalho estudou o isotipo IgA anti-PGL 1 no soro de pacientes com hanseníase e contatos nas cidades endêmicas de Rio Largo e Santana do Ipanema. Das 42 amostras de pacientes com hanseníase, 42,85% foram positivas para IgA anti-PGL 1, quando separados pela classificação multibacilar ou paucibacilar, os primeiros apresentaram maior positividade (45,4%). Quanto à comparação com os outros isotipos IgG e IgM séricos, IgA anti-PGL 1 mostrou melhor correlação com IgM ($r=0,71$, $p<0,0001$) que com IgG ($r=0,35$, $p=0,02$). No grupo contatos ($n=225$), IgA anti PGL 1 apresentou positividade de 0,89%. Quando separados entre intradomiciliares e peridomiciliares e por cidade, dois contatos apresentaram positividade, um intra e outro peri ambos de Santana do Ipanema. Houve significância estatística entre os títulos de IgA anti-PGL 1 nos pacientes e todos os grupos de contatos ($p=0,0001$). Importante significância estatística ($p<0,0001$) também foi observada quando os contatos foram divididos de acordo com o caso índice MB/PB e comparados com pacientes MB/BP. Desse modo, IgA anti-PGL 1 mostrou um comportamento compatível com a possibilidade de uso como ferramenta diagnóstica, no entanto, mais estudos devem ser feitos nesse sentido. É fundamental que seja realizado acompanhamento dos contatos de pacientes que positivaram para IgA anti-PGL 1 quanto ao risco de desenvolver a doença.

Palavras-chave: Hanseníase. PGL-1. Contatos.

ABSTRACT

Leprosy is a chronic infectious disease caused by *Mycobacterium leprae*, which shows predilection for the peripheral nerves. The glycosylated phenolic group with a trisaccharide (PGL-1) is specific for the species, and is responsible for inducing high specific humoral immune response. Since its discovery in 1980, it has been employed in techniques to detect antibodies to *M. leprae* and it is used in seroepidemiological studies. The analysis of anti-PGL 1 antibodies in most cases is restricted to the IgM isotype in the serum. Other studies bring results with serum IgG and IgM, and IgA in saliva. The IgA isotype has been used as a diagnostic tool in other diseases, but not in leprosy. The present work studied the anti-PGL 1 IgA isotype in the serum of leprosy patients and contacts in endemic cities of Rio Largo and Santana do Ipanema, Alagoas. Of the 42 samples from leprosy patients, 42.85% were positive for anti-PGL IgA 1. When the patients were separated by multibacillary or paucibacillary classification, there was a higher positivity (45.4%) in the multibacillary form. The comparison with other isotypes IgG and serum IgM, anti-PGL 1 IgA showed the best correlation with IgM ($r = 0.71$, $p <0.0001$) than with IgG ($r = 0.35$, $p = 0.02$). In the group of leprosy contacts ($n = 224$), anti PGL 1 IgA was positive in 0.89%. When the contacts were separated in household and peridomiciliar contacts, two individuals from Santana do Ipanema, one intra and one peridomiciliar leprosy contact, were positive. There was significant difference between the titers of anti-PGL 1 IgA in patients and all contact groups ($p = 0.0001$). An important statistical significance ($p <0.0001$) was also observed when the contacts were divided according to the index case MB / PB and compared with patients MB / BP. Anti-PGL 1 IgA may be a potential tool in diagnosis; however, more studies shall be done. It is critical to follow-up leprosy contacts who present positive anti PGL-1 IgA who may present high risk of developing the disease.

Keywords: Leprosy. PGL-1. Contacts.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Uma suspensão de <i>M. leprae</i> visualizada através de microscópio eletrônico de varredura em aumento aproximado de 12.000 X	16
Figura 2	Antígeno glicolipídico fenólico 1 (PGL-1)	17
Figura 3	Classificações das formas clínicas da hanseníase. TT: tuberculóide, BT: borderline tuberculóide, BB: borderline borderline, BV: borderline virchowiana, VV: virchowiana	20
Figura 4	Imagens das lesões hansênicas nos principais grupos clínicos, segundo classificação de Madri, 2010.....	22
Figura 5	Esquemas de tratamento: A cartela verde refere-se ao tratamento da forma paucibacilar e a cartela marrom refere-se ao tratamento da forma multibacilar da hanseníase.....	22
Figura 6	Perfil de detecção de casos novos em países com \geq 100 novos casos segundo a OMS em 2014	24
Figura 7	Coeficiente de detecção geral de casos de hanseníase e em menores de 15 anos, Ceará 2001 a 2013	26
Figura 8	<i>Mycobacterium leprae</i> visto em globia e isolados. (Coloração de Ziehl-Neelsen, aumento com objetiva de 100x)	28
Figura 9	Lâmina com aumento de 1000x - coloração de WADE – Rinite hansônica com macrófagos vacuolados e bacilos (em vermelho) dispostos em globias ...	29
Figura 10	Correlação entre os isotipos de anticorpos séricos anti-PGL1 na amostra de soro de 42 pacientes.....	39
Figura 11	Distribuição dos valores de IgA anti-PGL 1 no soro em pacientes MB (n=22) e pacientes PB (n=20). A linha pontilhada indica o valor do <i>cut-off</i>	40
Figura 12	Distribuição dos valores de IgA anti-PGL 1 no soro de pacientes multibacilares (n=22), pacientes paucibacilares (n=20) e de contatos de pacientes multibacilares (n=110) e de contatos de pacientes paucibacilares (n=29). A linha pontilhada indica o valor do <i>cut-off</i>	41
Figura 13	Distribuição dos valores de IgA anti-PGL 1 no soro de contatos	

intradomiciliares de Rio Largo (n=22) e Santana do Ipanema (n=88) e de contatos peridomiciliares de Rio Largo (n=45) e Santana do Ipanema (n=70). A linha pontilhada indica o valor do *cut-off* 42

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Frequência de positividade e valor da sensibilidade diagnóstica para o teste de determinação dos níveis de anticorpos séricos IgA, IgM e IgG anti-PGL1 em pacientes com hanseníase (n=42). SD: Sensibilidade diagnóstica 38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ELISA	Ensaio imunoenzimático
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
INTRA	Intradomiciliar
MB	Multibacilar
OMS	Organização Mundial da Saúde
PB	Paucibacilar
PBS	Solução salina tamponada
PERI	Peridomiciliar
PGL-1	Antígeno Glicolipídico Fenólico 1
PQT	Poliquimioterapia
RL	Rio Largo
SI	Santana do Ipanema
SD	Sensibilidade diagnóstica
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação/Investigação
SP	São Paulo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	Breve histórico da Hanseníase	15
1.2	Etiologia	16
1.3	Imunopatogenia da hanseníase	18
1.4	Manifestações clínicas	19
1.5	Classificações clínicas	20
1.6	Tratamento	22
1.7	Epidemiologia	23
1.7.1	<i>Epidemiologia em menores de 15 anos</i>	25
1.7.2	<i>Contatos de pacientes com hanseníase</i>	26
1.8	Diagnóstico	27
1.9	Sorologia anti-PGL 1	29
1.9.1	<i>IgA</i>	30
2	OBJETIVOS	32
2.1	Objetivos gerais	32
2.2	Objetivos específicos	32
3	MATERIAIS E MÉTODOS	33
3.1	População e amostras	33
3.2	Dosagem de anticorpos séricos IgA, IgM e IgG anti-PGL 1, por ensaio imunoenzimático (ELISA)	34
3.3	Método de dosagem de anticorpos séricos IgA anti-PGL 1, por ensaio imunoenzimático (ELISA)	35
3.4	Método de dosagem de anticorpos séricos IgM e IgG anti-PGL 1, por ensaio imunoenzimático (ELISA)	36
3.5	ANALISE ESTATÍSTICA	36
4	RESULTADOS	38
4.1	Anticorpos IgA, IgM e IgG anti-PGL 1 em amostras de soro de pacientes com hanseníase	38
4.2	Correlação entre os isótipos de anticorpos séricos anti-PGL1	39
4.3	Comparação dos valores séricos de IgA anti-PGL1 entre pacientes e controles não contatos	40

4.4	Anticorpos IgA anti-PGL 1 no soro de pacientes e contatos de acordo com a classificação operacional do caso índice	41
4.5	Anticorpos IgA anti-PGL 1 no soro de contatos intra e peridomiciliares	42
5	DISCUSSÃO	43
6	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS	46
	ANEXO A – PARECER APROVADO PELA COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA E PESQUISA	51
	ANEXO B - QUESTIONÁRIO DESTINADO AOS CASOS DE HANSENÍASE	54
	ANEXO C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	55
	ANEXO D – TERMO DE ASSENTIMENTO	57
	ANEXO E – QUESTIONÁRIO DESTINADO AOS CONTATOS DE HANSENÍASE	59

1 INTRODUÇÃO

1.1 Breve histórico da hanseníase

A hanseníase é uma das doenças mais antigas que se têm relatos, mesmo sem um consenso quanto a sua origem. As primeiras descrições da doença foram encontradas na Índia e no Egito, século 7 a.C (FROHN, 1933 *apud* CUNHA, 2002). Citações bíblicas também são encontradas nos capítulos 13 e 14 de *Levíticos* trazendo uma conotação preconceituosa da doença, que teve grande influência na sociedade. O termo “lepra”, na verdade, era usado muitas vezes para se referir a outras patologias que envolviam manifestações cutâneas como eczemas, sífilis, lúpus ou queimaduras (CUNHA, 2002; QUEIROZ; PUNTEL, 1997).

Importantes relatos também são encontrados na literatura japonesa e chinesa. Um exemplo é o manuscrito chinês intitulado “Remédios secretos completos” datado de 1900 a.C. que traz descrições sobre a doença, tais como manchas vermelhas, ulcerações, queda do pelo das sobrancelhas e alteração das articulações (SKINSNES, 1973).

A disseminação da doença ao longo dos anos e pelos continentes pode ter sido consequência da demora no entendimento sobre sua transmissibilidade, na descoberta de terapia adequada, a consequente deformidade física e a própria exclusão social do enfermo (CUNHA, 2002). As Cruzadas e outras migrações foram verdadeiros catalisadores na disseminação da hanseníase, assim como de outras doenças.

No Brasil, a chegada da hanseníase se deu com os primeiros colonizadores portugueses e sua disseminação ocorreu através da contribuição dos escravos africanos (EIDT, 2004). Os primeiros casos foram notificados no Rio de Janeiro, em 1600 (YAMANOUCHI, 1993 *apud* EIDT, 2004).

No Ceará, a ação mais marcante de combate à hanseníase foi liderada pela Igreja Católica através da divulgação dos casos e das campanhas para construção dos primeiros leprosários. Esses leprosários ou asilos eram abrigos construídos mais no intuito de isolar a população doente que tratá-las, pois eram lugares com condições sanitárias precárias, assim como eram raras as visitas dos médicos. Essa situação de abandono começou a ser discutida em 1920, com o avançar das políticas públicas do Estado (LIMA, 2011; QUEIROZ; PUNTEL, 1997).

Em 1960, a proposta de mudança do nome “lepra” por hanseníase foi sugerida por vários autores importantes. No Brasil, o termo “Lepra” foi abolido pela Lei 9.010, de 26 de março de 1995 (BRASIL, 1995). A partir da década de 80, a política de saúde começou a

voltar-se no sentido de desativar os asilos e promover a interação do paciente com a família, ação nada fácil, pois enfrentou resistência dos próprios pacientes por conta da incapacidade de conviver em sociedade, decorrentes das sequelas do confinamento (QUEIROZ; PUNTEL, 1997).

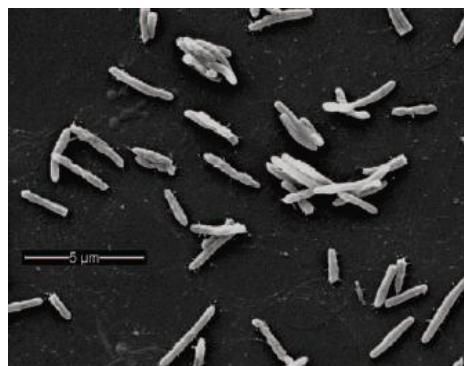
No Brasil, a hanseníase é uma doença de notificação compulsória e de investigação obrigatória. As notificações devem ser registradas no Sistema de Informação de Agravos de Notificação/Investigação (SINAN), através de formulário específico (BRASIL, 2014).

1.2 Etiologia

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*), microrganismo que apresenta predileção pelos nervos periféricos, sendo essa uma das principais causas de neuropatia e sequelas físicas no paciente acometido.

O *M. leprae* foi descoberto como agente causador da hanseníase em 1873 por Gerhard Henrick Armauer Hansen, um médico e bacteriologista norueguês, cujo nome também é usado para se referir ao patógeno: bacilo de Hansen (ALVES; LEONEL FERREIRA; NERY FERREIRA, 2014). O *M. leprae* é um bacilo reto ou levemente encurvado com extremidades arredondadas (Figura 1) se reproduz por divisão binária lenta, não forma esporos, não produz toxinas e não é cultivável (ALVES; LEONEL FERREIRA; NERY FERREIRA, 2014).

Figura 1 - Uma suspensão de *M. leprae* visualizada através de microscópio eletrônico de varredura em aumento aproximado de 12.000 X (SCOLLARD *et al.*, 2006).

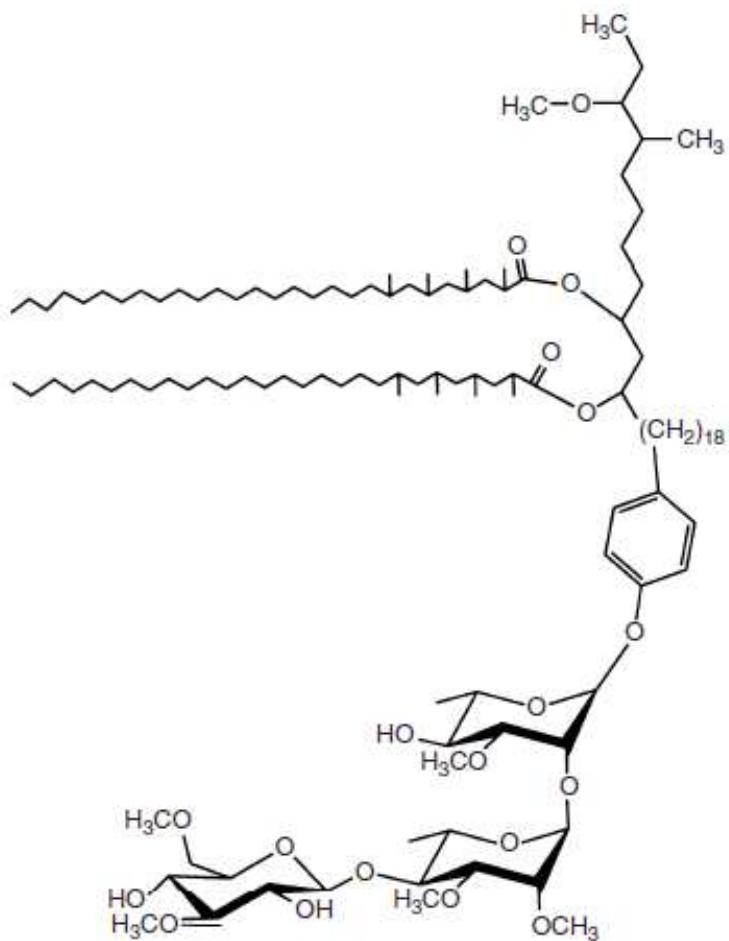


Esses bacilos apresentam propriedades álcool-ácido resistentes na coloração de Ziehl-Neelsen devido à alta concentração de lipídios na parede celular, principalmente ácido

micólico (GOULART; PENNA; CUNHA, 2002).

A parede celular do *M. leprae* é constituída de peptidoglicanos entrelaçados e ligados covalentemente a cadeias polissacarídicas (ALVES; LEONEL FERREIRA; NERY FERREIRA, 2014). Uma importante molécula capsular, que representa acima de 3% do peso total do bacilo, foi descoberta em 1980, contendo um grupo fenólico glicosilado com um trissacarídeo específico para o *M. leprae*: o glicolipídeo fenólico 1 (PGL-1) (Figura 2) (BRENNAN; BARROW, 1980; GAYLORD; BRENNAN, 1987).

Figura 2 - Antígeno glicolipídico fenólico 1 (PGL-1) (SPENCER; BRENNAN, 2011).



Essa molécula imunogênica é também responsável pela predileção do bacilo pelo nervo periférico ao interagir com a laminina das células de Schwann, localizadas ao redor dos axônios periféricos (NG *et al.*, 2000). A porção terminal 3,6-di-O-metil glucose do PGL – 1 é a responsável pela alta especificidade da resposta imune humoral à infecção, não tendo sido identificada em nenhuma outra molécula na natureza. Desta forma, PGL-1 é uma molécula

muito utilizada em testes sorológicos (ALVES; LEONEL FERREIRA; NERY FERREIRA, 2014; SPENCER; BRENNAN, 2011; CHO *et al.*, 1991). A resposta imune observada em indivíduos com alta carga bacilar tem sido através da produção de anticorpos IgM anti PGL-1, evidenciando independência das células T (SPENCER; BRENNAN, 2011).

Outra importante molécula presente na parede celular é lipoarabinomanana (LAM), um lipopolissacáride que está relacionado ao mecanismo de sobrevivência do patógeno e que é encontrado em outras micobactérias (ALVES; LEONEL FERREIRA; NERY FERREIRA, 2014).

1.3 Imunopatogenia da hanseníase

A hanseníase é transmitida via perdigotos, através das vias respiratórias e apresenta um longo período de incubação, em média de 2 a 7 anos. Lesões de pele ricas em bacilos podem se constituir em uma forma de transmissão, mas é raro (BRASIL, 2014).

Assim como para a maioria das doenças infecciosas, a quantidade de indivíduos expostos à hanseníase é bem superior aos dos que apresentam a doença e os principais aspectos patológicos da população que adoece está ligada a uma resposta imune anormal e não com ação direta do patógeno (MACHADO *et al.*, 2004).

M. leprae interage com macrófagos através de receptores “*Toll-like*” (TLR) presentes em macrófagos, entre outras células. Acredita-se que os receptores TLR-2 ligam-se a lipoproteínas do *M. leprae*, e desta forma, ativam o fator NF κ b que, por sua vez, irá induzir a transcrição de citocinas pró-inflamatórias como TNF α , IL-1, IL-6 (ALVES, E. D.; LEONEL FERREIRA, T.; NERY FERREIRA, 2014). Os macrófagos contribuem para a imunidade mediada por células e eliminação das bactérias, no entanto, paradoxalmente podem proporcionar um nicho de sobrevivência intracelular das mesmas, e fuga dos mecanismos de defesa do hospedeiro (VERRECK *et al.*, 2004).

As citocinas IL-1, IL-6, TNF, IL-12 proporcionam um microambiente favorável à diferenciação da população de linfócitos T CD4+ em produtores do perfil Th1 de citocinas. Além disso, IL-12 estimula as células *Natural Killer* (NK) a produzirem IFN- γ que, por sua vez é um potente ativador de macrófagos (GOULART; PENNA; CUNHA, 2002). O *M. leprae* pode induzir a produção de TNF- α e/ou de TGF- β . Enquanto o TNF- α atua promovendo ativação de macrófagos e formação de granulomas, potencializando a diferenciação das células T CD4+ para Th1, TGF- β contrapõe tais efeitos, favorecendo

ativação alternativa de macrófagos e, consequentemente a um perfil de Th pouco protetor, seja de Th2 e/ ou Treg (GOULART; PENNA; CUNHA, 2002). Essa dualidade de respostas relacionada ao perfil de citocinas influencia diretamente nas formas clínicas da hanseníase.

Na forma tuberculóide da doença encontra-se o perfil Th1, ou seja, presença de citocinas IL-2, IFN- γ , TNF- β que sustentam uma resposta imune celular, com atividade das células NK, macrófagos e boa produção de IFN- γ , alimentando o ciclo de resposta imune celular. Na forma virchowiana da doença, há predomínio dos perfis Th2 e Treg da resposta imune com a presença de IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10. IL-4 vai atuar estimulando linfócitos B a produzirem imunoglobulinas, além de ser supressora da atividade macrofágica, e sua presença vai indicar depressão da resposta imunológica (GOULART; PENNA; CUNHA, 2002; FOSS, 1997).

Outra característica importante das formas disseminadas é que, dentro do macrófago, o bacilo produz antígenos glicofenólico (PGL-1) e lipoarabinomanana (LAM) que suprimem a atividade macrofágica (COSTA, 2013).

1.4 Manifestações clínicas

Os sinais e sintomas da hanseníase que surgem no indivíduo que adoece são de curso principalmente dermatoneurológico. Geralmente a doença manifesta-se por meio de lesões na pele, em qualquer região do corpo, mas pode acometer também a mucosa nasal e a cavidade oral. As lesões de pele podem ser dos tipos: manchas pigmentadas ou discrômicas, placa, infiltração, tubérculo e nódulo (BRASIL, 2002; CUNHA 2002). Uma característica fundamental que pode ser observada nessas lesões é a alteração de sensibilidade, que pode surgir depois de uma fase inicial de aumento da sensibilidade e formigamento, devido ao acometimento neurológico periférico (LYON, 2013).

Existem algumas teorias que tentam explicar como o bacilo *M. leprae* atinge o nervo, uma delas sugere que seja através das terminações nervosas sensitivas cutâneas, onde esses bacilos seriam transportados pelo fluxo axonal retrógrado (FLEURY, 1997). Outra teoria sugere que ocorra através das veias endoneurais, em momentos de desequilíbrio da barreira hemoneuronal (SARUBI; SHIBUYA, 2013). Seja como for, o bacilo atinge as células de Schwann, multiplicando-se dentro delas, o que resulta em um processo inflamatório de destruição da bainha de mielina e de alteração neural. Devido ao processo inflamatório, pode haver alterações das funções motoras, sensoriais e autonômicas dos nervos, da qual a sensorial é a mais predominante e a motora a mais debilitante para o doente (WALKER; LOCKWOOD,

2007; SCOLLARD *et al.*, 2006).

O grau de incapacidade de um indivíduo é registrado através do acometimento das mãos, dos pés e dos olhos identificados no exame neurológico e varia de 0 (ausência de incapacidades relacionada à hanseníase) a 2 (que pode significar tanto paralisia de um dedo como ausência de todos os dedos) (SARUBI; SHIBUYA, 2013; OMS, 2010).

1.5 Classificações clínicas

Em meio a controvérsias e diante de uma grande variedade de parâmetros clínicos, em 1953, durante um congresso em Madri, propôs-se uma classificação baseada em quatro principais grupos: formas indeterminada, tuberculóide, borderline e virchowiana (LOCKWOOD; SARNO; SMITH, 2007). Em 1966, Ridley e Jopling propuseram uma nova classificação, associando a carga bacteriana com a resposta imune celular do indivíduo ao bacilo: formas tuberculóide (TT), borderline tuberculóide (BT), borderline borderline (BB), borderline virchowiana (BV) e virchowiana (VV) (TALHARI; TALHARI; PENNA, 2015). Nessa classificação, a forma indeterminada fica como uma fase precoce, já que não há relação entre clínica e aspectos histopatológicos. A Figura 3 ilustra as duas classificações propostas.

Para fins de classificação operacional com objetivo de tratamento, a Organização Mundial de Saúde (OMS) classifica a hanseníase em forma paucibacilar e forma multibacilar (OMS, 2010). Os casos paucibacilares são aqueles com até 5 lesões de pele e/ou um tronco nervoso acometido e os casos multibacilares são aqueles com mais de 5 lesões e/ou dois ou mais troncos nervosos acometidos (BRASIL, 2001).

Figura 3 – Classificações das formas clínicas da hanseníase. TT: tuberculóide, BT: borderline tuberculóide, BB: borderline borderline, BV: borderline virchowiana, VV: virchowiana. Figura: Elaborado pelo autor.

CLASSIFICAÇÃO	FORMA			
Madri (1953)	Indeterminada	Tuberculóide	Borderline/ Dimorfa	Virchowiana
Ridley e Jopling (1966)		TT	BT/ BB/ BV	VV
OMS (2010)	PAUCIBACILARES		MULTIBACILARES	

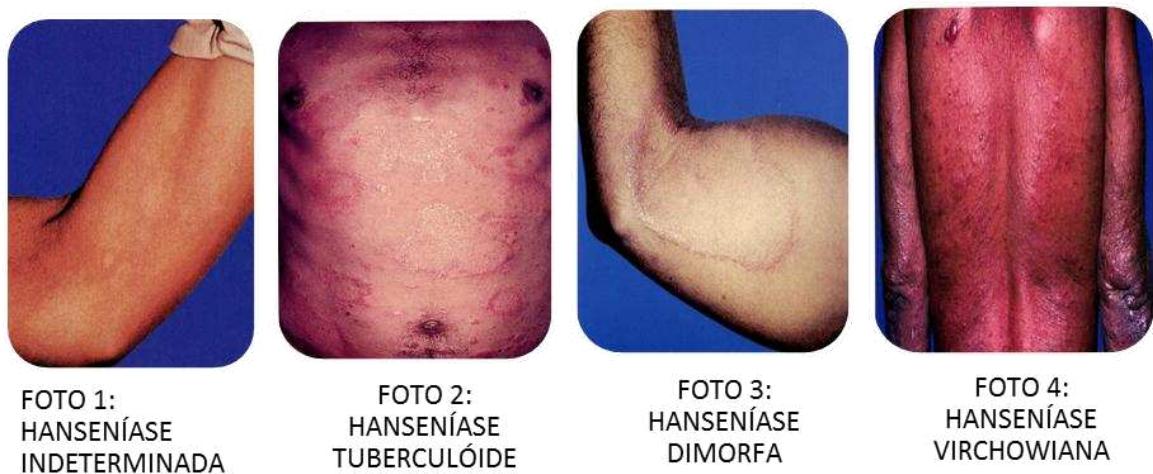
Inicialmente, a hanseníase apresenta-se como mancha hipocrômica, forma conhecida como indeterminada, que comumente cursa com alteração de sensibilidade térmica (TALHARI; TALHARI; PENNA, 2015). O número de lesões depende da resposta imunológica do indivíduo, ou seja, aquele com resposta imune celular mais preponderante com relação à resposta imune humoral apresentaria um menor número de lesões. A partir da forma indeterminada, surgem as outras formas da doença que podem ser divididas em dois polos: o polo tuberculóide (TT) e o polo virchowiano (VV), e três formas intermediárias (TB, BB e BV) também chamadas de dimorfas. A Figura 4 expõe algumas imagens que representam a diferença clínica entre os principais grupos.

A forma tuberculóide (TT) é caracterizada por manchas hipocrônicas com bordas papulosas, levemente elevadas. Nessa forma, o comprometimento de troncos nervosos periféricos fica restrito a alguns fascículos e o comprometimento autonômico manifesta-se através diminuição da sudorese e rarefação de pelos na região da lesão (FLEURY, 1997; SARUBI; SHIBUYA, 2013). Na forma borderline tuberculóide (BT), os nervos periféricos já estão bastante acometidos e o espessamento é assimétrico, sendo que as lesões são eritematosas e com bordas granulosas bem definidas. As lesões apresentam-se de variados tamanhos e aspectos e evoluem rapidamente, se não houver tratamento (TALHARI; TALHARI; PENNA, 2015).

A forma borderline borderline (BB) é um espectro raro e instável e cursa com uma grande diversidade de lesões, isto é, máculas, pápulas e placas que se combinam e formam lesões conhecidas como aspecto de “queijo suíço” (TALHARI; TALHARI; PENNA, 2015). A forma borderline virchowiana caracteriza-se por um envolvimento neural disseminado observado através do grande número de lesões, com perda da sensibilidade (SARUBI; SHIBUYA, 2013). Na forma virchowiana, as placas eritematosas e hipocrônicas são mal definidas e disseminadas, com acúmulo de bacilos. Pode se observar nódulos bem espessos e infiltrados, havendo acometimento também do rosto, configurando-se o que é chamado de “face leonina”. Trata-se de um estágio de alto comprometimento dos nervos acometidos (TALHARI; TALHARI; PENNA, 2015). Pode haver também perda de cílios e sobrancelhas (madarose).

Existe ainda a chamada hanseníase neural pura que está presente em pacientes com espessamento de nervos periféricos, seja simples ou múltiplo, e ausência de lesões na pele. Nem sempre é possível, mas muitas vezes o espessamento neural é visivelmente encontrado, e geralmente o paciente pode se queixar de muitas dores no local e perda de força muscular (TALHARI; TALHARI; PENNA, 2015).

Figura 4 – Imagens das lesões hansênicas nos principais grupos clínicos, segundo classificação de Madri, 2010. Fonte: Atlas de Hanseníase (OPROMOLLA; URA, 2002).

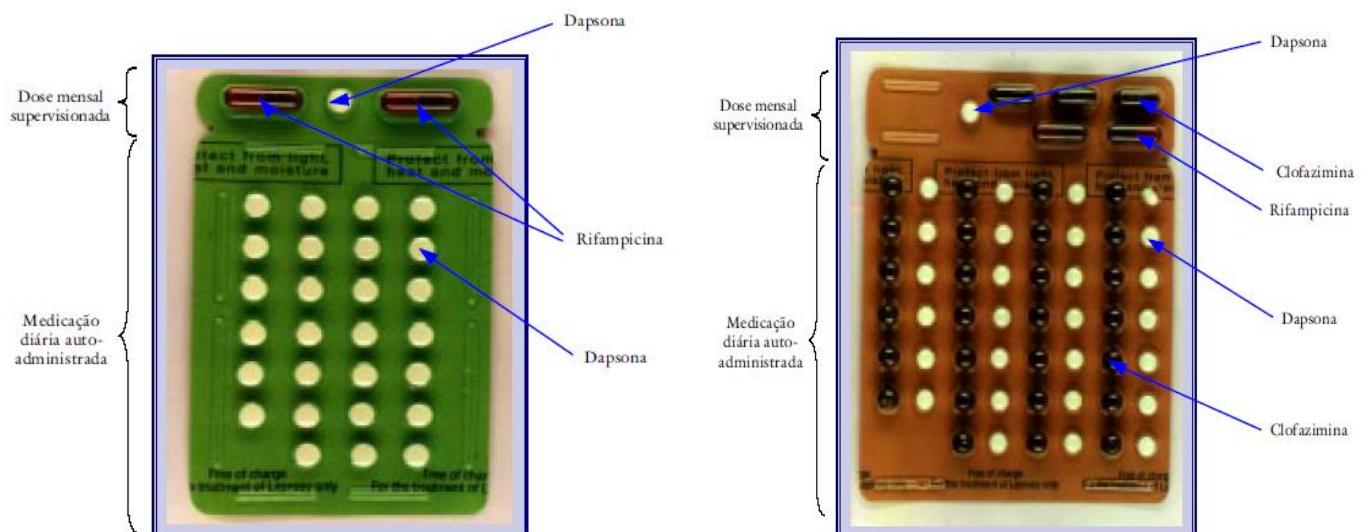


1.6 Tratamento

A associação medicamentosa ou poliquimioterapia (PQT) foi instituída em 1977 pela OMS e é constituída pelos seguintes medicamentos: rifampicina, dapsona e clofazimina (SILVA, 2013).

A PQT torna o bacilo inviável, interrompendo a cadeia epidemiológica e levando o paciente à cura (BRASIL, 2002). A administração segue dois esquemas-padrão representados pela Figura 5, de acordo com a classificação em forma paucibacilar ou multibacilar, sendo essencial a seleção do esquema adequado correspondente.

Figura 5 – Esquemas de tratamento: A cartela verde refere-se ao tratamento da forma paucibacilar e a cartela marrom refere-se ao tratamento da forma multibacilar da hanseníase (BRASIL, 2002).



O tempo de tratamento é de 6 a 9 meses para a forma paucibacilar e de 12 a 18 meses para a forma multibacilar (BRASIL, 2001).

A PQT da hanseníase é oferecida aos pacientes de maneira supervisionada, o que faz garantir a tomada do medicamento, promovendo a adesão do paciente ao tratamento e, por outro lado, exige motivação e compromisso das equipes de saúde (OPROMOLLA, 1997).

Programas de controle de hanseníase têm mostrado importantes conquistas na luta contra a hanseníase nas últimas três décadas, mais de 16 milhões de casos foram tratados e o número de pacientes que necessitam de tratamento é < 200.000 em 2015 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015).

Em suma, o esquema terapêutico hoje proporciona cura aos pacientes, no entanto, limitações de cunho estrutural e organizacionais do sistema de saúde e profissionais pouco qualificados geram muitos casos de hanseníase subdiagnosticados além de tratamento ineficaz ou inapropriado.

1.7 Epidemiologia

A hanseníase está inclusa no grupo de “doenças negligenciadas e outras relacionadas com a pobreza”, segundo a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) por meio da Resolução OPAS CD49.R19/2009, que a caracteriza de três formas: como problema de saúde pública, como doença cuja carga pode ser drasticamente reduzida e cujo controle necessita do desenvolvimento de ferramentas, métodos e estratégias de controle (BRASIL, 2013).

Em um documento divulgado pela OMS em maio de 2015, elaborado a partir de relatórios anuais recebidos de 121 países revela que a nova taxa de detecção de casos a nível global é 3,78 por 100.000 habitantes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015). O Brasil aparece fazendo parte de um grupo de 13 países que reportaram mais de 1000 novos casos ocupando o segundo lugar, perdendo apenas para a Índia (OMS, 2015).

Estes 13 países contribuem conjuntamente com 94% dos novos casos de hanseníase em todo o mundo. A análise do surgimento de novos casos é uma tentativa de compreender a situação mundial da doença e de identificar onde ela ainda persiste.

A Figura 6 exibe o perfil de detecção de casos em países com número ≥ 100 novos casos. Cada perfil exibe um significado: a proporção de casos novos multibacilares indicaria indiretamente a magnitude da infecção na comunidade; a proporção de casos novos sendo do sexo feminino pode revelar alguma sensibilidade do gênero (WORLD HEALTH

ORGANIZATION, 2015). A proporção de casos entre crianças abaixo de 15 anos de idade está relacionada com infecção recente e foco ativo de transmissão na comunidade (BARRETO *et al.*, 2011). Por último, a proporção de casos com grau de incapacidade 2 são indicativos da falta de consciência sobre os primeiros sinais de hanseníase e da procura tardia por atendimento por parte do paciente ou ainda pela incapacidade do sistema de saúde de diagnosticar casos e de tratar adequadamente a doença (OMS, 2015).

Figura 6 – Perfil de detecção de casos novos em países com ≥ 100 novos casos segundo a OMS, em 2014 (WHO, 2015).

WHO Region ^a – Région OMS ^a	% cases of multi-bacillary among new leprosy cases ^b – % cas de lèpre multibacillaire parmi les nouveaux cas ^b	% of females among new leprosy cases ^b – % de femmes parmi les nouveaux cas ^b	% of children among new leprosy cases ^b – % d'enfants parmi les nouveaux cas ^b	% of new leprosy cases with grade-2 disabilities ^b – % de nouveaux cas de lèpre présentant une incapacité de degré 2 ^b
African – Afrique	Burkina Faso: 94.7% Comoros – Comores: 47.2%	Comoros – Comores: 62.0% Ethiopia – Ethiopie: 0.00%	Comoros – Comores: 34.5% Niger: 1.4%	Uganda – Ouganda: 28.0% Kenya: 0.00%
Américas – Amériques	Argentina – Argentine: 87.9% Dominican Republic – République dominicaine: 32.9%	Cuba: 46.1% Dominican Republic – République dominicaine: 18.9%	Brazil – Brésil: 7.5% Argentina – Argentine: 1.2%	Colombia – Colombie: 12.2% Cuba: 2.3%
Eastern Mediterranean – Méditerranée orientale	Egypt – Egypte: 91.1% Yemen – Yémen: 55.4%	Pakistan: 50.1% Sudan – Soudan: 30.7%	Yemen – Yémen: 13.3% Sudan – Soudan: 3.2%	Pakistan: 17.9% Yemen – Yémen: 7.0%
South-East Asia – Asie du Sud-Est	Indonesia – Indonésie: 83.4% Bangladesh: 46.1%	Thailand – Thaïlande: 43.2% Myanmar: 33.5%	Indonesia – Indonésie: 11.1% Myanmar: 4.1%	Thailand – Thaïlande: 14.9% Nepal – Népal: 4.0%
Western Pacific – Pacifique occidental	Philippines: 91.7% Kiribati: 34.1%	Kiribati: 46.3% Malaysia – Malaisie: 27.9%	Micronesia (Federated States of) – Micronésie (Etats fédérés de): 39.8% China – Chine: 1.7%	Lao People's Democratic Republic – République démocratique populaire Lao: 31.7% Malaysia – Malaisie: 1.6%

No Brasil, o coeficiente de prevalência é o indicador utilizado para monitorar o progresso da eliminação da hanseníase e este vem diminuindo de modo mais acentuado desde 2003, em contraste com o padrão de distribuição da doença que permanece o mesmo (BRASIL, 2013).

Em um documento publicado no ano de 2015, desenvolvido pelo Ministério da Saúde, utilizando o método de Monitoramento e Eliminação da Hanseníase (LEM) do período de junho a outubro de 2012 em todos os Estados e no Distrito Federal, revelam que as Regiões Norte e Centro-Oeste são consideradas hiperendêmicas, com 42,3 e 40,1 casos novos por 100 mil habitantes, respectivamente (BRASIL, 2013). As regiões Nordeste apresentam endemicidade muito alta e as regiões Sul e Sudeste apresentam média endemicidade (BRASIL, 2015). Essa classificação é estabelecida pela Portaria 3.125 de 7 de outubro de 2010 que aprova as Diretrizes para Vigilância, Atenção e Controle da Hanseníase.

Quanto à detecção de casos novos no País o coeficiente passou de 19,7 casos por 100 mil habitantes em 2007, para 16,4 em 2011, uma redução que ocorreu em todos os Estados (BRASIL, 2015). Elevadas taxas de detecção foram verificadas nos estados de Rondônia, Pará e Tocantins no Norte, Mato Grosso e Goiás no Centro-Oeste, enquanto no Norte, essa maior taxa foi verificada no Maranhão (BRASIL, 2015).

Os estados de Alagoas, Rio Grande do Norte e Distrito Federal estão próximos de 10 casos por 100 mil habitantes, considerados próximo do controle, no entanto, o estado de Alagoas apresenta taxas de cura de doentes com a forma paucibacilar em torno de 78,4%, considerado regular (BRASIL, 2015). Além disso, a Secretaria de Saúde do estado de Alagoas apresentou como sendo municípios de elevada endemicidade: Maceió, Arapiraca, Santana do Ipanema, União dos Palmares, Delmiro Gouveia, Rio Largo, Penedo e Pilar, o que demonstra estar ocorrendo diagnóstico tardio e subnotificação. A cidade de Rio Largo e Santana do Ipanema, por exemplo, apresentaram coeficiente de detecção de casos novos de 20,30 e 41,80 casos por 100.000 habitantes, respectivamente (ALAGOAS, 2015).

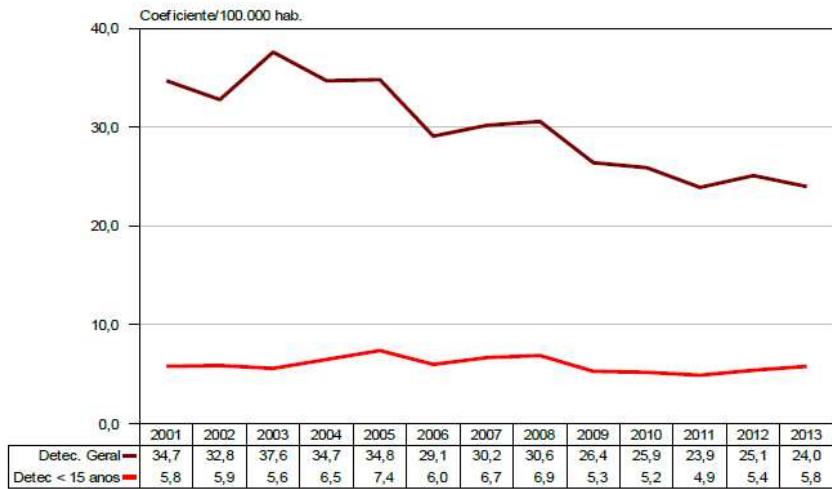
1.7.1 Epidemiologia em menores de 15 anos

Como mencionado anteriormente, o estudo de casos entre crianças é uma ferramenta importante, pois indica se há transmissão precoce e contínua da doença na comunidade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015).

No Brasil, o coeficiente de detecção de hanseníase em menores de 15 anos de idade apresenta um valor de 6,7%, da detecção geral de casos no país em 2012, valor que classifica a endemia como muito alta para esse grupo (BRASIL, 2013). As regiões Norte e Nordeste apresentaram as maiores proporções de casos de hanseníase em crianças.

No estado do Ceará, no período de 2001 a 2013, houve uma queda de 35% na detecção de casos novos (Figura 7), ainda assim considerado alto pela OMS e não houve mudança no coeficiente de detecção em menores de 15 anos, que é de 5,8/100.000 habitantes, considerado muito alto (CEARÁ, 2014).

Figura 7 – Coeficiente de detecção geral de casos de hanseníase e em menores de 15 anos, Ceará 2001 a 2013 (CEARÁ, 2014).



Dados da Secretaria do Estado do Ceará (2014) ainda revelam que, 23 municípios são considerados hiperendêmicos, detectando mais de 40 novos casos por 100.000 habitantes.

1.7.2 Contatos de pacientes com hanseníase

Considerando o modo de transmissão da hanseníase, estudos feitos com contatos de pacientes com hanseníase mostraram que eles apresentaram maior risco de desenvolverem a doença comparada ao restante da população, principalmente se o caso índice fosse portador da forma multibacilar (VAN BEERS; DE WIT; KLATSER, 1996).

Com efeito, Douglas *et al.* (2004), em um estudo de acompanhamento de contatos por 5 anos, detectaram uma taxa de soropositividade alta entre aqueles contatos morando próximo dos novos casos emergentes (34,8%) comparado aos contatos vivendo em casas onde não haviam novos casos (14,3%). Além disso, os contatos com títulos positivos de anticorpos séricos apresentavam 7,65 vezes maior risco de desenvolver hanseníase. O risco também era maior entre os contatos de pacientes com a forma multibacilar da doença do que aqueles com a forma paucibacilar (DOUGLAS *et al.*, 2004).

Chen *et al.* (2000), em concordância com outros estudos, observaram que entre crianças portadoras da doença, já havia sido registrado um caso anterior na família, evidenciando a influência do contato intradomiciliar.

No mesmo estudo de Barreto *et al.* (2011), verifica-se que pessoas residentes em áreas hiperendêmicas são expostas a infecções na infância e desenvolvem algum tipo de resposta imunológica. A preocupação surge, no entanto, porque esses pacientes menores de 15

anos diagnosticadas com a forma tuberculóide, mesmo com resposta imunológica específica, adoecem (FERREIRA, 2003).

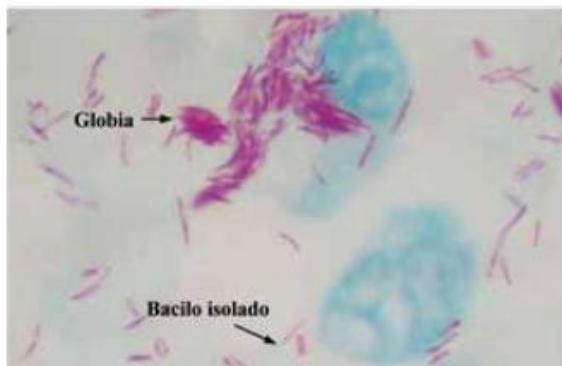
1.8 Diagnóstico

A hanseníase é diagnosticada quando pelo menos um dos sinais cardinais se manifesta: (1) Evidente perda de sensibilidade numa lesão cutânea esbranquiçada (hipocrômica) ou avermelhada. (2) Um nervo periférico espessado, com perda de sensibilidade e/ou fraqueza da musculatura inervada por ele. (3) Presença de bacilos álcool-ácido-resistentes em um raspado intradérmico (OMS, 2010, p.18).

Os testes de sensibilidade são preconizados pelo Ministério da Saúde e são feitas para identificar perda da sensibilidade térmica, dolorosa e tátil que, com a evolução da doença, acometem o doente seguindo essa ordem (RODRIGUES JÚNIOR; GRESTA, 2013). As instruções para realização dessas técnicas podem ser encontradas no Guia para o controle da Hanseníase (BRASIL, 2002). A avaliação do nervo espessado é feita pela apalpação e exige profissionais bem capacitados (OMS, 2010).

A baciloscopy é indicada principalmente se o doente tiver lesões nodulares ou se a maior parte da pele estiver infiltrada com lesões indistintas sem evidente perda de sensibilidade (OMS, 2010). Com alta especificidade e baixa sensibilidade, a baciloscopy resulta negativa para a maioria das pessoas, mas em alguns casos de hanseníase multibacilar, ela é o único sinal para fechar o diagnóstico (SARUBI; MARCELO JÚNIOR, 2013). Os sítios de coleta são os pontos de maior probabilidade de encontro do bacilo. Considerando seu tropismo por regiões anatômicas frias, o Ministério da Saúde preconiza a realização do raspado em quatro sítios: ambos os lóbulos da orelha e cotovelos, sendo que se houverem regiões de lesões ou de alteração de sensibilidade, elas serão preferência (BRASIL, 2002). Depois de realizada a coleta, o esfregaço é corado pelo método de Ziehl-Neelsen a frio, para preservar as condições do bacilo, em seguida, é feita leitura em microscópio na objetiva de 100x, utilizando movimentos de *zigue-zague* em 100 campos representativos (BRASIL, 2010). Para expressão de um resultado utiliza-se o índice baciloscópico (IB) proposto por Ridley em 1962. O IB leva em conta o número de bacilos encontrado em cada campo do esfregaço, sendo a seguir, atribuído um índice que varia de 0 a 6+ (BRASIL, 2010). A Figura 8 mostra uma baciloscopy com presença de bacilos isolados e em globias, que são agrupamentos nos quais o bacilo de Hansen tende a formar.

Figura 8 - *Mycobacterium leprae* visto em globia e isolados. (Coloração de Ziehl-Neelsen, aumento com objetiva de 100x).

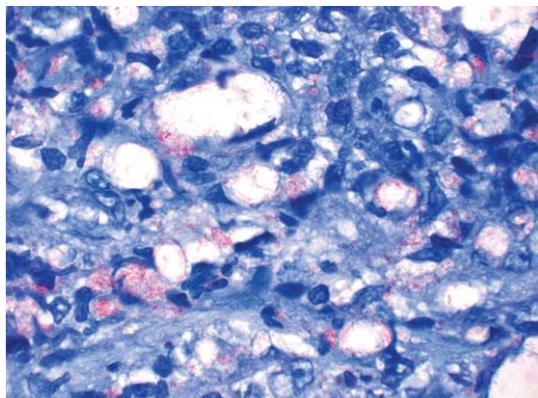


Fonte: Centro de Referência Dona Libânia – CE (BRASIL, 2010).

Na forma indeterminada, a baciloscopia sempre é negativa, caso seja positiva, é indicativo de evolução da doença enquanto na forma tuberculóide o resultado é negativo e na forma virchowiana é positivo, podendo ser encontrado uma grande quantidade de bacilos. Nas formas dimorfas a baciloscopia pode ser positiva ou negativa (BRASIL, 2010).

Apesar de o diagnóstico da hanseníase ser eminentemente clínico, como observado no documento da OMS, pode ser realizado diagnóstico histopatológico de lesões cutâneas ou de nervos. O mesmo é utilizado frequentemente em casos duvidosos e consiste em identificar o bacilo de Hansen, ainda que a sensibilidade diagnóstica seja baixa, ou infiltrado inflamatório com tríplice distribuição (perivascular, perianexial e perineural), sendo esta última uma forma presuntiva (BARRETO *et al.*, 2011). A biópsia é processada e fixada em formol a 10% ou formol tamponado e as colorações utilizadas podem ser Hematoxilina-Eosina, Ziehl-Wade-Klingmuller (WADE) ou Fite Faraco (MARTINS *et al.*, 2010). A Figura 9 mostra uma lâmina com biópsia de mucosa nasal, evidenciando a presença de bacilos.

Figura 9 - Lâmina com aumento de 1000x - coloração de WADE – Rinite hansônica com macrófagos vacuolados e bacilos (em vermelho) dispostos em globias (MARTINS *et al.*, 2010).



O diagnóstico da hanseníase exige que os profissionais sejam continuamente qualificados; além disso, o diagnóstico de certeza é extremamente necessário, uma vez que o tratamento é longo, sem esquecer os aspectos psicossociais envolvidos (OMS, 2010).

Um razão para não se ter um padrão-ouro de diagnóstico na hanseníase é pelo fato do *M. leprae* não ser cultivável em meios sintéticos ou em cultura de células (SARUBI; MARCELO JÚNIOR, 2013; OSKAM; SLIM; BÜHRER-SÉKULA, 2013).

1.9 Sorologia anti-PGL 1

Desde a descoberta de que o antígeno glicofenólico lipídico 1 (PGL 1) é específico do *M. leprae*, técnicas para detecção de anticorpos contra o mesmo tem sido muito empregadas em estudos soroepidemiológicos (SPENCER; BRENNAN, 2011).

O método mais encontrado nos estudos para detecção desses anticorpos tem sido o ensaio imunoenzimático, do inglês, *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Comparando-se com outros métodos, tais como, utilizando antígeno sintético conjugado a albumina sérica bovina, ND-O-ELISA, e o teste rápido de imunocromatografia (ML-Flow), o ELISA anti-PGL 1, para detecção de infecções subclínicas para hanseníase, mostrou melhor associação com o espectro da doença e, portanto com as formas clínicas da hanseníase (LOBATO *et al.*, 2011).

A análise dos anticorpos anti-PGL 1 na maior parte das vezes restringe-se ao isotipo IgM no soro, entretanto, seu papel como marcador da doença não está claramente elucidado (CABRAL *et al.*, 2013; CHO *et al.*, 1991). Na maior parte dos testes, pacientes com a forma paucibacilar apresentam sorologia negativa (OSKAM; SLIM; BÜHRER-SÉKULA,

2013). A presença de IgG também pode ser constatada (NAGAO-DIAS *et al.*, 2007).

Embora a sorologia não possa ser usada sozinha como teste para diagnóstico, poderia ser útil na indicação de pacientes para o tratamento paucibacilar ou multibacilar, nas previsões de recaída da doença e na identificação de grupos de risco para o desenvolvimento da doença (OSKAM; SLIM; BÜHRER-SÉKULA, 2013).

1.9.1 IgA

Produzidas principalmente pelas células B nas lâminas próprias dos tratos gastrointestinal e respiratório, o isotipo de imunoglobulina, IgA, pode ser secretada eficazmente através do epitélio mucoso sob a forma dimérica, mas pode ser encontrada também no soro sob a forma monomérica (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2007). Sua função está diretamente relacionada com a resposta imune em mucosas, onde é encontrada em grandes quantidades.

O *Mycobacterium leprae* utiliza as vias aéreas como a principal rota de entrada, estimulando possivelmente uma resposta imunológica nas mucosas respiratórias. Sendo a IgA secretória, o isotipo mais encontrado nas secreções externas, seguido de IgM, é comum a pesquisa de tais isótipos em amostras de saliva de pacientes em diversas patologias infecciosas. No entanto, é importante lembrar no que se refere à hanseníase, os mesmos não servem para o diagnóstico da doença (NAGAO-DIAS *et al.*, 2007). Na circulação sistêmica, a IgA constitui menos de um quarto dos anticorpos no plasma, sendo um componente secundário da imunidade humoral, se comparado a IgM e IgG (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2007). Em algumas doenças, IgA no soro tem sido largamente utilizada como auxílio no diagnóstico.

Na leptospirose humana, Silva e Camargo (1992) em um estudo utilizando o ELISA para detecção de anticorpos IgA no soro de pacientes obtiveram 100% de positividade em amostras de pacientes cujo intervalo de tempo para coleta foi de 10 a 16 dias após o início da manifestação da doença, resultado que sugeriu que anticorpos IgA podem ser marcadores evolutivos da progressão da doença.

Na toxoplasmose, cujo diagnóstico é feito pela detecção de anticorpos IgM e de IgG, a interpretação dos resultados sorológicos resultou em desafio porque os altos títulos de IgG se mostravam presentes em muitas pessoas, enquanto os títulos de IgM persistiam por meses e às vezes anos depois que já havia passado fase aguda da doença (TAKAHASHI; ROSSI, 1994). Dessa forma, os autores empregaram três técnicas imunológicas, onde em dois

tipos de ELISA, realizou-se a detecção de anticorpos séricos IgA anti- *Toxoplasma gondii*, tendo sido encontradas sensibilidade e especificidade diagnóstica acima de 90%. O trabalho mostrou que a detecção desses anticorpos era útil para o diagnóstico da fase aguda da doença.

Arcavi *et al.* (2005), em um relato de caso de um paciente com toxoplasmose ativa associada a poliomielite, concluíram que a detecção de anticorpos IgA anti- *T. gondii* na ausência de IgM foi importante para a realização do perfil sorológico, realçando a participação destes, além da detecção de IgG e IgM.

Na dengue acontece situação semelhante. A detecção de IgM foi empregada no diagnóstico onde pode ser detectada a partir do 4º dia dos sintomas e nos casos de dengue primária. No entanto, a interpretação deve ser cuidadosa, pois em alguns casos os títulos de IgM não são detectáveis, como no caso de dengue secundária (GUZMÁN; KOURI, 1996). No estudo de Vázquez *et al.* (2005), foram encontrados altos níveis de anticorpos IgA justamente em casos de infecção secundária da dengue. Os títulos de IgA surgem juntamente com os de IgM, mas por persistir por curto período, ao contrário de IgM, é considerada um auxílio no diagnóstico da fase aguda (TALARMIN *et al.*, 1998). Morais (2013) confirma a utilidade diagnóstica de IgA no estudo com 445 amostras de soro de pacientes tanto com dengue primária como secundária.

A partir de estudos como esses, o presente trabalho busca verificar a presença de anticorpos séricos IgA anti- PGL1 em pacientes com as diferentes formas clínicas da hanseníase e seus contatos menores de 15 anos. A descoberta de uma ferramenta diagnóstica na hanseníase é de grande valor para minimizar as dúvidas existentes em um diagnóstico essencialmente clínico, levando mais indivíduos a um tratamento correto, diminuindo a transmissibilidade, levando a um diagnóstico precoce e, portanto, diminuição de foco ativo na comunidade.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Avaliar a sorologia de IgA anti-PGL 1 em pacientes com hanseníase e contatos intradomiciliares e peridomiciliares.

2.2 Objetivos específicos

1. Determinar os parâmetros de sensibilidade diagnóstica dos testes para detecção de IgA, IgM e IgG anti-PGL 1 séricos em pacientes com as formas multibacilares e paucibacilares da hanseníase;
2. Analisar a correlação entre os isótipos analisados nos pacientes com hanseníase;
3. Analisar os títulos de IgA anti-PGL 1 em contatos de pacientes com as formas multibacilares e paucibacilares da hanseníase;
4. Analisar os títulos de IgA anti-PGL 1 séricos em contatos intradomiciliares e peridomiciliares menores de 15 anos dos municípios estudados.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 População e amostras

Trata-se de um estudo experimental realizado com amostras de soro de pacientes e seus contatos menores de 15 anos nas cidades de Rio Largo e Santana do Ipanema, Alagoas, que fazem parte de um projeto de doutorado, em andamento e intitulado: “Marcadores sorológicos e moleculares como parâmetros de risco para o desenvolvimento da hanseníase: estudo prospectivo - DECIT-CEAL” (MACEDO, 2015) aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (processo 532.850,18/02/2014) (ANEXO A).

No referido projeto foi realizado um levantamento dos casos de hanseníase notificados através do SINAN no período de 2009 a 2015. Em posse dessas informações, foi preenchido um formulário com os dados clínicos, demográficos dos casos índices e a relação dos contatos intra-domiciliares (ANEXO B) menores de 15 anos de idade. Os contatos peridomiciliares foram considerados os jovens abaixo de 15 anos de idade residentes na mesma rua do caso índice, cinco casas a direita ou cinco casa a esquerda. Os agentes comunitários de saúde e estudantes da pesquisa de Alagoas visitaram as residências dos casos índices e, após esclarecimento do trabalho e consentimento informado, os contatos abaixo de 15 anos de idade foram encaminhados para as unidades de saúde com finalidade da coleta de material.

A todos os participantes da pesquisa foi garantido o caráter sigiloso dos dados e o anonimato. O responsável da criança ou jovem foi convidado a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO C) e as crianças e jovens entre 8 e 15 anos de idade completos foram convidados a assinar o Termo de Assentimento (ANEXO D), conforme o Conselho Nacional de Saúde, através da Resolução 466/2012 e tiveram questionário preenchido pela equipe de acompanhamento (ANEXO E).

As amostras de sangue foram colhidas em tubo apropriado contendo ativador de coágulo. Foram centrifugadas durante 10 minutos a 1500 rpm para obtenção do soro, em seguida, as amostras de soro foram posteriormente armazenadas a -20°C.

O *n* obtido no projeto até o momento nos dois municípios foi de 51 pacientes e 226 contatos.

Para esse estudo foram incluídos somente os pacientes que tivessem na ficha preenchida, a informação a respeito da classificação clínica da hanseníase, e os contatos que tivessem a informação sobre a classificação clínica do caso índice e/ou a classificação

intraperidomiciliar ou peridomiciliar. Foram excluídos, portanto, 9 pacientes e nenhum contato.

Fizeram parte desse estudo 42 pacientes (idade média de 42,6 anos) e 226 contatos menores de 15 anos (idade média de 10,19 anos), sendo que 87 contatos não tinham a classificação clínica do caso índice MB/PB e apenas um não tinha a classificação PERI/INTRA.

Distinguindo pela classificação MB/PB foram identificados 22 pacientes MB e 20 pacientes PB e dentre os contatos que tinham a informação da classificação do caso índice (n=139), 110 são contatos de pacientes MB e 29 são contatos de pacientes PB. Para os contatos com classificação INTRA/PERI (n=225) foram identificados na cidade de Rio Largo, 22 contatos intradomiciliares e 45 contatos peridomiciliares. Na cidade de Santana do Ipanema, 88 contatos intradomiciliares e 70 contatos peridomiciliares.

Dezenove amostras de indivíduos que vivem em uma cidade com uma baixa incidência da hanseníase, São Paulo, que relataram nenhum contato com pacientes com hanseníase também foram incluídos no estudo (grupo controles não contatos). As amostras pertencem ao Laboratório de Imunologia da UFC, onde estavam devidamente armazenadas a -20°C. A cidade apresenta coeficiente de detecção em menores de 15 anos de 0,25 casos por 100.000 habitantes em 2014 (SÃO PAULO, 2015). Enquanto em Santana do Ipanema, no mesmo ano, esse valor foi de 6,91 por 100.000 habitantes (ALAGOAS, 2015).

3.2 Dosagem de anticorpos séricos IgA, IgM e IgG anti-PGL 1, por ensaio imunoenzimático (ELISA)

Os testes imunoenzimáticos para dosagem de IgA, IgM e IgG anti-PGL 1 no soro foram realizados no Laboratório de Imunologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará.

O antígeno glicolipídico fenólico (PGL-1), de *Mycobacterium leprae*, foi obtido por doação pelo Dr. John Spencer, Colorado State University, EUA.

O método imunoenzimático para dosagem de anticorpos IgA, IgM e IgG séricos anti-PGL 1 com conjugado marcado com peroxidase foi realizado no Laboratório de Imunologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, como descrito em NAGAO-DIAS *et al.* (2007), com algumas modificações.

3.3 Método de dosagem de anticorpos séricos IgA anti-PGL 1, por ensaio imunoenzimático (ELISA)

O antígeno PGL 1 foi diluído em etanol absoluto para concentração de 1mg/ml e conservada em geladeira. No dia do ensaio essa solução foi diluída novamente em etanol absoluto para a concentração de 5 μ g/mL e volumes de 50 μ L foram dispensados nos poços das colunas ímpares das placas de poliestireno (Costar, USA) e incubadas na estufa a 37°C por 2 horas. Passado esse tempo foi feita a etapa do bloqueio onde cada poço recebeu 100 μ L de solução salina tamponada com soro fetal bovino a 1% (PBS-SFB 1%), em seguida, as placas foram cobertas com papel alumínio e incubada em estufa a 37° C por 2 horas em câmara úmida.

Para a próxima etapa os controles negativos, controles positivos, soro humano normal e as amostras foram diluídas a 1:50 em PBS-SFB 1%.

Passadas duas horas do bloqueio e tendo desprezado a solução remanescente dos poços, foram aplicados os controles e amostras previamente diluídas. Cada poço recebeu 50 μ L das respectivas diluições de acordo com o mapa de amostras que estava sendo seguido no dia. Em seguida, as placas foram colocadas em estufa a 37°C por 2 horas em câmara úmida.

Para a etapa seguinte, o conjugado anti IgA (SIGMA A0295) marcado com peroxidase foi diluído a 1:1000 em PBS-SFB 1%.

Duas horas após aplicação das amostras as placas foram lavadas 5 vezes com 360 μ L de PBS-SFB 0,05% em cada poço. Em seguida foi aplicado 50 μ L de conjugado marcado com peroxidase em cada poço. As placas foram incubadas em estufa a 37°C por 1h30 min. Posteriormente, foi realizado novo ciclo de lavagens e em seguida cada poço recebeu 100 μ L de substrato ortofenilenodiamina (Sigma, USA) na concentração de 0,4 mg/mL em tampão citrato- fosfato, pH 5,0, e peróxido de hidrogênio na concentração final de 0,01%. Em seguida, a placa foi incubada em câmara úmida por 30 minutos. Ao final desse tempo, a reação foi interrompida com 25 μ L de ácido sulfúrico 2,5N e a leitura da placa feita em espectrofotômetro no filtro de 492nm. Uma amostra de soro *cut-off* (*pool* de soro humano normal, ou seja, um *pool* de 50 amostras de soro provenientes do banco de sangue HEMOCE, Ceará) foi aplicado em todos os testes (NAGAO-DIAS *et al.*, 2007). O índice de anticorpos foi calculado a partir da seguinte fórmula: (Média das absorbâncias das amostras - *blank*)/(média das absorbâncias do soro *cut-off* - *blank*). Foram considerados positivos índices acima de 1,3. *Blank* é um controle de inespecificidade, sendo que para cada amostra de soro foi realizado um *blank*, ou seja, poços revestidos com SFB 1% ao invés de PGL-1.

3.4 Método de dosagem de anticorpos séricos IgM e IgG anti-PGL 1, por ensaio imunoenzimático (ELISA)

A diluição do antígeno segue o mesmo processo realizado para dosagem de IgA. No dia do ensaio 50 μ L de PGL 1 foram dispensados nos poços das colunas ímpares das placas de poliestireno (Costar, USA) e incubadas na estufa a 37°C por 2 horas. Passado esse tempo, a etapa do bloqueio é feita com 100 μ L de solução salina tamponada com soro fetal bovino a 1% (PBS-SFB 1%), as placas foram cobertas com papel alumínio e incubada em estufa a 37° C por 2 horas em câmara úmida.

Para a etapa seguinte, os controles negativos, controles positivos, soro humano normal e as amostras foram diluídas a 1:200 em PBS-SFB 1%.

Passadas duas horas do bloqueio e tendo desprezado a solução remanescente dos poços, foi aplicado os controles e amostras diluídas anteriormente. Cada poço recebeu 50 μ L das respectivas diluições de acordo com o mapa de amostras que estava sendo seguido no dia. Em seguida as placas foram colocadas em estufa a 37°C por 2 horas em câmara úmida.

Para a próxima etapa os conjugados anti IgM (SIGMA A9794) e anti IgG (SIGMA A0170) marcados com peroxidase foram diluídos a 1:5.000 e 1:8000 respectivamente, em PBS-SFB 1%.

Duas horas após a aplicação das amostras, as placas foram lavadas 5 vezes com 400 μ L de PBS-SFB 0,05% em cada poço. Em seguida, foi aplicado 50 μ L de conjugado marcado com peroxidase em cada poço nas respectivas placas destinadas às dosagens de IgM e IgG. As placas foram incubadas em estufa a 37°C por 1h30min. Passado esse tempo, seguiu-se conforme descrito no item anterior para o desenvolvimento de cor. O cálculo dos índices foi realizado da mesma forma que para IgA- anti PGL1.

3.5 Análise estatística

O programa utilizado para análise estatística foi o GraphPad Prism 5. Os dados foram analisados através de testes não paramétricos, uma vez que os não seguiram uma distribuição normal (teste de Kolmogorov-Smirnov, $p < 0,0001$). O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para comparar os títulos de IgA entre contatos intradomiciliares e peridomiciliares nas cidades de Rio Largo e Santana do Ipanema. O teste de Mann Whitney foi utilizado para comparar os títulos de IgA entre pacientes multibacilares e pacientes paucibacilares e para comparar os títulos de IgA entre os pacientes e contatos. O teste de correlação de Spearman

foi utilizado para comparar os títulos de IgA, IgM e IgG nos pacientes. O nível de significância estatística foi considerado como sendo 0,05.

4. RESULTADOS

4.1 Anticorpos IgA, IgM e IgG anti-PGL 1 em amostras de soro de pacientes com hanseníase

Os títulos de IgM, IgG e IgA anti-PGL 1 foram positivos em 29 (69%), 8 (19%) e 18 (42,85%) das amostras dos 42 pacientes, respectivamente, independentemente de sua forma clínica,. A tabela 1 apresenta a frequência de positividade nos títulos de anticorpos séricos IgG, IgM e IgA anti-PGL 1 de acordo com a forma clínica da hanseníase.

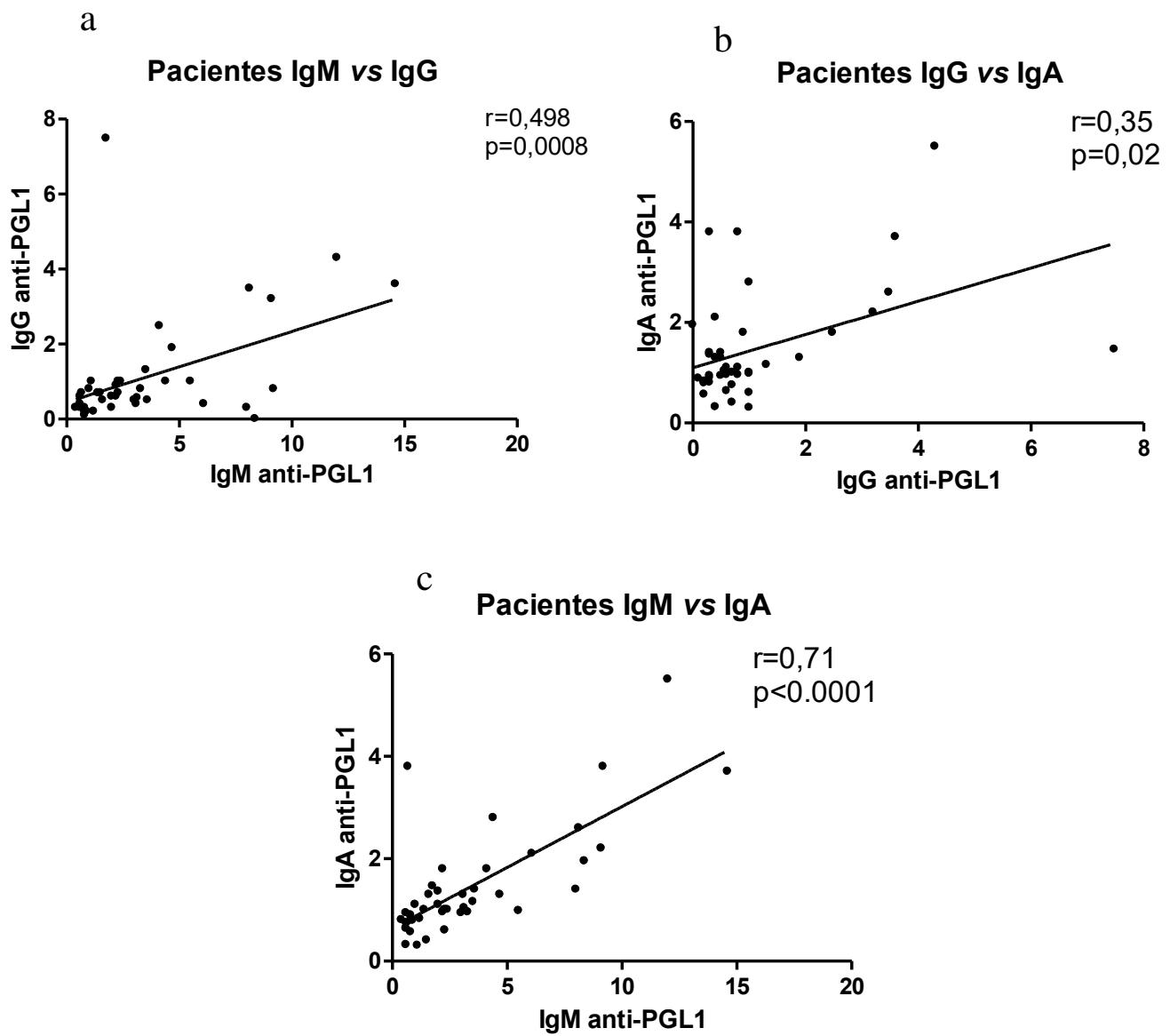
Tabela 1 – Frequência de positividade e valor da sensibilidade diagnóstica para o teste de determinação dos níveis de anticorpos séricos IgA, IgM e IgG anti-PGL1 em pacientes com hanseníase (n=42). SD: Sensibilidade diagnóstica.

Anticorpos séricos anti-PGL1						
	IgM		IgG		IgA	
Formas	n	SD (%)	n	SD (%)	n	SD (%)
Formas	12	60,0	5	25,0	8	40,0
Paucibacilares						
(n=20)						
Formas	17	77,2	3	13,6	10	45,4
Multibacilares						
(n=22)						
Total (n=42)	29	69	8	19	18	42,8

4.2. Correlação entre os isótipos de anticorpos séricos anti-PGL1

As figuras 10a, b, c mostram as correlações entre IgM e IgG ($r=0,498$, $p=0,0008$), IgG e IgA ($r=0,35$, $p=0,02$) e entre IgM e IgA ($r=0,71$, $p<0,0001$). Como é possível verificar, houve uma excelente correlação entre IgM e IgA anti-PGL1.

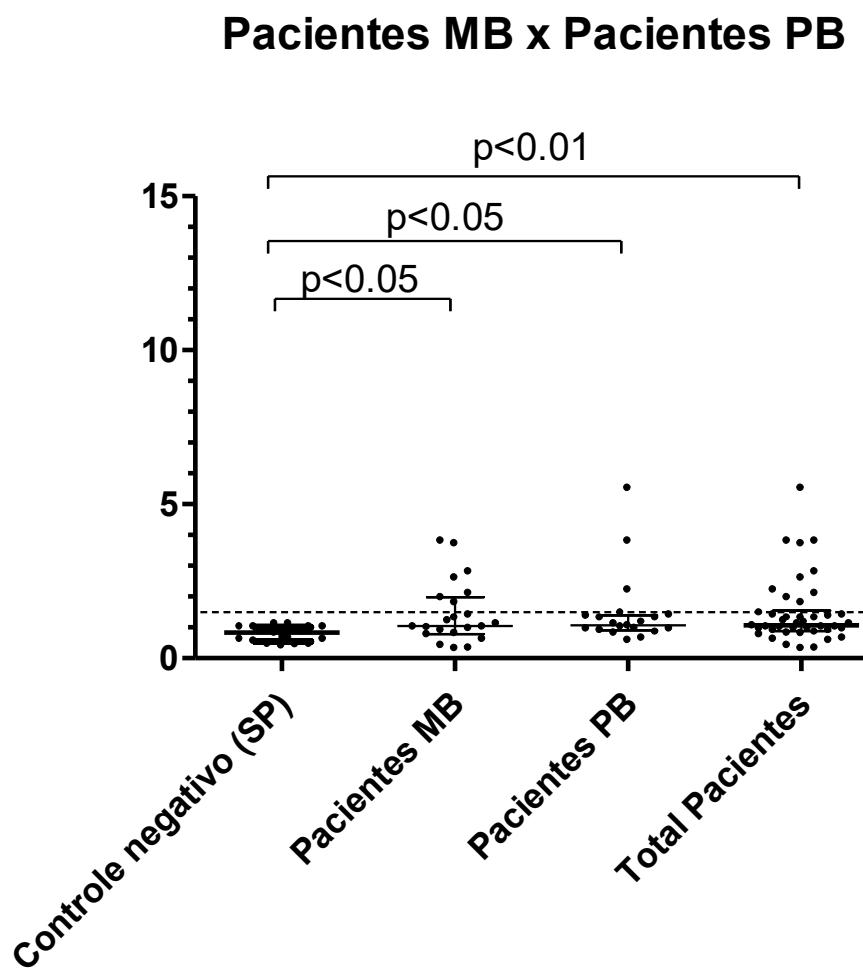
Figura 10 - Correlação entre os isótipos de anticorpos séricos anti-PGL1 na amostra de soro de 42 pacientes.



4.3 Comparação dos valores séricos de IgA anti-PGL1 entre pacientes e controles não contatos

O grupo dos controles não contatos foram testados quanto aos títulos séricos de IgA anti-PGL1 e comparados com os valores encontrados nos pacientes. Não houve qualquer positividade do isotipo estudado. Quando comparados aos valores dos pacientes (figura 11), houve diferença estatisticamente significante em ambas as formas clínicas ($p<0,05$).

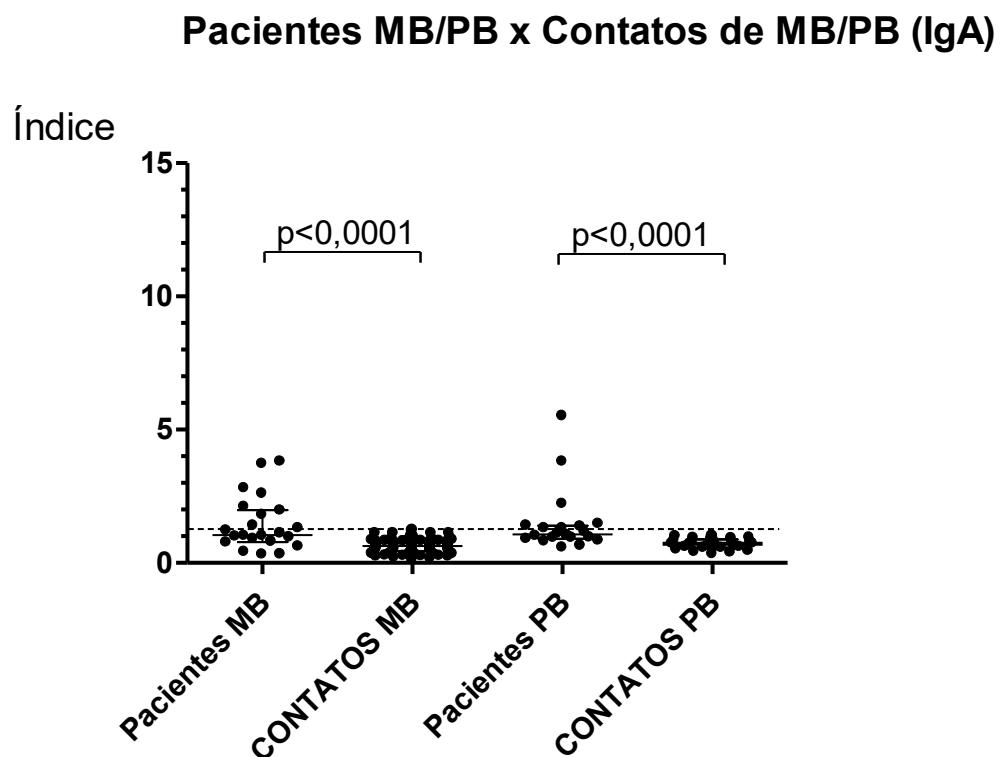
Figura 11 – Distribuição dos valores de IgA anti-PGL 1 no soro em pacientes MB (n=22) e pacientes PB (n=20). A linha pontilhada indica o valor do *cut-off*.



4.4 Anticorpos IgA anti-PGL 1 no soro de pacientes e contatos de acordo com a classificação operacional do caso índice

A figura 12 apresenta a distribuição dos valores de IgA anti PGL 1 no soro, em pacientes separando-os por MB/ PB (n=42) e em contatos de pacientes MB/PB (n=139). Todos os títulos de IgA anti-PGL 1 no soro dos dois grupos de contatos foram abaixo do valor de corte. Importante significância estatística é observada entre os pacientes MB e os contatos de pacientes MB ($p<0,0001$) assim como entre pacientes PB e os contatos de pacientes PB ($p<0,0001$).

Figura 12 – Distribuição dos valores de IgA anti-PGL 1 no soro de pacientes multibacilares (n=22), pacientes paucibacilares (n=20) e de contatos de pacientes multibacilares (n=110) e de contatos de pacientes paucibacilares (n=29). A linha pontilhada indica o valor do *cut-off*.

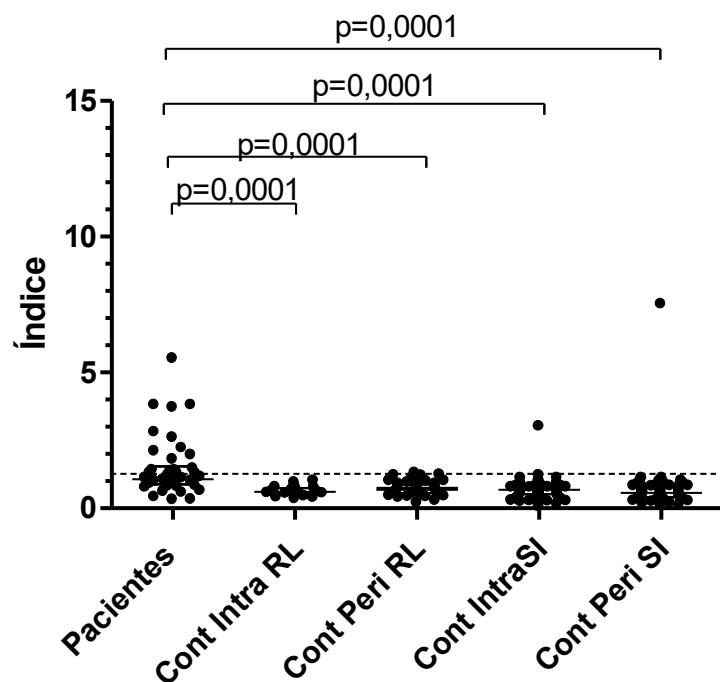


4.5 Anticorpos IgA anti-PGL 1 no soro de contatos intra e peridomiciliares

A figura 13 apresenta a distribuição dos valores de IgA anti-PGL 1 no soro de contatos, separados por intradomiciliares e peridomiciliares e por cidade, Rio Largo e Santana do Ipanema. Houve significância estatística, com $p=0,0001$ entre os títulos de IgA anti-PGL 1 nos pacientes e todos os grupos de contatos.

Figura 13 - Distribuição dos valores de IgA anti-PGL 1 no soro de contatos intradomiciliares de Rio Largo (n=22) e Santana do Ipanema (n=88) e de contatos peridomiciliares de Rio Largo (n=45) e Santana do Ipanema (n=70). A linha pontilhada indica o valor do *cut-off*.

Pacientes x Contatos Peri x Intra (IgA)



5 DISCUSSÃO

A análise de anticorpos IgA no soro de pacientes com hanseníase e contatos está relacionada com o importante papel desse isotipo desempenhado quando se olha para estudos sorológicos e diagnósticos em outras doenças infecciosas. As implicações decorrentes de um diagnóstico essencialmente clínico tornam a procura de ferramenta diagnóstica de grande importância. Não foram encontradas na literatura, até o momento, estudos com anticorpos IgA anti-PGL 1 séricos na hanseníase.

No presente estudo, IgA anti-PGL1 sérica apresentou sensibilidade diagnóstica total de 42,85% em pacientes com hanseníase. A positividade nos títulos de anticorpos IgA no soro foi aproximada nos dois grupos, multibacilares (45,4%) e paucibacilares (40%), sendo um pouco maior no primeiro. No geral, IgM e IgA apresentaram uma boa sensibilidade diagnóstica, enquanto para IgG foi muito baixa.

Comparado aos demais isotipos, IgM foi o que apresentou melhor positividade, com uma sensibilidade diagnóstica de 77,2% na forma multibacilar e de 60,0% na forma paucibacilar, totalizando 69,04% de positividade. Este dado é compatível com o observado no estudo de Lobato *et al.* (2011), por exemplo, cujo valor foi de 68,83%. A percentagem maior em pacientes multibacilares que em paucibacilares também pode ser encontrada em Barreto *et al.* (2011) com 40,6% e 30,8%, respectivamente. Embora essa alta sensibilidade diagnóstica do isotipo IgM seja esperado e este seja apontado como principal parâmetro sorológico, este sofre forte influência de falsa positividade (LOBATO *et al.*, 2011; CABRAL *et al.*, 2013; BARRETO *et al.*, 2011). Falso-positivo é relatado também em estudos sorológicos de outras doenças, como na toxoplasmose (ARANTES, 2008). Então, não é possível afirmar que todos os que positivam em IgM realmente estejam com hanseníase, sendo necessário um outro parâmetro. A concordância de positividade entre IgM e IgA anti-PGL 1 se deu em 40,5% dos pacientes (n=42), enquanto a concordância entre IgM e IgG, por exemplo, foi de 19,04%. A excelente correlação entre IgM e IgA ($r=0,71$, $p<0,0001$), torna interessante a possibilidade de IgA ser útil como ferramenta diagnóstica.

Comparada ao grupo controle de não contatos, que não teve nenhuma positividade, IgA anti-PGL 1 apresentou significância estatística ($p<0,05$) para os dois grupos de pacientes divididos pela classificação MB/PB.

Na análise feita com os contatos separados por cidade e entre intradomiciliares e peridomiciliares, observa-se que duas amostras de soro de contatos em Santana do Ipanema, um intra e outro peri, foram bem acima da linha de corte. Essa alta positividade deve ser

investigada, portanto, é importante que esses contatos sejam acompanhados para avaliação do risco de desenvolver a doença. Essa positividade pode estar relacionada com a alta endemicidade do município: o coeficiente de detecção em menores de 15 anos na cidade de Santana do Ipanema, em 2015 foi de 34,53 casos por 100.000 habitantes, enquanto na cidade de Rio Largo foi de 15,11 casos por 100.000 habitantes (ALAGOAS, 2015). Não houve diferença estatística entre os títulos de contatos intradomiciliares e contatos peridomiciliares nas duas cidades.

A frequência de positividade para IgA anti-PGL 1em contatos que tinham a classificação PERI/INTRA foi de 0,89%, que diz respeito aos dois contatos que estão infectados, mas que não necessariamente desenvolverão a doença, portanto, reforça-se a importância do acompanhamento.

6 CONCLUSÃO

A sensibilidade diagnóstica para detecção de IgA, IgM e IgG anti-PGL 1 em pacientes multibacilares, foram de 45,4%, 77,2% e 13,6%, respectivamente. Em pacientes paucibacilares, na mesma sequência, esses valores foram de 40%, 60% e 25%.

Na análise de correlação entre os isotipos no soro de paciente, IgM e IgG, apresentou $r=0,498$ e $p=0,0008$; IgG e IgA, $r=0,35$ e $p=0,02$ e IgM e IgA, $r=0,71$ e $p<0,0001$, sendo este último o melhor resultado.

Dos contatos que tinham a informação da classificação MB/PB do caso índice ($n=139$) não foi encontrada nenhuma positividade para IgA anti-PGL 1 e houve significâncias estatísticas importantes entre os pacientes MB e os contatos de pacientes MB ($p<0,0001$) e entre pacientes PB e os contatos de pacientes PB ($p<0,0001$).

Dos contatos que tinham a informação classificando como peridomiciliar ou intradomiciliar em relação ao caso índice ($=225$) foram encontradas duas amostras positivas. Houve significância estatística, com $p=0,0001$ entre os títulos de IgA anti-PGL 1 nos pacientes e todos os grupos de contatos divididos entre peri e intra e por cidade.

Recomenda-se o acompanhamento dos contatos que apresentaram positividade para IgA anti-PGL 1 e mais estudos que estudem IgA anti-PGL 1 como ferramenta diagnóstica na hanseníase.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p. 345-360.
- ALAGOAS. Secretaria de Estado da Saúde. **Sesau realiza campanha contra Hanseníase em Alagoas**. 22 de jan. 2015. Disponível em: <<http://www.saude.al.gov.br/noticias/view/621>> Acesso em: 15 dez. 2015.
- ALVES, E. D.; LEONEL FERREIRA, T.; NERY FERREIRA, I. **Hanseníase avanços e desafios**. Brasília: Nesprom, 2014. 492 p.
- ARANTES, C. Z. K. Interferência de reações cruzadas do diagnóstico da toxoplasmose. **Academia de ciência e tecnologia**; São Paulo, v. 2, n. 3, 2008.
- ARCAVI, M.; TROIELLI, P.; PIZZIMENTI, M. C.; GRIEMBERG, G. Importancia de los anticuerpos IgA específicos en el diagnóstico de toxoplasmosis activa asociada con polimiositis/dermatomiositis. **Medicina (B. Aires)**, v. 65, n. 2, p. 183-184, 2005.
- BARRETO, J. G.; GUIMARÃES. L.S.; LEÃO, M. R.; FERREIRA, D. V.; LIMA, R. A.; SALGADO, C. G. *et al.* Anti-PGL-I seroepidemiology in leprosy cases: household contacts and school children from a hyperendemic municipality of the Brazilian Amazon. **Lepr. Rev.**, v. 82, n. 4, p. 358–370, 2011.
- BRASIL. Lei 9.010 de 29 de março de 1995. Dispõe sobre a terminologia oficial relativa à hanseníase e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 de mar. 1995. Disponível em: <http://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/1995/lei-9010-29-marco-1995-348623-norma-pl.html>. Acesso em: 24 de dez. 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Descrição da doença**. 2014. Disponível em: <www.portal.saude.gov.br> Acesso em: 19 abr. 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas da Saúde. **Controle da hanseníase na atenção básica**. Brasília, 2001. (Série A. Normas e Manuais Técnicos, n. 111).
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico**, vol 44, n. 11, 2013. Disponível em: <<http://portalsauda.saude.gov.br/index.php/publicacoes-svs>> Acesso em: 17 de out. 2015. 84 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de procedimentos técnicos. Baciloscopia em hanseníase**. Brasília, 2010. 54p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia para o controle da hanseníase**. Brasília. 2002. (Série A. Normas e Manuais Técnicos, n. 111).
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Exercício de monitoramento da eliminação da**

hanseníase no Brasil – LEM – 2012. Brasília, 2015. 72 p. Disponível em: <http://editora.saude.gov.br/>. Acesso em: 10 abr. 2015.

BRASIL. Portaria 3.125 de 7 de outubro de 2010. Aprova as Diretrizes para Vigilância, Atenção e Controle da Hanseníase. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 15 de outubro de 2010. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2010/prt3125_07_10_2010.html. Acesso em: 8 jan. 2016.

BRENNAN, P. J.; BARROW, W. W. Evidence for species-specific lipid antigens in *Mycobacterium leprae*. **Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.**, v. 48, n. 4, p. 382-387, 1980.

CABRAL, P. B. *et al.* Anti-PGL1 salivary IgA/IgM, serum IgG/IgM, and nasal *Mycobacterium leprae* DNA in individuals with household contact with leprosy. **Int. J. Inf. Dis.**, v. 17, n. 11, p. e1005-e1010, 2013.

CEARÁ. Secretaria da Saúde. **Informe epidemiológico hanseníase**. Agosto de 2014. Disponível em: <http://www.saude.ce.gov.br/index.php/boletins>. Acesso em: 13 dez. 2015.

CHEN, X. S.; LI, W. Z.; JIANG, C.; YE, G. Y. Leprosy in children: a retrospective study in China, 1986-1997. **J. Trop. Pediatr.**, v. 46, p. 207–211, 2000.

CHO, S. *et al.* Detection of phenolic glycolipid-I antigen and antibody in sera from new and relapsed lepromatous patients treated with various drug regimens. **Int. J. Lepr.**, v. 59, n. 1, p. 25-31, 1991.

COSTA, R. D.; COSTA M. D.; COSTA, A. M. D. Imunologia da Hanseníase. In: LYON, S.; GROSSI M. A. F. **Hanseníase**. Rio de Janeiro: MedBook, 2013. Cap. 10, p. 71-78.

CUNHA, A. Z. S.. Hanseníase: aspectos da evolução do diagnóstico, tratamento e controle. **Ciênc. Saúde Coletiva**, v. 7, p. 235–242, 2002.

DOUGLAS, J. T. *et al.* Prospective study of serological conversion as a risk factor for development of leprosy among household contacts. **Clin. Diag. Lab. Immunol.**, v. 11, n. 5, p. 897-900, 2004.

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

FERREIRA, I. N. **Hanseníase em menores de quinze anos no município de Paracatu-Minas Gerais (1994 a 2001)**. 2003. Tese (Doutorado). Brasília: UNB, 2003.

FLEURY, R. N. Patologia da neurite hansônica. In: DUERKSEN, F.; VIRMOND, M. **Cirurgia reparadora e reabilitação em hanseníase**. Bauru: ALM Internacional. Centro de Estudos Dr. Reinaldo Quagliato, Instituto Lauro de Souza Lima, 1997, p. 69-73.

FOSS, N. T. Aspectos imunológicos da hanseníase. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 30, n. 3, p. 335-339, set. 1997.

- GAYLORD, H.; BRENNAN, P. J. Leprosy and the leprosy bacillus: recent developments in characterization of antigens and immunology of the disease. *Ann. Rev. Microbiol.*, v. 41, n. 1, p. 645-675, 1987.
- GOULART, I. M. B.; PENNA, G. O.; CUNHA, G. Imunopatologia da hanseníase: a complexidade dos mecanismos da resposta imune do hospedeiro ao *Mycobacterium leprae*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 35, n. 4, p. 363-375, 2002.
- GUZMÁN, M. G.; KOURI, G. Advances in dengue diagnosis. *Clin. Diag. Lab. Immunol.*, v. 3, n. 6, p. 621-627, 1996.
- LIMA, Z. M. M. **Leprosários cearenses:** entre a caridade, o estado e a ciência (1928-1942). In: CONGRESSO LUSO AFRO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS, 11., Salvador. 2011.
- LYON, S. Manifestações cutâneas da hanseníase. In: LYON, S.; GROSSI M. A. F. **Hanseníase**. Rio de Janeiro: MedBook, 2013. cap. 16, p. 139-141.
- LOBATO, J. *et al.* Comparison of three immunological tests for leprosy diagnosis and detection of subclinical infection. *Lepr. Rev.*, v. 82, n. 4, p. 389-401, 2011.
- LOCKWOOD D. N. J.; SARNO E.; SMITH, W. C. Classifying leprosy patients-searching for the perfect solution? *Lepr. Rev.*, v. 78, p. 317-320, 2007.
- MACHADO, P. R. L.; ARAÚJO, M. I. A. S.; CARVALHO, L.; CARVALHO, E. M. Mecanismo de resposta imune às infecções. *An. Bas. Dermatol.*, v. 79, n. 6, p. 647-664, 2004.
- MARTINS, A. C. C.; *et al.* Nasal mucosa study of leprosy contacts with positive serology for the phenolic glycolipid 1 antigen. *Braz. J. Otorhinolaryngol.*, v. 76, n. 5, p. 579-587, 2010.
- MORAIS, V. M. S. **Dosagem da IgA sérica por ELISA de captura para o diagnóstico de dengue**. Dissertação (Mestrado). Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2013.
- NAGAO-DIAS, A. T. *et al.* Salivary anti-PGL IgM and IgA titers and serum antibody IgG titers and avidities in leprosy patients and their correlation with time of infection and antigen exposure. *Braz. J. Infect. Dis.*, v. 11, n. 2, p. 215-219, 2007.
- NG, V. *et al.* Role of the cell wall phenolic glycolipid-1 in the peripheral nerve predilection of *Mycobacterium leprae*. *Cell*, v. 103, n.3, p. 511-524, 2000.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Estratégia global aprimorada para redução adicional da carga da hanseníase 2011-2015:** diretrizes operacionais (atualizadas). Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, 2010. 70 p. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/estrategia_global_aprimorada_reducao_hansenias_e.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2015.
- OPROMOLLA, D. V. A. Terapêutica da hanseníase. *Medicina (Ribeirão Preto)*. v. 30, n.3, p. 345-350, 1997.

OPROMOLLA, D. V. A.; URA, S. **Atlas de hanseníase**. Bauru: Instituto Lauro de Souza, 2002. 80 p.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. Resolução CD49.R19/2009. Eliminação de doenças negligenciadas e outras infecções relacionadas à pobreza [monografia na internet]. Washington, DC: Paho; 2009. Disponível em: <http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_docman&task=doc_details&gid=900&Itemid=614> Acesso em: 03 de fev. 2016.

OSKAM, L.; SLIM, E.; BÜHRER-SÉKULA, S. Serology: recent developments, strengths, limitations and prospects: a state of the art overview. **Lepr. Rev.**, v. 74, n. 3, p. 196-205, 2003.

QUEIROZ, M. S.; PUNTEL, M. A. Um pouco de história da hanseníase. In: _____. A endemia hansônica: uma perspectiva multidisciplinar [online]. Rio de Janeiro: Ed. FIOCRUZ, 1997. p. 25.

RODRIGUES JÚNIOR, I. A.; GRESTA, L. T. Testes de sensibilidade cutânea. In: LYON, S.; GROSSI M. A. F. **Hanseníase**. Rio de Janeiro: MedBook, 2013. cap. 11, p. 83-93.

SÃO PAULO. Programa Estadual de controle da hanseníase. **Situação Epidemiológica Atual da Hanseníase Estado de São Paulo**. Reunião de avaliação das ações de controle da Hanseníase - 2015. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hans/hans_dados.html> Acesso em: 18 de jan. 2016.

SARUBI, J. A.; MARCELO JÚNIOR, H. B. Baciloscopy. In: LYON, S.; GROSSI M. A. F. **Hanseníase**. Rio de Janeiro: MedBook, 2013. Cap. 13 p. 105-115.

SARUBI, J. C.; SHIBUYA, M. D. Neuropatia na hanseníase. In: LYON, S.; GROSSI M. A. F. **Hanseníase**. Rio de Janeiro: MedBook, 2013. cap. 17, p. 143-158.

SCOLLARD, D. M. *et al.* The continuing challenges of leprosy. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 19, n. 2, p. 338–381, 2006.

SILVA, M. V.; CAMARGO, E. D. Teste imunoenzimático (ELISA) para detecção de anticorpos circulantes da classe IgA na leptospirose humana. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 34, n. 3, p. 239–242, 1992.

SILVA, R. C. Tratamento da Hanseníase. In: LYON, S.; GROSSI M. A. F. **Hanseníase**. Rio de Janeiro: MedBook, 2013. Cap. 123, p. 199-206.

SKINSNES, O. K. Immuno-pathology of leprosy: the century in review. Pathology, pathogenesis and the development of classification. **Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.**, v. 41, n. 3, p. 329-60, 1973.

SPENCER, J. S.; BRENNAN, P. J. The role of *Mycobacterium leprae* phenolic glycolipid I (PGL-I) in serodiagnosis and in the pathogenesis of leprosy. **Lepr. Rev.**, v. 82, n. 4, p. 344, 2011.

- TAKAHASHI, E. E.; ROSSI, C. L. Use of three immunological techniques for the detection of Toxoplasma sp. IgA antibodies in acute toxoplasmosis. **J. Clin. Pathol.**, v. 47, n. 12, p. 1101-1104, 1994.
- TALARMIN, A.; LABEAU, B, LELARGE, J, SARTHOU, J. L. Immunoglobulin A-specific capture enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of dengue fever. **J. Clin. Microbiol.**, v. 36, n. 5, p. 1189–1192, 1998.
- TALHARI, C.; TALHARI, S.; PENNA, G. O. Clinical aspects of leprosy. **Clin. Dermatol.**, v. 33, n. 1, p. 26-37, 2015.
- VAN BEERS, S. M.; DE WIT, M. Y.; KLATSER, P. R. The epidemiology of *Mycobacterium leprae*: recent insight. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 136, n. 3, p. 221-230, 1996.
- VÁZQUEZ, S. *et al.* Serological markers during dengue 3 primary and secondary infections. **J. Clin. Virol.** v. 33, n. 2, p. 132–137, 2005.
- VERRECK, F. A. W. *et al.* Human IL-23- producing type 1 macrophages promote but IL-10-producing type 2 macrophages subvert immunity to (myco) bacteria. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**, v. 101, n. 3, p. 4560-4565, 2004.
- WALKER, S. L.; LOCKWOOD D. N. J. Leprosy. **Clin. Dermatol.**, v. 25, n. 2, p.165-172, 2007.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Weekly Epidemiol. Record**, v. 90, n. 36, p. 461-476, 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/wer>>. Acesso em: 21 set. 2015.

ANEXO A – PARECER APROVADO PELA COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA E PESQUISA

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ / PROPESSQ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Detecção precoce de casos de hanseníase entre jovens abaixo de 15 anos de idade residentes em municípios de Alagoas e Itaitinga, CE.

Pesquisador: Aparecida Tiemi Nagao Dias

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 11709213.9.0000.5054

Instituição Proponente: Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 532.850

Data da Relatoria: 18/02/2014

Apresentação do Projeto:

o presente projeto visa realizar um estudo prospectivo a partir de contatos abaixo de 15 anos de idade, durante dois anos a partir do ingresso no projeto, com objetivo de se associar os parâmetros imunológicos e/ou moleculares com o risco de desenvolvimento da doença. A escolha dos municípios foi feita com base em apoio técnico e logístico oferecido pelos serviços de saúde locais.

Objetivo da Pesquisa:

Geral: Avaliar o risco de aquisição da doença entre contatos de portadores de hanseníase abaixo de 15 anos de idade através de parâmetros clínicos, imunológicos e moleculares diagnosticados nos últimos três anos em municípios de Alagoas e em Itaitinga, CE.

Especificos: Avaliar o perfil clínico e demográfico dos casos de hanseníase nos municípios diagnosticados nos últimos três anos nos municípios; Realizar exame dermató-neurológico nos contatos intradomiciliares abaixo de 15 anos de idade dos casos identificados; Avaliar a frequência de positividade de anticorpos séricos IgA, IgG e IgM anti-PGL1 entre os contatos e casos índices; Avaliar a frequência de positividade de anticorpos salivares IgA e IgM anti-PGL1 entre os contatos e casos índices; Avaliar a frequência de positividade de DNA de Mycobacterium leprae em amostras de swab nasal e de sangue dos contatos e casos índices; Avaliar a presença de

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-270

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

Fax: (85)3223-2903

E-mail: comepe@ufc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPESSQ



Continuação do Parecer: 532.850

positividade para M. lepromatosis nas amostras positivas de PCR; Realizar seguimento clínico-laboratorial anual dos contatos durante dois anos; Associar os parâmetros laboratoriais com o desenvolvimento da doença.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Risco: desconforto das coletas de sangue da mucosa nasal.

Benefício: Os testes realizados poderão avaliar o risco de aquisição da doença entre os contatos de portadores de hanseníase.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo prospectivo de coorte em um período de seguimento de dois anos após o ingresso no estudo com contatos de portadores de hanseníase com as formas clínicas paucibacilar ou multibacilar abaixo de 15 anos de idade notificados nos últimos três anos, cujos responsáveis consintam em que participem do estudo. Foram selecionados os municípios onde as equipes estarão devidamente capacitadas para realizar exames dermatológico (com objetivo de se realizar busca ativa de hanseníase entre os contatos intradomiciliares abaixo de 15 anos de idade). Dentro desses critérios, foram eleitas quatro cidades em Alagoas, ou seja, Rio Largo, Santana de Ipanema, Arapiraca, onde o grau de endemicidade é considerado alto ou hiperendêmico e uma cidade no Ceará, Itaitinga (hiperendêmico).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados adequadamente: carta de encaminhamento, folha de rosto, currículo do pesquisador, anuência dos pesquisadores, cronograma, orçamento, anuência dos municípios, refez O TCLE e termo de assentimento.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não se aplica.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço:	Rua Cel. Nunes de Melo, 1127	CEP:	60.430-270
Bairro:	Rodolfo Teófilo	Município:	FORTALEZA
UF:	CE	Telefone:	(85)3366-8344
		Fax:	(85)3223-2903
		E-mail:	comepe@ufc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPESSQ



Continuação do Parecer: 532.850

FORTALEZA, 18 de Fevereiro de 2014

Assinador por:
FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA
(Coordenador)

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127 **CEP:** 60.430-270
Bairro: Rodolfo Teófilo **UF:** CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8344 **Fax:** (85)3223-2903 **E-mail:** comepe@ufc.br

ANEXO B – QUESTIONÁRIO DESTINADO AOS CASOS DE HANSENÍASE

	UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLOGÍCAS UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS FACULDADE DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA 																																																								
Associação de parâmetros imunológicos e moleculares em sangue e secreções para detecção precoce de casos de hanseníase entre contatos abaixo de 15 anos de idade residentes em municípios de Alagoas e Itaitinga, CE.																																																									
QUESTIONÁRIO DOS PARTICIPANTES																																																									
Local da Pesquisa: _____ Data da coleta/entrevista: _____ Entrevistador: _____ PACIENTE FONTE: Local do acompanhamento terapêutico: _____ N° registro do posto: _____ Nome: _____ Idade: _____ Sexo: _____ Endereço: _____ Bairro: _____ Cidade: _____ Tel de contato: _____ Forma clínica atual da doença: _____ IB: _____ Quando foi diagnosticada? _____ Está em tratamento? _____ Quando iniciou? _____ Tempo de duração do tratamento: _____ Já teve Hanseníase antes? Sim: _____ (Forma clínica: _____ Duração do tratamento: _____) Não: _____																																																									
CONTATOS: <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 25%;">Nome</th> <th style="width: 10%;">Idade</th> <th style="width: 10%;">Sexo</th> <th style="width: 20%;">Parentesco</th> <th style="width: 15%;">Reside junto?</th> <th style="width: 15%;">Frequência do contato</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 20%;">Foi vacinado com a BCG?</th> <th style="width: 20%;">Tem a cicatriz vacinal?</th> <th style="width: 20%;">Quando recebeu a vacina?</th> <th style="width: 20%;">Faz reforço da BCG?</th> <th style="width: 20%;">O posto fez ou pediu algum teste e/ou exame clínico? (BK, EC, BCG)*</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table>			Nome	Idade	Sexo	Parentesco	Reside junto?	Frequência do contato																									Foi vacinado com a BCG?	Tem a cicatriz vacinal?	Quando recebeu a vacina?	Faz reforço da BCG?	O posto fez ou pediu algum teste e/ou exame clínico? (BK, EC, BCG)*																				
Nome	Idade	Sexo	Parentesco	Reside junto?	Frequência do contato																																																				
Foi vacinado com a BCG?	Tem a cicatriz vacinal?	Quando recebeu a vacina?	Faz reforço da BCG?	O posto fez ou pediu algum teste e/ou exame clínico? (BK, EC, BCG)*																																																					
*BK - baciloscopa																																																									

ANEXO C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

	UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS FACULDADE DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA	
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido		
<p>Eu, _____, aceito que _____, sob minha responsabilidade, participe da pesquisa Associação de parâmetros imunológicos e moleculares em sangue e secreções para detecção precoce de casos de hanseníase entre contatos abaixo de 15 anos de idade residentes em municípios de Alagoas e Itaitinga, CE, sobre análise de anticorpos no sangue e na saliva contra a bactéria causadora da hanseníase e verificar se ela está presente nas narinas e no sangue. Esta análise será realizada uma vez por ano durante 3 anos. Este estudo é importante para quem mora com uma pessoa que tem hanseníase e vai ser importante para ver se ele (a) tem risco de desenvolver a doença. Aceito também responder a um questionário relacionado a ele (a), nossos familiares e ao paciente com quem moramos. Estou de acordo que no momento da coleta, ele (a) seja examinado (a) para se verificar se não tem nenhuma mancha suspeita. Serão coletados saliva (1 mL), sangue (2 tubos com 3 mL cada), e uma amostra das mucosas das narinas. A amostra das narinas será coletada com um cotonete e ele (a) poderá sentir um leve desconforto no momento da coleta. Na coleta de sangue, ele (a) poderá sentir uma leve dor por causa da picada da agulha. Todos os procedimentos serão realizados por pessoas capacitadas.</p> <p>Caso algum resultado esteja alterado, ele (a) será encaminhado (a) para o posto de saúde.</p> <p>I. Quais os benefícios e riscos que terei se eu aceitar que ele (a) participe do estudo?</p> <p>Como benefício, ele (a) terá oportunidade de ser acompanhado (a) durante 3 anos clínica e laboratorialmente para avaliar se ele (a) adquiriu ou não a doença. Com isto, ele (a) poderá ajudar outras pessoas que se encontram nas mesmas condições do que ele (a). Durante o estudo, iremos provar se os testes laboratoriais ajudam ou não a detectar precocemente a doença.</p> <p>Riscos da realização dos testes: Não há riscos, apenas o desconforto na hora da coleta do material.</p> <p>II. Quando ele (a) não pode participar do estudo?</p> <p>Não há contra-indicações para ele (a) participar do estudo</p> <p>Nós, pesquisadores, garantimos que:</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Os resultados obtidos durante este estudo serão divulgados sob a forma de relatórios, resumos, publicações científicas e o grupo de pesquisa não divulgará a identidade dos participantes. ❖ Os dados dos participantes serão mantidos sob sigilo. No final da pesquisa ou mesmo durante a pesquisa, caso seja necessário, os participantes poderão ter acesso aos resultados individuais. ❖ É garantida a liberdade da retirada do consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento à Instituição. ❖ É garantido o direito de se manter atualizado sobre resultados parciais da pesquisa, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam de conhecimento dos pesquisadores. 		

❖ Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames laboratoriais. Não há compensação financeira relacionada à sua participação.

❖ Você é livre para decidir se participará ou não. Se você não quiser participar não vai ter nenhum problema e você continuará seu acompanhamento na sua Unidade de Saúde do mesmo modo. Se você aceitar participar, você poderá voltar atrás e desistir de realizar as coletas das amostras sequenciais a qualquer momento.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim sobre o estudo acima. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordei voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

COM QUEM DEVO FALAR SE EU TIVER DÚVIDAS?

Caso tenha perguntas ou dúvidas gerais sobre esta pesquisa ou quaisquer queixas relacionadas à pesquisa, você poderá falar com a coordenadora do projeto (Profª Aparecida Tiemi Nagao-Dias, telefone 85-3366.8270 ou 85-86733891, Universidade Federal do Ceará – Rua Capitão Francisco Pedro, 1210) ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC através do telefone 85-3366.8344.

Cidade		Data da assinatura do termo	
Nome do responsável			

		Impressão digital do responsável
Assinatura da pessoa que aplicou o termo	Assinatura de aceitação do responsável	

ANEXO D – TERMO DE ASSENTIMENTO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM

DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

FACULDADE DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA



Termo de Assentimento para Sujeitos de 08 a 15 anos de idade completos

Título do estudo: Associação de parâmetros imunológicos e moleculares em sangue e secreções para detecção precoce de casos de hanseníase entre contatos abaixo de 15 anos de idade residentes em municípios de Alagoas e Itaitinga, CE.

Eu, _____, aceito participar da pesquisa sobre análise de anticorpos no sangue e na saliva contra a bactéria causadora da hanseníase e verificar se ela está presente nas narinas e no sangue. Esta análise será realizada uma vez por ano durante 3 anos. Este estudo é importante para quem mora com uma pessoa que tem hanseníase e vai ser importante para ver se tenho risco de desenvolver a doença. Meus responsáveis já estão informados sobre o conteúdo da pesquisa. Aceito também responder a um questionário relacionado a mim, meus familiares e ao paciente com quem moro. Estou de acordo que no momento da coleta, eu seja examinado para se verificar se não tenho nenhuma mancha suspeita. Serão coletados saliva (1 mL), sangue (2 tubos com 3 mL cada), e uma amostra das mucosas das narinas. A amostra das narinas será coletada com um cotonete e poderei sentir um leve desconforto no momento da coleta. Na coleta de sangue, poderei sentir uma leve dor por causa da picada da agulha. Todos os procedimentos serão realizados por pessoas capacitadas.

Caso algum resultado esteja alterado, você será encaminhado para o posto de saúde.

I. Quais os benefícios e riscos que terei se eu aceitar participar do estudo?

Como benefício, você terá oportunidade de ser acompanhado durante 3 anos clínica e laboratorialmente para avaliar se você adquiriu ou não a doença. Com isto, você poderá ajudar outras pessoas que se encontram nas mesmas condições do que você. Durante o estudo, iremos provar se os testes laboratoriais ajudam ou não a detectar precocemente a doença.

Riscos da realização dos testes: Não há riscos, apenas o desconforto na hora da coleta do material.

II. Quando não posso participar do estudo?

Não há contra-indicações para você participar do estudo

Nós, pesquisadores, garantimos que:

- ❖ Os resultados obtidos durante este estudo serão divulgados sob a forma de relatórios, resumos, publicações científicas e o grupo de pesquisa não divulgará a identidade dos participantes.
- ❖ Os dados dos participantes serão mantidos sob sigilo. No final da pesquisa ou mesmo durante a pesquisa, caso seja necessário, os participantes poderão ter acesso aos resultados individuais.
- ❖ É garantida a liberdade da retirada do consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento à Instituição.
- ❖ É garantido o direito de se manter atualizado sobre resultados parciais da pesquisa, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam de conhecimento dos pesquisadores.

❖ Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames laboratoriais. Não há compensação financeira relacionada à sua participação.

❖ Você é livre para decidir se participará ou não. Se você não quiser participar não vai ter nenhum problema e você continuará seu acompanhamento na sua Unidade de Saúde do mesmo modo. Se você aceitar participar, você poderá voltar atrás e desistir de realizar as coletas das amostras sequenciais a qualquer momento.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim sobre o estudo acima. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordei voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

COM QUEM DEVO FALAR SE EU TIVER DÚVIDAS?

Caso tenha perguntas ou dúvidas gerais sobre esta pesquisa ou quaisquer queixas relacionadas à pesquisa, você poderá falar com a coordenadora do projeto (Profª Aparecida Tiemi Nagao-Dias, telefone 85-3366.8270 ou 85-86733891, Universidade Federal do Ceará – Rua Capitão Francisco Pedro, 1210) ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC através do telefone 85-3366.8344.

Cidade		Data do preenchimento	
Nome do participante			
			Impressão digital do participante
Assinatura de aceitação do participante			
Assinatura da pessoa que aplicou o termo	Assinatura de aceitação do responsável		

ANEXO E – QUESTIONÁRIO DESTINADO AOS CONTATOS DE HANSENÍASE



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA



Nº de identificação do participante

Questionário destinado ao Contato:

DADOS CADASTRAIS

1. Município:	(). Santana do Ipanema			(). Rio Largo			(). Arapiraca			(). Itaitinga			
2. Local de preenchimento do questionário (Unidade de Saúde):													
3. Nome completo do Contato:													
4. R.G.:				5. Data de nascimento	dd	mm	aaaa	6. Sexo:	(). Masc.	(). Fem.			
7. Nome completo da mãe:													
8. Nome completo do pai:													
9. Logradouro (Rua, Avenida, Travessa, Praça, Rodovia):													
10. Nome do logradouro:								11. Número:					
12. Complemento (Quadra, Lote, Apto)					13. Bairro:								
14. Cidade:					15. Estado:		16. CEP:						
17. Tel 1:	DDD	Número	20. Há quanto tempo mora neste endereço?										
18. Tel 2:	DDD	Número	21. Morou em outra cidade nos últimos 10 anos?						(). SIM	(). NÃO			
19. Tel 3:	DDD	Número	22. Nome da cidade que morou:										
23. Situação civil	(). Solteiro		(). Casado		(). Separado		(). Divorciado		(). Viúvo		(). União consensual		
24. Qual o curso mais elevado que concluiu?	25. Qual a situação trabalhista no momento?				26. A renda familiar é aproximadamente?								
(). Alfabetização	(). Desempregado				(). Menos que 1 salário mínimo								
(). Fundamental incompleto	(). Emprego formal				(). De 1 a 2 salários								
(). Fundamental completo	(). Emprego informal				(). De 2 a 4 salários								
(). Ensino Médio incompleto	(). Afastado / Licença Saúde				(). De 4 a 6 salários								
(). Ensino Médio completo	(). Estudante				(). Mais que 6 salários								
(). Universidade concluída	(). Empregador				(). Não tem renda								
(). Pós-graduação concluída	(). Aposentado / Pensionista				(). Não sabe informar								
(). Não alfabetizado	27. Profissão:												

Nº de identificação do participante			
28. Qual situação do lugar onde mora? <input type="checkbox"/> () Alugado <input type="checkbox"/> () Casa própria <input type="checkbox"/> () Abrigo <input type="checkbox"/> () Sem teto <input type="checkbox"/> () Cedida		29. A sua residência tem água encanada? <input type="checkbox"/> () SIM <input type="checkbox"/> () NÃO	31. A sua residência tem quantos cômodos? (não considerar banheiro como cômodo) <input type="checkbox"/> () SIM <input type="checkbox"/> () NÃO <input type="checkbox"/> () NÃO SABE INFORMAR
30. O esgoto da sua residência é? <input type="checkbox"/> () Fossa <input type="checkbox"/> () Céu aberto <input type="checkbox"/> () Rede pública		32. Na sua residência, alguém teve ou tem hanseníase? <input type="checkbox"/> () SIM <input type="checkbox"/> () NÃO <input type="checkbox"/> () NÃO SABE INFORMAR	
34. Qual a tua proximidade com o caso de hanseníase? <input type="checkbox"/> () Filho <input type="checkbox"/> () Esposo (a) <input type="checkbox"/> () Irmão (ã) <input type="checkbox"/> () Avô (á) <input type="checkbox"/> () Tio (a) <input type="checkbox"/> () Pai <input type="checkbox"/> () Mãe <input type="checkbox"/> () Cunhado (a) <input type="checkbox"/> () Sobrinho (a) <input type="checkbox"/> () Outro:		35. Qual a frequência desse contato com o caso de hanseníase? <input type="checkbox"/> () Diária <input type="checkbox"/> () Semanal <input type="checkbox"/> () Mensal <input type="checkbox"/> () Não sabe informar	36. Tem alguma doença? <input type="checkbox"/> () SIM <input type="checkbox"/> () NÃO <input type="checkbox"/> () NÃO SABE INFORMAR
			37. Qual doença? <input type="checkbox"/> () Diabetes <input type="checkbox"/> () Reumáticas <input type="checkbox"/> () Cardiovasculares <input type="checkbox"/> () Gastrointestinais
		38. Existem sinais ou sintomas da hanseníase em seu corpo? (manchas, caroços, dormência, obstrução nasal).	<input type="checkbox"/> () SIM <input type="checkbox"/> () NÃO <input type="checkbox"/> () NÃO SABE INFORMAR
		40. Existem lesões de pele sugestivas?	<input type="checkbox"/> () SIM <input type="checkbox"/> () NÃO
			41. Quantas?
42. Qual o aspecto das lesões?		43. Existe alteração da sensibilidade térmica?	44. Existe alteração da sensibilidade tátil?
<input type="checkbox"/> () Mancha hipocrônica (lesão esbranquiçada sem relevo) <input type="checkbox"/> () Mancha hiperocrônica (lesão com diversas tonalidades de castanho sem relevo) <input type="checkbox"/> () Placa hipocrônica (lesão de pele elevada esbranquiçada medindo mais de 2 cm de diâmetro) <input type="checkbox"/> () Placa hiperocrônica (lesão de pele elevada com diversas tonalidades de castanho edinido mais de 2 cm de diâmetro)		<input type="checkbox"/> () SIM <input type="checkbox"/> () NÃO <input type="checkbox"/> () Não conclusivo <input type="checkbox"/> () Não avaliada	<input type="checkbox"/> () SIM <input type="checkbox"/> () NÃO <input type="checkbox"/> () Não conclusivo <input type="checkbox"/> () Não avaliada
			45. Existe alteração da sensibilidade dolorosa?
<input type="checkbox"/> () Pápula (pequena elevação superficial menor que 1 cm) <input type="checkbox"/> () Nódulo (lesão palpável medindo de 1 a 3 cm) <input type="checkbox"/> () Infiltração difusa (reservar para os casos de MHV)			<input type="checkbox"/> () SIM <input type="checkbox"/> () NÃO <input type="checkbox"/> () Não avaliado
48. Apresenta cicatriz da BCG? <input type="checkbox"/> () SIM <input type="checkbox"/> () NÃO		49. Quantas? <input type="checkbox"/> () 1 <input type="checkbox"/> () 2	50. O contato de hanseníase se confirma um caso de MH? <input type="checkbox"/> () MHI <input type="checkbox"/> () MHT <input type="checkbox"/> () MHBT <input type="checkbox"/> () MHBB <input type="checkbox"/> () MHBV <input type="checkbox"/> () MHV <input type="checkbox"/> () Não classificada
51. Qual seria a classificação clínica segundo Ridley-Joppling? <input type="checkbox"/> () Indeterminada			
52. Qual a classificação clínica segundo Madri? <input type="checkbox"/> () Data da coleta			<input type="checkbox"/> () Tuberculóide <input type="checkbox"/> () Dimorfa <input type="checkbox"/> () Virchowiana <input type="checkbox"/> () Não classificada
53. Classificação Operacional da Doença: <input type="checkbox"/> () Paucibacilar			<input type="checkbox"/> () Multibacilar
54. Qual(is) amostra(s) foi(ram) colhido(s)? <input type="checkbox"/> () Sangue com EDTA <input type="checkbox"/> () Sangue sem anticoagulante <input type="checkbox"/> () Saliva <input type="checkbox"/> () Swab nasal			
dd	mm	aaaa	
Entrevistador			
dd	mm	aaaa	

Entrevistador	dd	mm	aaaa