



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
MESTRADO EM PATOLOGIA

VITÓRIA RÉGIA MAGALHÃES SOLON

ESTUDO DAS SUBPOPULAÇÕES LINFOCITÁRIAS EM SANGUE PERIFÉRICO
DE PACIENTES COM HANSENÍASE

FORTALEZA
2012

VITÓRIA RÉGIA MAGALHÃES SOLON

ESTUDO DAS SUBPOPULAÇÕES LINFOCITÁRIAS EM SANGUE PERIFÉRICO
DE PACIENTES COM HANSENÍASE

Dissertação submetida ao curso de Pós-graduação em Patologia do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Patologia. Área de concentração: Patologia Tropical.

Orientador:
Prof. Dr. Max Victor Carioca Freitas

Co-orientador:
Prof. Dr. José Ajax Nogueira Queiroz

FORTALEZA
2012

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

S674s Solon, Vitória Régia Magalhães
Subpopulações linfocitárias em sangue periférico de pacientes com hanseníase. /
Vitória Régia Magalhães Solon.-- 2012.
75f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de
Medicina. Curso de Pós-Graduação em Patologia, Fortaleza, 2012.
Área de Concentração: Patologia Tropical
Orientação: Prof. Dr. Max Victor Carioca Freitas.

1. Hanseníase. 2. Citometria de fluxo. 3. Linfócitos. 4. Células matadoras
naturais. I. Título

CDD: 616.998

VITÓRIA RÉGIA MAGALHÃES SOLON

ESTUDO DAS SUBPOPULAÇÕES LINFOCITÁRIAS EM SANGUE PERIFÉRICO
DE PACIENTES COM HANSENÍASE

Dissertação submetida ao curso de Pós-graduação em Patologia do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Patologia. Área de concentração: Patologia Tropical.

Aprovado em: 15/ 05/ 2012

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Max Victor Carioca Freitas (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a. Maria da Silva Pitombeira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Manoel Ricardo Alves Martins
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a. Maria Jânia Teixeira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos protagonistas deste trabalho: vítimas de hanseníase, que sofrem até encontrarem atendimento, diagnóstico e, principalmente, cura, mas que se imolam, diariamente, sem redenção social, na guerra mais longa da história da humanidade.

A todos os professores de quem tive a honra de ser aluna os quais me fizeram entender a importância do conhecimento como ferramenta para realizar sonhos e conquistar o mundo.

Aos meus pais, meus primeiros e mais importantes professores, pelo amparo amor e incentivo.

Às minhas sobrinhas, Lívia e Giovanna, com todo carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelas oportunidades que me foram dadas na vida, fundamentais para o meu aprendizado.

Aos meus pais Marlene e Félix Solon, por me terem dado condições de me tornar a profissional e pessoa que sou.

À minha querida irmã Sheyla, por estar sempre tão presente socorrendo-me em tudo que lhe é possível, às vezes no impossível, e, também, ao meu cunhado Franzé pela consideração.

Ao meu irmão Régis, “fonte de informação”, a quem sempre consulto nas minhas dificuldades.

Ao meu irmão Gladson e cunhada Lucyara, pelo apoio e carinho.

Ao Alencar, pelo companheirismo, incentivo e torcida por minha vitória.

À minha grande e estimada amiga, Doutora Alana Montenegro, por sempre me acompanhar, de perto, contribuindo, com presteza e carinho, para minha formação pessoal e sucesso profissional.

Ao professor e grande exemplo de profissional, Doutor Max Victor Carioca Freitas, pela simplicidade em resolver as adversidades, por todas as correções e palavras necessárias no momento exato.

Ao professor Doutor José Ajax Queiroz, por ter contribuído na construção do conhecimento e no desenvolvimento deste trabalho.

À Doutora Vânia Barreto, pelo carinho e incentivo na construção da minha formação acadêmica.

À Doutora Zélia Petrola, exemplo de seriedade profissional, pelo apoio, motivação e por acreditar em minha capacidade de realização.

Ao HEMOCE, na pessoa da Doutora Luciana Maria de Barros Carlos, que tornou possível a realização deste sonho - o mestrado.

À Divisão de Ensino e Pesquisa, pelo incentivo e por compreender os meus momentos de ausência.

À Criobiologia pela consideração, apoio e colaboração durante esta caminhada.

À Coordenação do Mestrado em Patologia, pela acolhida e apoio.

Aos professores do Mestrado, responsáveis pela construção do saber. Agradeço, em especial, ao professor, Doutor Talapala Naidu com quem tive a satisfação e oportunidade de conviver, mais uma vez, como mestre e amigo cuja figura humana, com experiência e simplicidade, mostrou-nos a Imunologia como uma ciência agradável e fascinante.

Aos professores, Doutores Fernando Schemelzer e Jânia Teixeira pelas contribuições tão valiosas na qualificação deste trabalho.

À Doutora Helena Pitombeira, por todas as palavras de sabedoria, delicadeza e por seu esmero científico.

Ao Doutor Manoel Ricardo Martins, pela disponibilidade em participar da banca examinadora.

Aos profissionais, em especial, do Centro de Dermatologia D. Libânia (CDerm): Mikaelly, Marymar, Amanda, D. Eliane, César, Márcia, Marina, D. Ilma, Doutores Heitor Gonçalves, Araci Pontes, Delaide Lourenço, Irismar Silveira, Suziane Franco e demais profissionais que contribuíram para a construção deste trabalho.

À Fabíola Fernandes e à Kélvia Miranda, do Laboratório de Imunofenotipagem da UFC, que me ajudaram na realização das análises dos marcadores celulares.

À Bárbara Xavier Montezuma, com quem tive a satisfação de estudar e de ser parceira no trabalho de pesquisa.

À Lívia Coelho, Gustavo Dantas e Jean Souza, por me acompanharem, incansavelmente, às visitas infinitas ao Centro de Dermatologia D. Libânia.

Aos Doutores Maria Juracy Solon, Herene Lucena, Josualdo Alves Jr. e Ana Paula S. do Carmo pelas inferências que contribuíram para a conclusão deste trabalho.

À professora Giselda de Medeiros, pela minuciosa revisão gramatical.

À bibliotecária Norma Linhares, pelo auxílio na formatação e revisão bibliográfica.

Ao colega Fernando Henrique Azevedo, pela disponibilidade e colaboração na formatação deste trabalho.

A todos os demais que, de alguma forma, nos auxiliaram nesta caminhada.

Aproximou-se dele um leproso, suplicando-lhe de joelhos: “Se queres, podes limpar-me”. Jesus compadeceu-se dele, estendeu a mão, tocou-o e lhe disse: “Eu quero, sê curado” (Mc 1, 40-41).

RESUMO

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae*, um bacilo álcool-ácido resistente. Tem alta infectividade, porém baixa patogenicidade, e quando se manifesta, apresenta-se sob uma grande diversidade de formas clínicas. Essa diversidade depende, em grande parte, da resposta imunológica do hospedeiro, sendo os linfócitos, em sua plasticidade, componentes essenciais no desenvolvimento da imunidade. Assim, este trabalho teve como objetivo descrever as subpopulações linfocitárias: linfócitos T totais (CD3⁺), T auxiliares (CD4⁺), T citotóxicos (CD8⁺), T CD4⁺CD8⁺, B (CD19⁺), *Natural killers*-NK (CD3⁻ CD16⁺ CD56⁺) e T *Natural killers* - NKT (CD3⁺ CD16⁺ CD56⁺) no sangue periférico de pacientes portadores de hanseníase, antes e após uso da multidrogaterapia. Os pacientes foram selecionados no Centro de Dermatologia D. Libânia, Fortaleza-CE, Brasil. A determinação de linfócitos em cada subpopulação foi realizada por citometria de fluxo e análise estatística pelo programa GraphPad Prism 5.0 para *Windows*. A significância foi estabelecida para valores de $p < 0,05$. Um total de 133 amostras foram utilizadas para as comparações, sendo 79 (59,4%) do gênero masculino e 54 (40,6%) do gênero feminino. A mediana da idade dos pacientes foi de 43 anos no grupo pré-tratamento e de 46 anos no pós-tratamento. Nove pacientes foram incluídos na forma paucibacilar e 124, na multibacilar. As medianas das contagens (células/mm³) de linfócitos NK (CD3⁻CD16⁺ CD56⁺) nos grupos antes e após tratamento foram 142,0 [15,0–463,0] e 189,5 [18,0 – 1037,0], respectivamente ($p=0,0484$), enquanto não houve diferenças quando foram comparados os grupos pauci e multibacilar. As contagens de linfócitos T totais (CD3⁺), T auxiliares (CD4⁺), T citotóxicos (CD8⁺), T (CD4⁺CD8⁺), B (CD19⁺), e NKT (CD3⁺CD16⁺CD56⁺) mantiveram-se inalteradas nos grupos antes e pós-tratamento, assim como nos grupos pauci e multibacilar. Em conclusão, os resultados deste estudo apontam para uma redução na população de células NK (CD3⁻CD16⁺CD56⁺) em indivíduos com hanseníase antes de qualquer intervenção terapêutica. Após o tratamento, há uma recuperação na contagem desta população celular.

Palavras-chave: Hanseníase, Citometria de fluxo, Linfócitos, Células matadoras naturais

ABSTRACT

Leprosy is a chronic infectious disease caused by the *Mycobacterium leprae*, a resistant alcohol-acid bacillus. It has a high infectivity, although the pathogenicity is low. Clinical manifestations present a great diversity. Host immune response is an important determinant of this clinical diversity, whilst lymphocytes collaborate to it. Thus, the present study aimed to describe lymphocyte subpopulations: T lymphocytes (CD3⁺), T helper lymphocytes (CD4⁺), T cytotoxic (CD8⁺), T CD4⁺CD8⁺, B (CD19⁺), Natural killers-NK (CD3⁻ CD16⁺ CD56⁺) and T Natural killers - NKT (CD3⁺ CD16⁺ CD56⁺) in peripheral blood samples from patients with leprosy, before and after the treatment with multidrugtherapy. Patients were selected at the Dona Libania Dermatology Center, at Fortaleza-CE, Brazil. The determination in each subpopulation of lymphocytes was done by flow-cytometer and statistical analysis by GraphPad Prism 5.0 for Windows. Significance was established at p values of <0.05. A total of 133 samples were studied, while 79 (59,4%) were males and 54 (40,6%) females. Median age of patients was 43 years old for the group before treatment and 46 years old for the group after treatment. Nine patients presented with paucibacillary and 124 with multibacillary form. NK (CD3⁻CD16⁺ CD56⁺) lymphocytes medians (cells/mm³) were 142.0 [15,0–463,0] and 189,5 [18,0 – 1037,0], respectively for the groups before and after treatment, with a p value of 0.0484. On the other hand, no differences were observed when pauci and multibacillary groups were compared. T lymphocytes (CD3⁺), T helper lymphocytes (CD4⁺), T cytotoxic lymphocytes (CD8⁺), T (CD4⁺CD8⁺), B lymphocytes (CD19⁺) and NKT lymphocytes (CD3⁺CD16⁺CD56⁺) were similar at the groups before and after treatment and also at pauci and multibacillary. In conclusion, data from this study shows a reduction at NK lymphocytes (CD3⁻CD16⁺CD56⁺) populations in leprosy before any therapeutical intervention. After leprosy treatment, a recovery of this cell population occurs.

Key-words: Leprosy, Flow cytometry, Lymphocytes, Killer cells natural

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

a.C.	Antes de Cristo
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ADCC	Citotoxicidade celular dependente de anticorpo
AP's	Áreas particulares
APC	Aloficocianina
BB	Entre as duas formas, dimorfo, do inglês: " <i>borderline-borderline</i> "
BCG	Bacilo Calmett-Guérin
BCRs	Receptores de células B
BL	Dimorfo-lepromatoso ou dimorfo-virchowiano, do inglês: " <i>borderline-lepromatoso</i> "
BT	Dimorfo-tuberculoide, do inglês: " <i>borderline-tuberculóide</i> "
BV	Dimorfo-virchowiano ou dimorfo-lepromatoso,, do inglês: " <i>borderline-virchowiano</i> "
CDerm	Centro de Dermatologia D. Libânia
CD3⁺	Linfócito T totais, do inglês: " <i>Cluster of differentiation</i> " 3
CD4⁺	Linfócito T auxiliar, do inglês: " <i>Cluster of differentiation</i> " 4
CD8⁺	Linfócito T citotóxico, do inglês: " <i>Cluster of differentiation</i> " 8
CD 16⁺	Do inglês: " <i>Cluster of differentiation</i> " 16
CD 16^{bright}	Do inglês: " <i>Cluster of differentiation</i> " 16 de forte expressão
CD 19⁺	Linfócito B, do inglês: " <i>Cluster of differentiation</i> " 19
CD 40	Do ingles: " <i>Cluster of differentiation</i> " 40
CD 40L	Do ingles: " <i>Cluster of differentiation</i> " 40 ligante
CD 45⁺	Do inglês: " <i>Cluster of differentiation</i> " 45
CD 56⁺	Do inglês: " <i>Cluster of differentiation</i> " 56
CD 56^{dim}	Do inglês: " <i>Cluster of differentiation</i> " 56 de fraca expressão
CMI	Imunidade mediada por células
DCs	Células dendríticas do inglês: " <i>dendritic cells</i> "
EDTA	Ácido Etilenodiamino-tetracético
ENL	Eritema nodoso hansênico, do inglês: " <i>Erythema nodosum leprosum</i> "
Fc	Fragmento Fc da imunoglobulina
FITC	Isotiocianato de fluoresceína

HIV	Vírus da imunodeficiência humana, do inglês: " <i>Human immunodeficiency vírus</i> "
I	Forma indeterminada
IFN-γ	Interferon gama
IgG	Imunoglobulina G
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 12
LL	Forma lepromatosa, virchowiana
LT α	Linfotoxina α
LT β	Linfotoxina β
LTC	Linfócito T citotóxico
MB	Multibacilar
MCP-1	Proteína quimioatrativa de monócitos 1 α do inglês " <i>monocytes chemoattractive protein 1 α</i> "
MDT	Multidrogaterapia
MHC I	Complexo maior de histocompatibilidade, classe 1 do inglês: " <i>major histocompatibility complex class 1</i> "
MHC II	Complexo maior de histocompatibilidade, classe 2 do inglês: " <i>major histocompatibility complex class 2</i> "
<i>M. leprae</i>	<i>Mycobacterium leprae</i>
NK	Linfócitos <i>natural killer</i>
NKT	Linfócitos T <i>natural killer</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PB	Paucibacilar
PE	Ficoeritrina
PBMCs	Células mononucleares do sangue periférico, do inglês: " <i>Peripheral blood mononuclear cells</i> "
PerCP	Proteína piridina clorofila
PDGFBB	Fator de crescimento derivado da plaqueta BB, do inglês: " <i>platelet-derived growth factor BB</i> "
PMN	Polimorfonuclear
PRR	Receptores de reconhecimento de padrões
PQT	Poliquimioterapia

sIL-6R	Receptor solúvel da interleucina 6
SAME	Serviço de Arquivo Médico e Estatístico
SER's	Secretarias Executivas Regionais
SINAN	Sistema de Notificação de Agravos de Informação
SSC	Dispersão lateral, do inglês: " <i>side scatter</i> "
SUS	Sistema Único de Saúde
TCR	Receptor de célula T , do inglês: " <i>T-cell receptor</i> "
Th1	Linfócitos T auxiliares 1, do inglês: " <i>T helper 1</i> "
Th2	Linfócitos T auxiliares 2, do inglês: " <i>T helper 2</i> "
TNF- α	Fator de necrose tumoral- α , do inglês: " <i>Tumor necrosis factor- α</i> "
TLRs	Do inglês: receptores " <i>Toll-like receptors</i> ".
TT	Forma tuberculoide
VV	Forma virchowiana, lepromatosa

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Bairros e regionais de Fortaleza	20
Figura 2 – Estratégia de <i>gating</i> para determinação das subpopulações linfocitárias: linfócitos T totais, T citotóxicos e T auxiliares.....	31
Figura 3 – Estratégia de <i>gating</i> para determinação de subpopulações linfocitárias NKT, NK e B.....	32
Gráfico 1 – Faixa etária dos pacientes com hanseníase atendidos no CDerm no período de janeiro a outubro de 2011 incluídos no estudo	34
Gráfico 2 – Distribuição geográfica por SER de Fortaleza dos pacientes atendidos no CDerm no período de janeiro a outubro de 2011 incluídos no estudo.....	35
Gráfico 3 – Forma clínica (Ridley- Jopling) dos pacientes portadores de hanseníase atendidos no CDerm, no período de janeiro a outubro de 2011 incluídos no estudo.	36
Gráfico 4 – Medianas dos valores da contagem de linfócitos T CD3 ⁺ em pacientes antes (n=19) e após tratamento (n=114) de hanseníase	37
Gráfico 5 – Medianas dos valores da contagem de linfócitos T CD4 ⁺ em pacientes antes (n=19) e após tratamento (n=114) de hanseníase	38
Gráfico 6 – Medianas dos valores da contagem de linfócitos T CD8 ⁺ em pacientes antes (n=19) e após tratamento (n=114) de hanseníase.....	39
Gráfico 7 – Mediana dos valores da contagem de linfócitos T CD4 ⁺ CD8 ⁺ em pacientes antes (n=19) e após tratamento (n=114) de hanseníase	40
Gráfico 8 – Medianas dos valores da contagem de linfócitos B CD19 ⁺ em pacientes antes (n=19) e após tratamento (n=114) de hanseníase	41
Gráfico 9 – Medianas dos valores da contagem de linfócitos NK (CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) em pacientes antes (n=19) e após tratamento (n=114) de hanseníase	42

Gráfico 10 – Medianas dos valores da contagem de linfócitos NKT CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ em pacientes antes (n=19) e após tratamento (n=114) de hanseníase.....	43
Gráfico 11 – Medianas dos valores da contagem de linfócitos T CD3 ⁺ em pacientes portadores de hanseníase nas formas pauci (n= 9) e multibacilar (n=124)	44
Gráfico 12 – Medianas dos valores da contagem de linfócitos T CD4 ⁺ em pacientes portadores de hanseníase nas formas pauci (n= 9) e multibacilar (n=124).....	45
Gráfico 13 – Medianas dos valores da contagem de linfócitos T CD8 ⁺ em pacientes portadores de hanseníase nas formas pauci (n= 9) e multibacilar (n=124).....	46
Gráfico 14 – Mediana dos valores da contagem de linfócitos T CD4 ⁺ CD8 ⁺ em pacientes portadores de hanseníase nas formas pauci (n= 9) e multibacilar (n=124).....	47
Gráfico 15 – Medianas dos valores da contagem de linfócitos B CD19 ⁺ em pacientes com hanseníase nas formas pauci (n= 9) e multibacilar (n=124).....	48
Gráfico 16 – Medianas dos valores da contagem de linfócitos NK (CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) em pacientes portadores de hanseníase nas formas pauci (n= 9) e multibacilar (n=124).....	49
Gráfico 17 – Medianas dos valores da contagem de linfócitos NKT CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ em pacientes portadores de hanseníase nas formas pauci (n= 9) e multibacilar (n=124).....	50

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	O envolvimento do sistema imunológico na hanseníase	21
1.2	Tratamento	26
1.3	Citometria de fluxo	26
2	OBJETIVOS	28
2.1	 Gerais	28
2.2	 Específicos	28
3	MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1	 Desenho do estudo	29
3.2	 Pacientes	29
3.2.1	<i> Critérios de inclusão</i>	29
3.2.2	<i> Critérios de exclusão</i>	29
3.3	 Aspectos éticos	29
3.4	 Coletas das amostras de sangue periférico	30
3.5	 Análise estatística	33
4	RESULTADOS	34
4.1	 Dados sociodemográficos	34
4.2	 Formas clínicas	36
4.3	 Contagem de subpopulações linfocitárias antes e após tratamento	37
4.3.1	<i> Linfócitos T (CD3⁺)</i>	37
4.3.2	<i> Linfócitos T auxiliares (CD4⁺)</i>	38
4.3.3	<i> Linfócitos T citotóxicos (CD8⁺)</i>	39
4.3.4	<i> Linfócitos T (CD4⁺ CD8⁺)</i>	40
4.3.5	<i> Linfócitos B (CD19⁺)</i>	41
4.3.6	<i> Linfócitos NK (CD3⁻ CD16⁺ CD56⁺)</i>	42
4.3.7	<i> Linfócitos NKT (CD3⁺ CD16⁺ CD56⁺)</i>	43
4.4	 Contagem de subpopulações linfocitárias nas formas clínicas paucibacilar e multibacilar	44
4.4.1	<i> Linfócitos T (CD3⁺)</i>	44
4.4.2	<i> Linfócitos T auxiliares (CD4⁺)</i>	45

4.4.3	<i>Linfócitos T citotóxicos (CD8⁺)</i>	46
4.4.4	<i>Linfócitos T (CD4⁺ CD8⁺)</i>	47
4.4.5	<i>Linfócitos B (CD19⁺)</i>	48
4.4.6	<i>Linfócitos NK (CD3⁻ CD16⁺ CD56⁺)</i>	49
4.4.7	<i>Linfócitos NKT (CD3⁺ CD16⁺ CD56⁺)</i>	50
5	DISCUSSÃO	51
6	CONCLUSÃO	55
	REFERÊNCIAS	56
	APÊNDICES	63
	ANEXOS	75

1 INTRODUÇÃO

O termo “lepra” foi citado, pela primeira vez, na Bíblia, em *Exodus 4:6*, escrito em 1657 a.C.. É uma das mais antigas doenças que acomete o homem. Questiona-se a origem da doença, se na Ásia ou África (EIDT, 2004). Foi, durante muito tempo, uma doença que marginalizava seus portadores e cujo tratamento era baseado no isolamento compulsório do doente. Os estudos sobre a hanseníase surgiram em meados de 1800 com os trabalhos pioneiros de Daniel Danielssen, que acreditava ser uma doença hereditária (TAN; GRAHAM, 2008). Armauer Hansen, médico norueguês, a partir de seus achados histopatológicos, caracterizou a hanseníase como uma doença infecciosa. Em 1873, foi evidenciada a presença de microrganismos em tubérculos hansênicos, posteriormente denominados *Mycobacterium leprae* (TAN; GRAHAM, 2008). A partir da década de 1970, a enfermidade recebeu o nome do seu descobridor, passando a ser conhecida como Mal de Hansen (BRASIL, 2008).

A hanseníase foi introduzida no Brasil pelos colonizadores portugueses e teve seus primeiros casos notificados em 1600 no Rio de Janeiro, sendo posteriormente, disseminada nos locais de maior crescimento populacional, como Pernambuco, Bahia e São Paulo. Com o desenvolvimento da agricultura, a necessidade de mão-de-obra e a ocupação do território brasileiro, a doença foi levada a outros estados como Paraíba, Alagoas, Ceará, Maranhão, Pará e Amazonas (EIDT, 2004).

O *M. leprae* é um organismo intracelular obrigatório, que causa uma infecção granulomatosa crônica. Afeta principalmente a pele e os nervos periféricos; é transmitida pelas vias aéreas superiores, de pessoa a pessoa através do convívio de susceptíveis com doentes bacilíferos sem tratamento (LOCKWOOD, 2004). A afecção pode ser mais bem entendida se for considerada como uma associação de duas doenças. A primeira é uma infecção crônica que induz extraordinária resposta imunológica nos indivíduos acometidos. A segunda é uma neuropatia periférica iniciada pela infecção e acompanhada por eventos imunológicos. Com a evolução da doença, frequentemente, surgem sequelas que se estendem por muitos anos após a cura da infecção, podendo levar à grave debilidade física, além do estigma social e de consequências psicológicas (SCOLLARD *et al.*, 2006).

A hanseníase é influenciada por fatores genéticos do hospedeiro, fatores ambientais, estado nutricional, vacinação com BCG e taxa de exposição ao *M. leprae* ou outras micobactérias (MORAES *et al.*, 2006). A resposta imunológica é de fundamental importância para a defesa do organismo frente à exposição ao bacilo. A hanseníase caracteriza-se por apresentar alta infectividade e baixa patogenicidade, sendo a maioria da população, mais de 95% dos indivíduos, naturalmente imune (TALHARI; NEVES, 1997; VAN BRAKEL, 2000).

Atualmente, há duas classificações baseadas nos aspectos clínico-imunológicos e utilizadas para caracterizar as formas clínicas do Mal de Hansen: a classificação de Madrid (TECHNICAL...,1953) e a de Ridley e Jopling (1966). Uma terceira classificação de cunho operacional foi criada pela Organização Mundial da Saúde - OMS (BRASIL, 2008). A classificação de Madrid considera as formas clínicas da hanseníase como virchowiana (VV) e tuberculoide (TT), que são dois polos estáveis e opostos, e dois grupos instáveis: *borderline* (B) e indeterminado (I), os quais caminhariam para um dos polos na evolução da doença (TECHNICAL..., 1953). A classificação de Ridley–Jopling associa os aspectos imunológicos à baciloscopia. Nessa classificação, as formas intermediárias são subdivididas em *borderline-tuberculoide* (BT), *borderline - borderline* (BB) e *borderline - virchowiana* (BV) (RIDLEY; JOPLING, 1966). A classificação operacional, adotada pela OMS, caracteriza duas formas para fins de tratamento: a paucibacilar (PB), quando há menos de 5 lesões e a multibacilar (MB), quando há mais de 5 lesões. Os critérios da OMS também são adotados pelo Ministério da Saúde do Brasil (BRASIL, 2008).

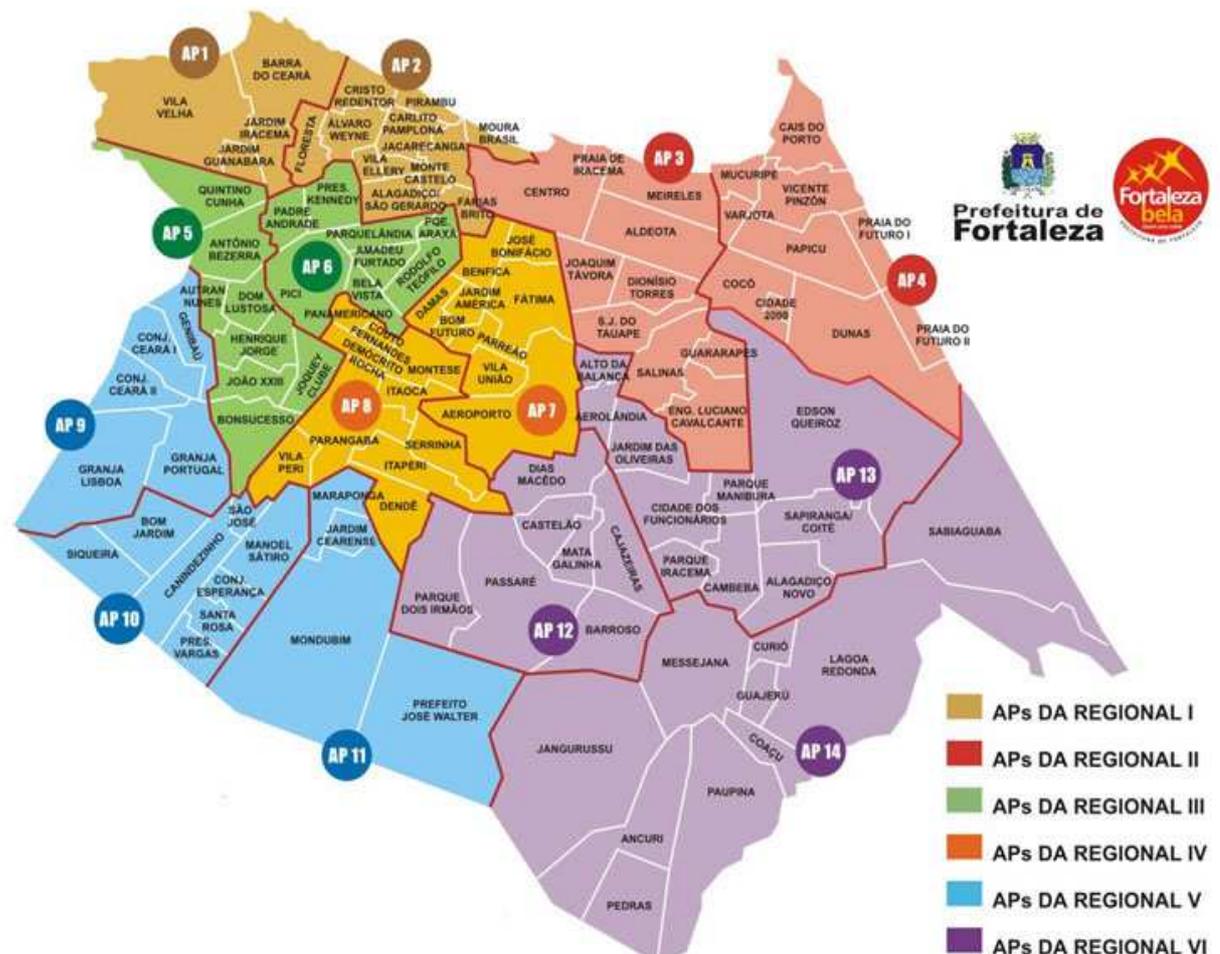
A hanseníase é um problema de saúde pública mundial. Em 2009, foram detectados 244.796 casos novos, em 121 países, dos quais 134.184 (54%) foram detectados na Índia, o país com maior número de casos novos, seguido do Brasil, com 39.047 (15%), e da Indonésia, com 17.441 (7%) (BRASIL, 2010).

O Brasil inclui-se entre os países de alta endemicidade do Mal de Hansen no mundo. Na população brasileira, a hanseníase apresenta tendência decrescente nos coeficientes de detecção, mas ainda estão em patamares elevados nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste (CEARÁ, 2011).

No Ceará foram diagnosticados 1854 casos novos em 2011, alcançando um coeficiente de detecção geral de 21,9 casos/100.000 habitantes. Segundo o Ministério da Saúde essa taxa ainda é considerada “muito alta”, ficando o Ceará no 13º lugar do *ranking* nacional e o 4º lugar do Nordeste, em número de casos novos

da doença. No período de 2001 a 2011, o Ceará apresentou uma significativa queda no coeficiente de detecção geral, porém registrou ocorrência da doença em menores de 15 anos, demonstrando a existência de focos de transmissão ativos de hanseníase, com uma média anual de 6,1% do total de casos notificados da doença nessa faixa etária (CEARÁ, 2012). A capital cearense, Fortaleza, é dividida em sete Secretarias Executivas Regionais (SER's) são elas I, II, III, IV, V, VI e Centro. Cada SER é subdividida em várias Áreas Particulares (AP's), conforme demonstrado na figura 1. A SER V é responsável pelo maior número de casos de hanseníase em Fortaleza (MONTEZUMA, 2011).

FIGURA 1 - Bairros e regionais de Fortaleza



Fonte: Prefeitura Municipal de Fortaleza

1.1 O envolvimento do sistema imunológico na hanseníase

A alteração da resposta imunológica na hanseníase está associada com o desenvolvimento de formas clínicas distintas, em que o predomínio da resposta celular está relacionado à forma clínica mais branda da doença (tuberculoide) e a ausência da resposta celular, com a forma clínica mais grave (virchowiana) (RIDLEY; JOPLING, 1966). A resposta imunológica pode ser dividida esquematicamente em inata e adaptativa. A imunidade inata efetiva, em combinação com a baixa virulência do *M. leprae*, está associada à resistência para o desenvolvimento da hanseníase (SCOLLARD *et al.*, 2006). Esta resposta tem a característica de ser um mecanismo de defesa não específico, com ação geral sobre os microrganismos, independente de sua natureza. A imunidade adaptativa caracteriza-se por apresentar mecanismos que se baseiam no reconhecimento específico de antígenos, mediado por receptores presentes nas membranas dos linfócitos T e B. Classicamente pode ser categorizada em celular ou do tipo 1, e humoral ou do tipo 2. A capacidade dos linfócitos auxiliares (CD4⁺), também conhecidos como linfócitos *T* helper (Th), em induzir as respostas celular ou humoral está relacionada com os tipos de citocinas secretadas e proporcionará o desenvolvimento das conhecidas respostas Th1 ou Th2. O predomínio da imunidade celular ou humoral, frente à infecção pelo bacilo, pode influenciar a evolução da doença e estar associado, pelo menos em parte, com as características clínicas observadas nos pacientes portadores das formas TT e LL, respectivamente (MORAES *et al.*, 2006).

A primeira linha de interação entre o *M. leprae* e o homem é mediada por receptores das células do hospedeiro que reconhecem padrões moleculares das micobactérias, os chamados receptores de reconhecimento de padrões (PRR), como os receptores *Toll-like* (TLRs), essenciais para o reconhecimento de patógenos pelos macrófagos e pelas células dendríticas durante a resposta da imunidade inata (BRIGHTBILL *et al.*, 1999). A resposta imunológica inata ao *M. leprae* é feita principalmente por células fagocitárias como neutrófilos, macrófagos e células dendríticas (DCs). Estas últimas são também responsáveis pela apresentação de antígenos, um passo importante para a resposta imunológica adaptativa (IYER, 2009). As DCs são as primeiras células a capturarem o *M. leprae* no local da infecção. Elas produzem IL-10 e IL-12 e são fundamentais no direcionamento da

resposta Th1 ou Th2 contra o bacilo causador da hanseníase. As DCs derivadas de macrófagos têm demonstrado alta efetividade na apresentação de antígenos (MIRA *et al.*, 2004; MODLIN, 2010).

O macrófago é a célula hospedeira primária do *M. leprae* que desempenha um papel importante na patogênese da hanseníase. Dependendo da forma clínica da doença, os macrófagos possuem características distintas. Na hanseníase virchowiana (LL), as lesões caracterizam-se pelo acúmulo de macrófagos que são incapazes de impedir a multiplicação do *M. leprae*. Em contraste, nas lesões das formas tuberculoide (TT), onde há formação de granuloma, dificilmente são encontradas bactérias dentro dos macrófagos. Ultimamente, essas diferenças têm sido estudadas profundamente, mostrando haver também distinção dos receptores celulares presentes nos macrófagos de cada forma clínica da doença (KRUTZIK *et al.*, 2003).

O sistema complemento também faz parte da imunidade inata e possui as vias de ativação clássica, alternativa e de lecitina. É um sistema formado por proteínas que atuam na defesa contra a invasão do organismo, através de vários mecanismos como a opsonização, a formação de imunocomplexos, o recrutamento de leucócitos e a resposta inflamatória. Experimentos realizados em soros de pacientes com hanseníase confirmam que o sistema complemento pode ser ativado por complexos imunes circulantes isolados desses pacientes (NOORDEEN, 1991) e têm sido observadas, especialmente nas formas LL, grandes quantidades de imunocomplexos (BROWNE, 1970; CALLEGARO FILHO *et al.*, 2010).

Neutrófilos, células *natural killer* (NK) e mastócitos, também estão envolvidos na defesa do organismo ao *M. leprae*, contudo suas funções não estão bem conhecidas. O curso crônico da hanseníase é caracterizado por uma ausência de neutrófilos no local da lesão embora as lesões do eritema nodoso hansênico (ENL) possam mostrar infiltrado de polimorfonucleares (PMN), principalmente nas primeiras 72 horas após o início da reação (OLIVEIRA *et al.*, 1999).

A função específica dos mastócitos na hanseníase ainda não está totalmente esclarecida. Vários estudos têm apresentado resultados contraditórios do papel dessas células na doença (ANTUNES *et al.*, 2003). Alguns relatam que uma maior quantidade de mastócitos foram encontrados na hanseníase virchowiana, em comparação com a hanseníase tuberculoide (JAYALAKSHMI, 1995), enquanto outros relatam o oposto (CREE; COGHILL; SWANSON BECK, 1990)

Os linfócitos T são determinantes no desenvolvimento da resistência contra o *M. leprae* (KIMURA *et al.*, 2004). Os linfócitos T auxiliares (CD4⁺) reconhecem peptídeos ligados a MHC II, e são especializados em enviar sinais a outras células do sistema imunológico como macrófagos, linfócitos B e T CD8⁺, através de citocinas e interação direta. Os linfócitos T citotóxicos (CD8⁺) reconhecem peptídeos ligados ao MHC I e são especializados em detectar as células infectadas para destruí-las junto ao patógeno que as infecta. O principal mecanismo de ação dos linfócitos T citotóxicos é a indução de apoptose seja através da expressão de receptores de morte, seja de liberação de perforinas e granzimas. Além disso, os linfócitos T citotóxicos secretam citocinas como IFN- γ e TNF, os quais podem aumentar a apresentação de antígenos e mediar os efeitos contra os patógenos por interferirem na replicação viral/bacteriana (SCHEPERS; ARENS; SCHUMACHER, 2005).

Os linfócitos *Natural Killer* (NK) são células há muito tempo conhecidas por participarem da imunidade inata, mas, recentemente houve descobertas a respeito da influencia dessas células na resposta imunológica adaptativa e na imunorregulação (POLI *et al.*, 2009).

No sangue periférico humano, existem cinco subtipos de células NK que se diferenciam pela expressão de CD56 (receptor de baixa afinidade pela porção Fc da IgG) e CD16 (molécula de adesão). O tipo CD56^{dim} CD16^{bright} NK (em que há fraca expressão de CD56 e forte expressão de CD16) representa a maioria das células NK circulantes no sangue periférico. As células NK não expressam CD3⁺ (CALIGIURI, 2008; COOPER; FEHNIGER; CALIGIURI, 2001).

Os receptores de células NK são codificados na linhagem germinativa e não por recombinação somática como os receptores de antígenos de linfócitos B e T (LONG, 1999). O balanço de sinais entre os receptores de ativação e de inibição determina as funções das células NK (MORETTA *et al.*, 2001). Alguns receptores inibitórios reconhecem o MHC de classe I, presente em todas as células saudáveis e previnem o ataque de NK a essas células. A perda de MHC I dessas células por infecção ou câncer pode levar à ativação de NK (STEWART; VIVIER; COLONNA, 2006; VILCHES; PARHAM, 2002). Com a ativação, as células NK lisam as células-alvo através de perforinas e granzimas. Além dessas funções clássicas, as células NK também possuem receptores de NK mediados por outras citocinas (JANEWAY JR.; MEDZHITOV, 2002).

Além da capacidade de matar células alvo específicas, as células NK podem produzir citocinas do tipo Th1 ou Th2. Para a geração da resposta Th1, é importante que as células NK produtoras de IFN- γ migrem cedo para o sítio da inflamação, enquanto que o aumento da citotoxicidade de NK por IL-18 não necessita da produção de IL-12 endógeno, provavelmente porque os receptores de IL-18 (IL-18R) são expressos constitutivamente na superfície das NKs (HYODO *et al.*, 1999). Interleucina-12, uma citocina produzida por DCs e monócitos, possui um papel fundamental na geração da resposta Th1, na estimulação de NKs e na indução de produção de IFN- γ por NKs e linfócitos T (MANETTI *et al.*, 1994; TRINCHIERI, 1994).

Em pacientes paucibacilares e controles normais, a depleção de NKs reduziu a atividade citolítica de linfócitos T citotóxicos (LTC). Nessas condições, o acréscimo de IL-12 não é capaz de aumentar a geração de LTC, e a presença de IL-18 eleva a atividade citotóxica na ausência ou presença de NKs (BARRERA *et al.*, 2004).

Os linfócitos T *Natural Killers* (NKTs) foram descritos como subpopulações $\alpha\beta^+$ CD4⁺ ou CD4⁻ CD8⁻ caracterizados por uma cadeia invariante de TCR-- α . Essas células foram identificadas primeiramente em ratos e foi demonstrado que elas reconhecem a proteína CD1d, que é semelhante a MHC I (BENDELAC *et al.*, 1997). Esses linfócitos são recrutados por fatores quimiotáticos produzidos por células epiteliais e ativados por antígenos lipoproteicos e glicolipídicos do *M. leprae* (IM *et al.*, 2008). A produção de diversas citocinas do tipo Th1 e Th2 é rapidamente estimulada por NKT CD1d restritos (MERCER; RAGIN; AUGUST, 2005; SEINO *et al.*, 2006). Essas células estão envolvidas com resposta imunológica protetora contra patógenos intracelulares (ARRUNATEGUI-CORREA; LENZ; KIM, 2004; RINET *et al.*, 2005;).

A inoculação de antígeno da parede celular de *M. tuberculosis* em ratos desenvolveu uma lesão semelhante ao granuloma em que NKT eram as células predominantes (APOSTOLOU *et al.*, 1999).

A utilização de antígenos de *M. leprae* com os imunomoduladores murabutide e peptídeo Trat de forma lipossomal em PBMCs de pacientes com hanseníase virchowiana levou a um aumento da expressão de CD1b e CD1d em monócitos/macrófagos, bem como da porcentagem de NKTs que secretavam IFN-

γ e promoveu a ativação das vias CD40-CD40L e das funções de NKTs envolvidas com a imunidade mediada por células (CMI) nesses pacientes (CHATTREE *et al.*, 2008).

Mendonça *et al.*, (2008), compararam o perfil fenotípico de pacientes com hanseníase e controles saudáveis e encontraram aumento no percentual de linfócitos NKT (CD3⁺ CD16⁺), nos pacientes com hanseníase.

Os linfócitos B (CD19⁺) representam 5 a 20% de linfócitos sanguíneos de indivíduos normais (FAILACE, 2003). Na zona folicular, os linfócitos B capturam antígenos através dos receptores de células B (BCRs), o que os leva à ativação e internalização, processamento e apresentação do peptídeo junto ao MHC II (MCHEYZER-WILLIAMS; MCHEYZER-WILLIAMS, 2005). A glicoproteína CD40 é um membro da superfamília do receptor de TNF presente na superfície de linfócitos B e monócito/macrófago. A interação CD40-CD40L induz ao aumento da expressão de B7(B7-1, CD80 ou B7-2, CD86) e indução da produção de IL-12 (DURIE *et al.*, 1994).

Os linfócitos T auxiliares e linfócitos B ativados encontram-se entre as duas zonas em que ocorre o reconhecimento do complexo peptídeo específico+MHC II. Com essa interação, os linfócitos T auxiliares aumentam a expressão de CD40L que se liga a CD40, presente na superfície dos B, levando a uma proliferação crítica e sinal de diferenciação e secreção de citocinas necessárias à mudança do isotipo de imunoglobulina (Ig) (MCHEYZER-WILLIAMS; MCHEYZER-WILLIAMS, 2005).

A interação entre linfócitos T-B específicos leva ao desenvolvimento de plasmócitos de curta duração ou seguem para o centro germinativo, onde passam a linfócitos B de memória com longa duração com alta afinidade (MACLENNAN, 1994).

Foi observado aumento percentual significativo de linfócitos B (CD19⁺) e linfócitos B1 (CD19⁺CD5⁺) em indivíduos com a forma virchowiana da hanseníase, respectivamente $15,08 \pm 4,83$ e $4,92 \pm 3,57$, quando comparados a indivíduos normais, $12,14 \pm 2,10$ e $1,10 \pm 0,59$. Não foram estudados pacientes com formas reacionais de hanseníase (ILHAN *et al.*, 2007).

Mendonça *et al.* (2008b), comparando o perfil fenotípico de pacientes com hanseníase e controles saudáveis, não encontraram aumento no percentual de linfócitos B (CD3⁻ CD19⁺) em pacientes com hanseníase.

1.2 Tratamento

O tratamento da hanseníase compreende uma quimioterapia específica, supressão dos surtos reacionais, prevenção de incapacidades físicas, reabilitação física e psicossocial.

As drogas usadas nos esquemas padronizados pela OMS e MS são a rifampicina (única bactericida dos esquemas-padrão), dapsona e clofazimina. Os esquemas poliquimioterápicos têm como princípio a associação de drogas.

O tratamento das formas paucibacilares é composto por uma dose mensal supervisionada de 600mg de rifampicina, mais 100mg de dapsona, realizado em 6 doses e concluído em até 9 meses, e uma dose diária em casa de 100mg de dapsona. Nas formas multibacilares o tratamento é composto por uma dose mensal supervisionada de 600mg de rifampicina, 100mg de dapsona e 300mg de clofazimina, realizado em 12 doses e concluído em até 18 meses, e uma dose diária, em casa, de 100mg de dapsona e 50mg de clofazimina.

1.3 Citometria de fluxo

A citometria de fluxo é uma técnica que permite analisar diferentes populações celulares através da caracterização de vários parâmetros como tamanho, granulosidade e presença de antígenos específicos. Ela é capaz de identificar tanto antígenos de superfície como citoplasmáticos, DNA e fazer avaliação funcional (OWENS *et al.*, 2000).

Uma das principais aplicações da citometria de fluxo é a imunofenotipagem, que é a identificação e quantificação de antígenos celulares através de anticorpos monoclonais marcados com fluorocromos.

Essa técnica pode ser feita em células sanguíneas, medulares ou tumorais (FAILACE, 2003), além de em células teciduais em suspensão (DATH *et al.*, 2011). A imunofenotipagem de linfócitos por citometria de fluxo vem sendo realizada para se conhecer melhor o comportamento imunológico, diagnóstico ou acompanhamento clínico de inúmeras doenças como a aids (síndrome da imunodeficiência adquirida) (AUTISSIER *et al.*, 2010; WEBSTER; JOHNSON, 2005), leucemia mieloide aguda (SCHWONZEN *et al.*, 2007), linfoma angioimunoblástico de células T (LEE; LIN; CHUANG, 2003), síndrome

mielodisplásica (KERN *et al.*, 2010) e em hematologia veterinária (NAKAGE *et al.*, 2005).

A identificação é possível através da ligação das células de interesse com anticorpos ligados a diferentes fluorocromos que, após a excitação por laser, emitem fótons que são detectados e transmitidos ao computador de forma que as células ficam agrupadas de acordo com a granulosidade, o tamanho e os antígenos ligados. A habilidade de medir múltiplos parâmetros é limitada pelo número de fluorocromos que são utilizados simultaneamente (BAUMGARTH; ROEDERER, 2000).

Com este estudo, através de técnica refinada de padrão-ouro, citometria de fluxo, será possível caracterizar qualitativa e quantitativamente as subpopulações das células envolvidas no processo imunológico antes e pós- tratamento com a multidrogaterapia, possibilitando um auxílio diagnóstico e melhor acompanhamento dos pacientes acometidos por hanseníase.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Identificar as subpopulações de linfócitos em pacientes portadores de hanseníase.

2.2 Específicos

- Quantificar as subpopulações de linfócitos T totais (CD3⁺), T auxiliares (CD4⁺), T citotóxicos (CD8⁺), T (CD4⁺CD8⁺), B (CD19⁺), NK (CD3⁻CD16⁺CD56⁺) e NKT (CD3⁺CD16⁺CD56⁺) antes e após uso da multidrogaterapia.
- Identificar e diferenciar as alterações nas subpopulações de linfócitos antes e após uso da multidrogaterapia.
- Comparar as subpopulações de linfócitos antes e após uso da multidrogaterapia.
- Comparar as subpopulações de linfócitos nos pacientes pauci e multibacilares.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo transversal de caráter observacional realizado a partir da análise do sangue periférico de indivíduos com o diagnóstico de hanseníase, sem tratamento prévio e após conclusão do tratamento específico para hanseníase.

3.2 Pacientes

3.2.1 Critérios de inclusão

- Diagnóstico de hanseníase segundo avaliação do quadro clínico de especialista em unidade de referência de hanseníase;
- Idade entre 5 e 69 anos.

3.2.2 Critérios de exclusão

- Forma clínica neural pura;
- Tratamento anterior de hanseníase há menos de 5 anos;
- História prévia de intolerância a um dos medicamentos do esquema MDT;
- Associação com outras doenças graves (HIV/aids, tuberculose, malária, leishmaniose tegumentar, calazar, doenças mieloproliferativas e linfoproliferativas ou uso de imunossupressores);
- Dificuldades por parte do paciente de compreender e cooperar com os procedimentos do estudo.

3.3 Aspectos éticos

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Dermatologia D. Libânia (CDerm) e aprovado sob o número 011/07 (Anexo).

3.4 Coletas das amostras de sangue periférico

As coletas foram realizadas no CDerm entre os meses de janeiro e outubro de 2011, nos dias em que os pacientes eram diagnosticados e nos dias das consultas médicas de supervisão.

As amostras de sangue venoso de cada paciente foram colhidas em dois tubos BD Vacutainer® com anticoagulante EDTA. Um tubo foi utilizado para a realização do hemograma no próprio CDerm, e o outro foi armazenado em temperatura ambiente (20-25°C), até 24 horas, para a realização da citometria de fluxo, no Laboratório de Imunofenotipagem da Faculdade de Medicina da UFC.

A contagem de leucócitos e linfócitos foi realizada no aparelho Mindray BC-5380 (Hamburgo, Alemanha) e a citometria de fluxo no BD FACSCalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA).

Para a aquisição de subpopulações linfocitárias T, B, NK e NKT foi utilizado o programa BD CellQuest™ Pro. Para cada amostra foram utilizados dois tubos (T e B).

No tubo T, acrescentamos 50µL da amostra com 10µL do reagente BD Multitest™ CD3/CD8/CD45/CD4 [conjugados com isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE), proteína piridina clorofila (PerCP) ou Aloficocianina (APC), respectivamente].

No tubo B, acrescentamos 50µL da amostra com 10µL do reagente BD Multitest™ CD3/CD16⁺CD56⁺/CD45/CD19 [conjugados com isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE), proteína piridina clorofila (PerCP) ou Aloficocianina (APC), respectivamente].

Em seguida, cada tubo foi homogeneizado no vórtex. Os tubos foram incubados, quinze minutos, em temperatura ambiente, e protegidos da luz. Para a lise das hemácias, foram acrescentados 450µL da solução de lise 1% [FACS *lysing solution* (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA)] em cada tubo, homogeneizados no vórtex e novamente incubados por quinze minutos, em temperatura ambiente, e protegidos da luz.

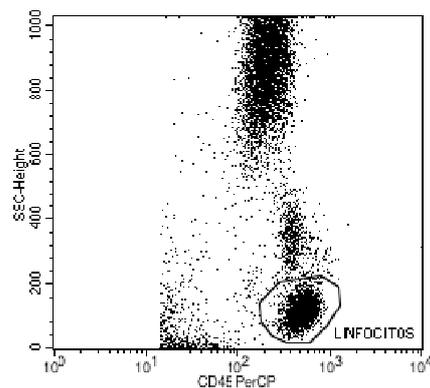
Após a preparação, o material foi imediatamente processado no citômetro de fluxo. Foram adquiridos 10.000 células (eventos) CD45 positivos para cada tubo.

A estratégia de *gating* representou, de início, a identificação dos linfócitos totais do sangue periférico, por meio da determinação da região em que havia forte

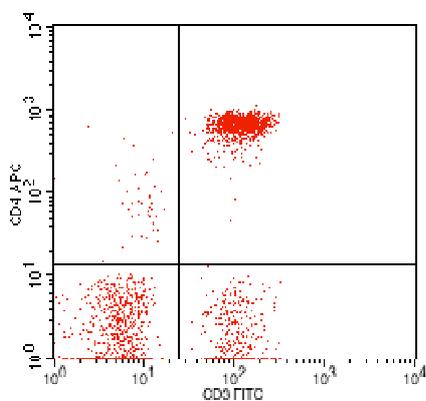
expressão de $CD45^+$ e baixa complexidade interna (*side scatter-SSC*) (Figura 1, item a). Em seguida, as subpopulações de linfócitos T foram distinguidas, tomando por base a combinação de expressão dos antígenos $CD3^+/CD4^+$ (linfócitos T auxiliares) e $CD3^+/CD8^+$ (linfócitos T citotóxicos) (Figura 1, itens b; c). Os linfócitos T foram determinados pela expressão positiva de CD3 (Figura 1, item d).

A população NK (*natural killer*) foi determinada pela combinação de expressão dos antígenos $CD3^-/CD16^+CD56^+$, e a população NKT, uma subpopulação de linfócitos T, foi determinada pela combinação da expressão dos antígenos $CD3^+/CD16^+CD56^+$ (Figura 2, item b). Os linfócitos B foram determinados pela expressão positiva de CD19 (Figura 2, item c).

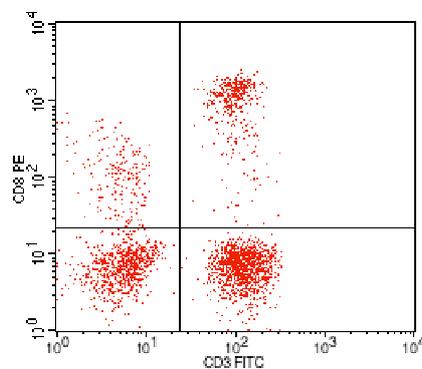
FIGURA 2 - Estratégia de *gating* para determinação das subpopulações linfocitárias: linfócitos T totais, T citotóxicos e T auxiliares.



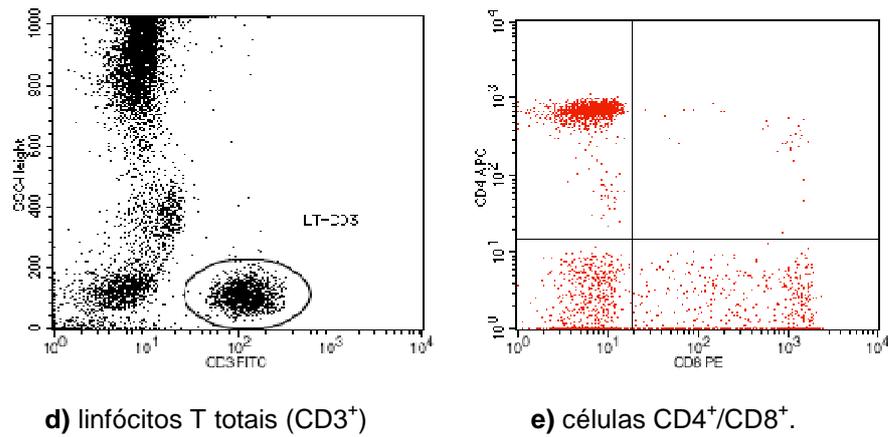
a) Seleção de *gate* contendo apenas linfócitos



b) linfócitos T auxiliares ($CD3^+/CD4^+$)

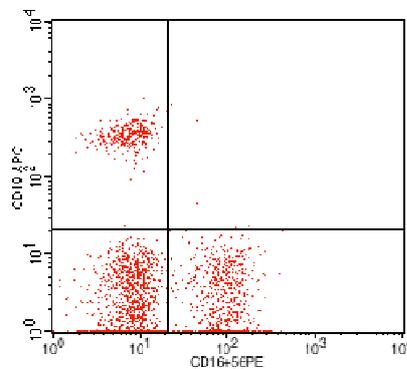
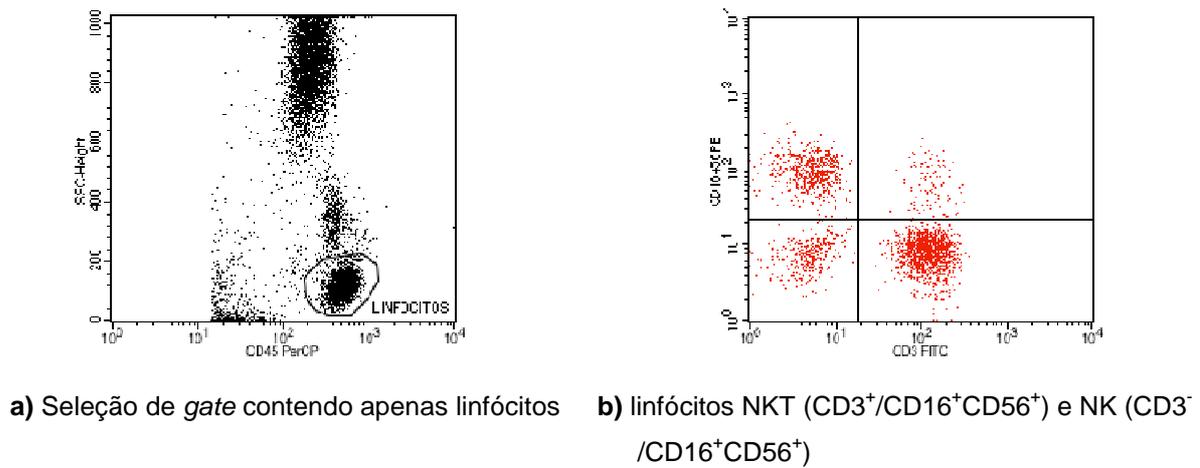


c) linfócitos T citotóxicos ($CD3^+/CD8^+$)



Fonte: Arquivos do Laboratório de Imunofenotipagem da UFC

FIGURA 3 - Estratégia de *gating* para determinação de subpopulações linfocitárias NKT, NK e B.



Fonte: Arquivos do Laboratório de Imunofenotipagem da UFC.

3.5 Análise estatística

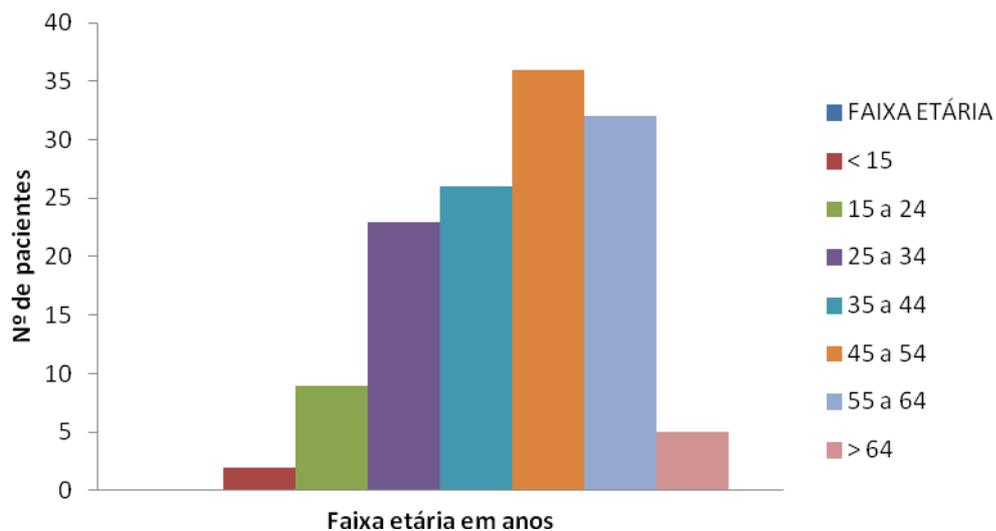
Os dados foram armazenados no programa Microsoft Excel 2010. A análise estatística dos resultados foi realizada pelo programa GraphPad Prism 5.0 para Windows. As variáveis contínuas foram testadas para distribuição normal, utilizando o teste Shapiro-Wilk. Para os resultados aceitos com distribuição normal, foi utilizado o teste t de Student e os valores foram apresentados com média e desvio padrão. Para os dados que não foram aceitos como tendo distribuição normal, foi utilizado o teste de Mann-Whitney, e os valores foram apresentados como mediana e amplitude. O nível de significância estatística foi estabelecido para valores de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Dados sociodemográficos

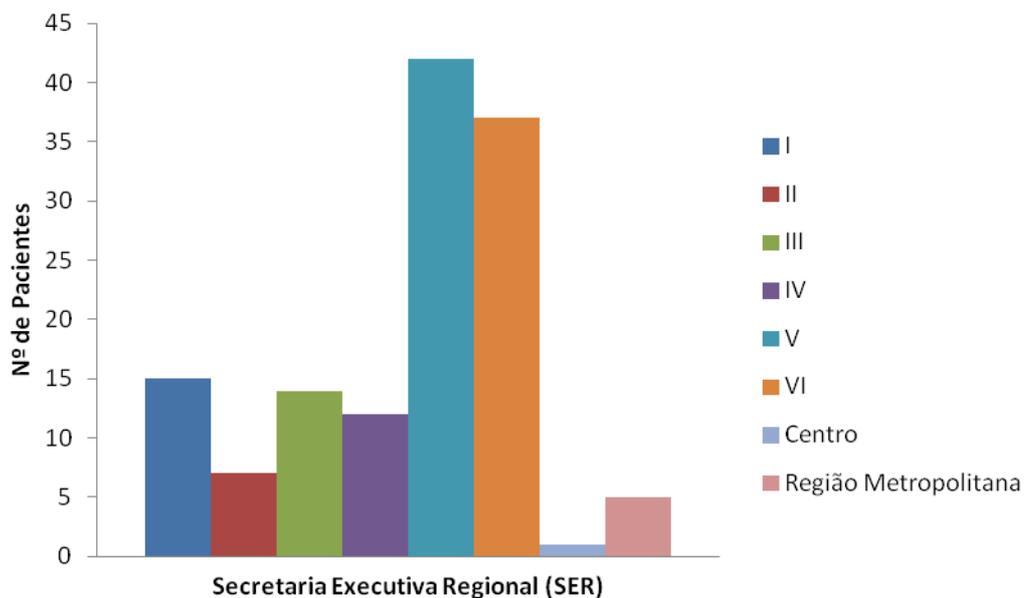
Foram coletadas 205 amostras de pacientes que se enquadravam na condição antes, durante ou após tratamento com a poliquimioterapia. A população analisada, neste estudo, na condição antes e após tratamento, é composta de 133 pacientes dos quais 79 (59,4%) do gênero masculino e 54 (40,6%) do gênero feminino. A mediana da idade dos pacientes foi de 43 anos no grupo pré-tratamento e 46 anos no pós- tratamento. A menor idade foi de 13 anos, e a maior 69 anos. Quanto à faixa etária, 2 (1,5%) pacientes tinham idade inferior a 15 anos; 9 (6,8%) entre 15 e 24 anos; 23(17,3%) entre 25 e 34 anos; 26(19,5%) entre 35 e 44 anos; 36 (27,1%) entre 45 e 54 anos; 32 (24,0%) entre 55 e 64anos; e 5 (3,8%) tinham idade superior a 64 anos. Destes pacientes 19 (12 homens) foram incluídos no grupo antes do tratamento e 114 (67 homens) no grupo pós-tratamento.

GRÁFICO 1 - Faixa etária dos pacientes com hanseníase atendidos no CDerm no período de janeiro a outubro de 2011 incluídos no estudo .



Quanto à distribuição geográfica dentro da cidade de Fortaleza, a SER com o maior número de pacientes afetados pela hanseníase foi a SER V, com 42 (31,7%); seguida pela SER VI, com 37 (27,9%); SER I, com 15 (11,0%); SER III, com 14 (10,5%); SER IV, com 12 (9,0%); SER II, com 7 (5,3%); e o centro com 1(0,8%). Na região metropolitana, Caucaia e Maracanaú, com 5 (3,8%) pacientes. O bairro com o maior número de hansenianos foi o Bom Jardim, com 15.

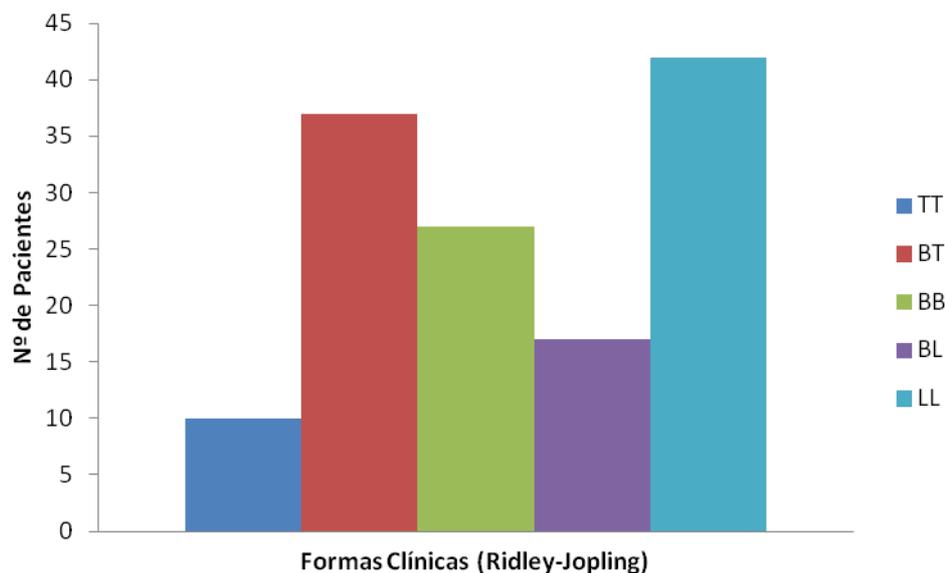
GRÁFICO 2 - Distribuição geográfica por SER de Fortaleza dos pacientes atendidos no CDerm no período de janeiro a outubro de 2011 incluídos no estudo.



4.2 Formas clínicas

A classificação clínica utilizada foi a de Ridley-Jopling. Quanto à forma clínica, o número maior de indivíduos foi classificado com a forma clínica LL, com 42 (31,58%); depois BT, com 37 (27,82%); BB, com 27 (20,30%); depois BL, com 17 (12,78%) e TT, com 10 (7,52%). Um total de nove pacientes foram incluídos no grupo paucibacilar enquanto 124 foram multiibacilar. As formas clínicas foram definidas com o auxílio diagnóstico das biópsias, no entanto, para noventa e dois pacientes, os resultados não foram concluídos até o presente momento, apesar de ter sido realizado o procedimento. Para esses casos, a classificação foi definida por especialista do centro de referência em hanseníase.

GRÁFICO 3 - Forma clínica (Ridley- Jopling) dos pacientes portadores de hanseníase atendidos no **CDerm**, no período de janeiro a outubro de 2011 incluídos no estudo.

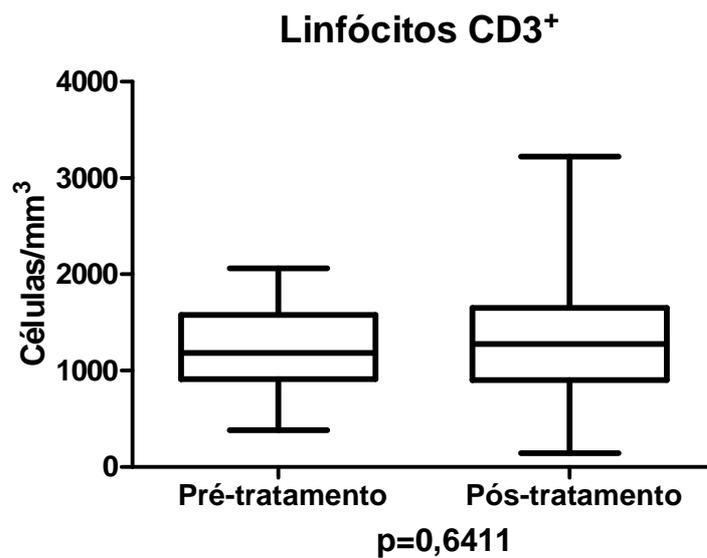


4.3 Contagem de subpopulações linfocitárias antes e após tratamento

4.3.1 Linfócitos T (CD3⁺)

As medianas das contagens (células/mm³) de linfócitos T (CD3⁺), nos grupos antes e após tratamento, estão demonstradas no **gráfico 4**, e foram: 1185,0 [382,0 – 2061,0] e 1278,0[140,0 – 3225,0], respectivamente ($p=0,6411$).

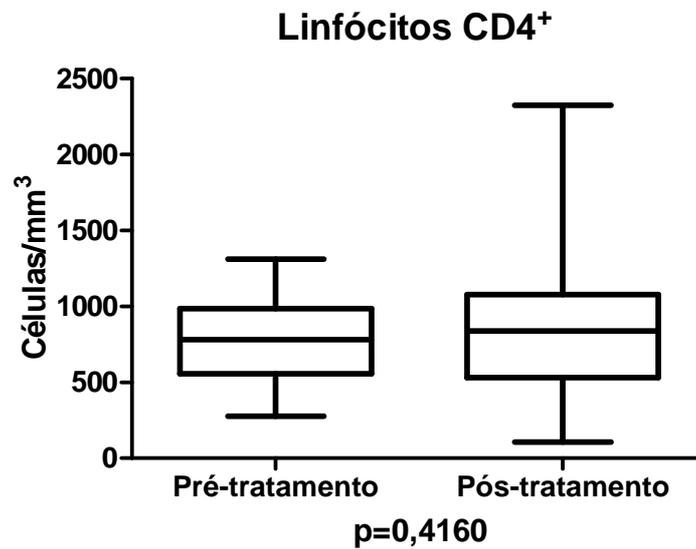
GRÁFICO 4 - Medianas dos valores da contagem de linfócitos T (CD3⁺) em pacientes antes (n=19) e após tratamento (n=114) de hanseníase.



4.3.2 Linfócitos T auxiliares (CD4⁺)

As medianas das contagens de linfócitos T (CD4⁺), nos grupos antes e após tratamento, estão demonstradas, no **gráfico 5**, e foram: 780,0 [276,0- 1309,0] e 839,0 [108,0-2321,0], respectivamente (p=0,4160).

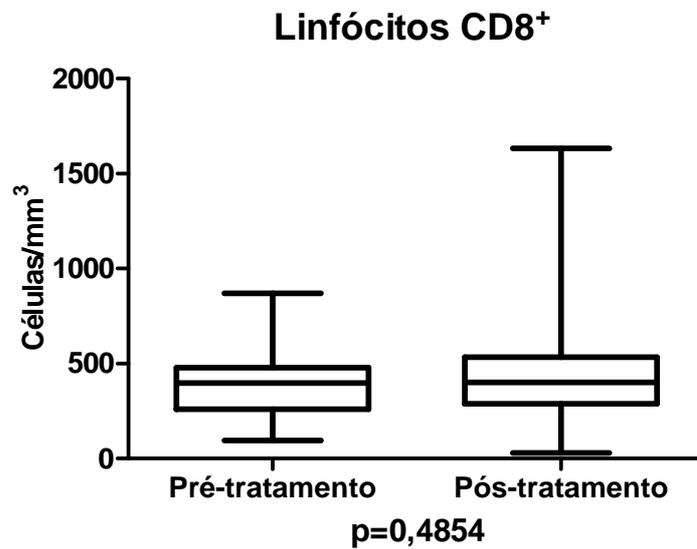
GRÁFICO 5 - Medianas dos valores da contagem de linfócitos T (CD4⁺) em pacientes antes (n=19) e após tratamento (n=114) de hanseníase.



4.3.3 Linfócitos T citotóxicos (CD8⁺)

As medianas das contagens (células/mm³) de linfócitos T (CD8⁺) , nos grupos antes e após tratamento, estão demonstradas no **gráfico 6**, e foram: 398,0 [96,0 – 870,0] e 401,5 [30,0 – 1632,0], respectivamente (p=0,4854).

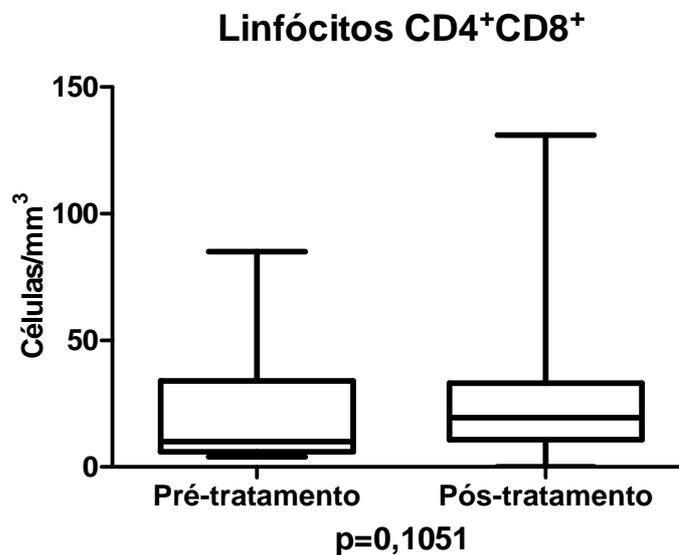
GRÁFICO 6 - Medianas dos valores da contagem de linfócitos T (CD8⁺) em pacientes antes (n=19) e após tratamento (n=114) de hanseníase.



4.3.4 Linfócitos T (CD4⁺ CD8⁺)

As medianas das contagens (células/mm³) de linfócitos T (CD4⁺ CD8⁺), nos grupos antes e após tratamento, estão demonstradas no **gráfico 7**, e foram: 10,0 [4,0 – 85,0] e 19,5 [0,0 – 131,0], respectivamente ($p=0,1051$).

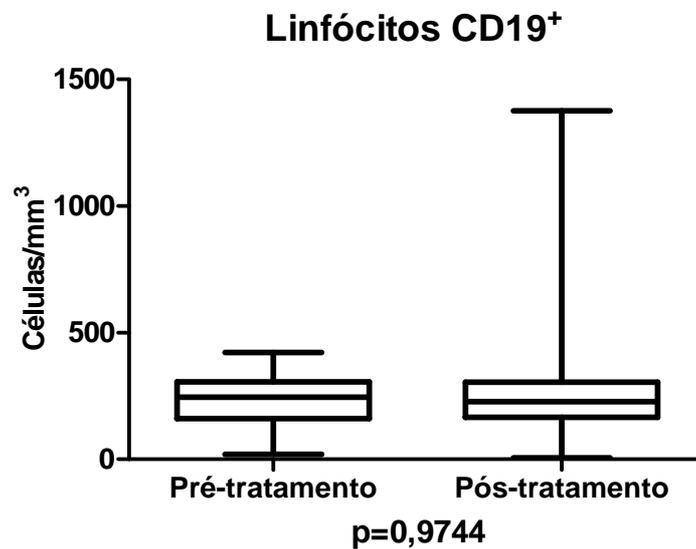
GRÁFICO 7 - Mediana dos valores da contagem de linfócitos T (CD4⁺CD8⁺) em pacientes antes (n=19) e após tratamento (n=114) de hanseníase.



4.3.5 Linfócitos B (CD19⁺)

As medianas das contagens (células/mm³) de linfócitos B (CD19⁺) , nos grupos antes e após tratamento, estão demonstradas no **gráfico 8**, e foram: 245,0[21,0 – 422,0] e 227,5 [6,0 – 1376,0], respectivamente (p=0,9744).

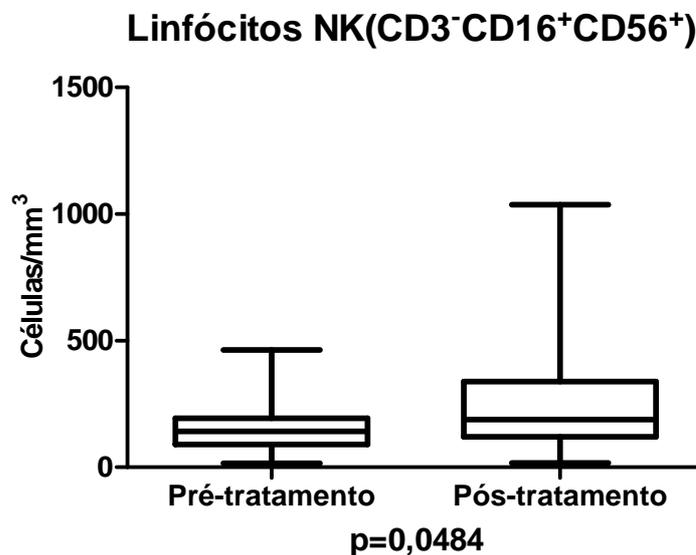
GRÁFICO 8 - Medianas dos valores da contagem de linfócitos B (CD19⁺) em pacientes antes (n=19) e após tratamento (n=114) de hanseníase.



4.3.6 Linfócitos NK ($CD3^- CD16^+ CD56^+$)

As medianas das contagens (células/mm³) de linfócitos NK ($CD3^- CD16^+ CD56^+$), nos grupos antes e após tratamento, estão demonstradas no **gráfico 9**, e foram: 142,0 [15,0 – 463,0] e 189,5 [18,0 – 1037,0], respectivamente ($p=0,0484$).

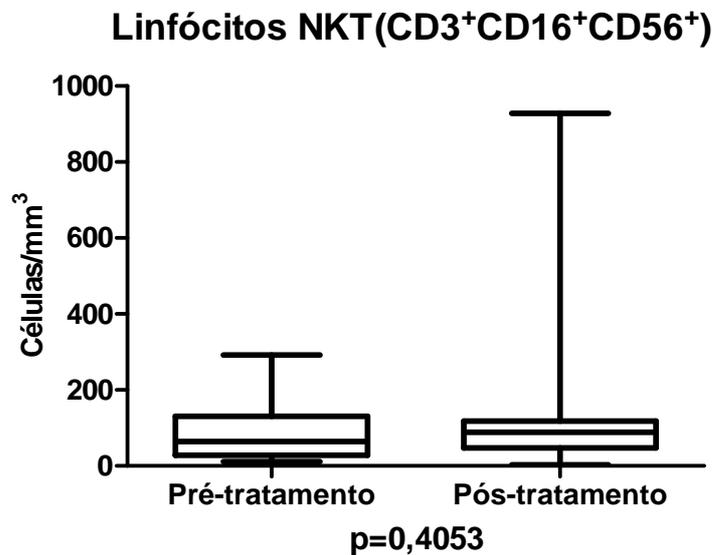
GRÁFICO 9 - Medianas dos valores da contagem de linfócitos NK ($CD3^- CD16^+ CD56^+$) em pacientes antes ($n=19$) e após tratamento ($n=114$) de hanseníase.



4.3.7 Linfócitos NKT ($CD3^+ CD16^+ CD56^+$)

As medianas das contagens (células/mm³) de linfócitos NKT ($CD3^+ CD16^+ CD56^+$), nos grupos antes e após tratamento, estão demonstradas no **gráfico 10**, e foram: 64,5 [12,0 – 292,0] e 88,5 [3,0 – 928,0], respectivamente ($p=0,4053$).

GRÁFICO 10 - Medianas dos valores da contagem de linfócitos NKT ($CD3^+CD16^+CD56^+$) em pacientes antes ($n=19$) e após tratamento ($n=114$) de hanseníase.

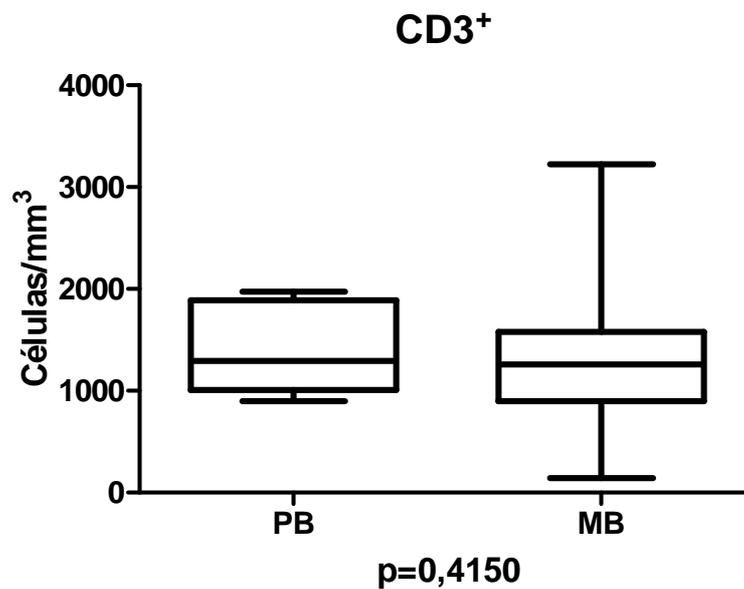


4.4 Contagem de subpopulações linfocitárias nas formas clínicas paucibacilar e multibacilar

4.4.1 Linfócitos T (CD3⁺)

As medianas das contagens (células/mm³) de linfócitos T (CD3⁺), nos grupos pauci e multibacilar, estão demonstradas no **gráfico 11**, e foram: 1293,0 [897,0 – 1972,0] e 1258,0 [140,0 – 3225,0], respectivamente (p=0,4150).

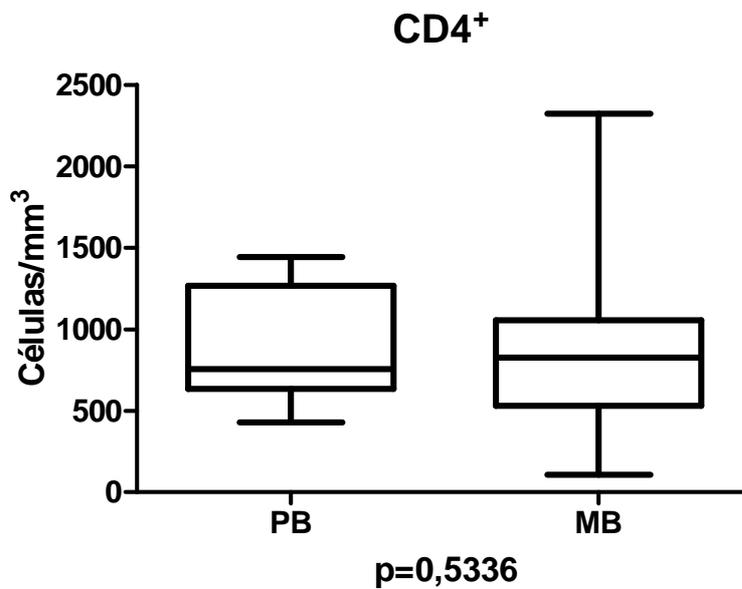
GRÁFICO 11 – Medianas dos valores da contagem de linfócitos T (CD3⁺) em pacientes portadores de hanseníase nas formas pauci (n= 9) e multibacilar (n=124).



4.4.2 Linfócitos T auxiliares (CD4⁺)

As medianas das contagens de linfócitos T (CD4⁺), nos grupos pauci e multibacilar, estão demonstradas no **gráfico 12**, e foram: 756,0[429,0- 1442,0] e 825,0 [108,0-2321,0], respectivamente (p=0,5336).

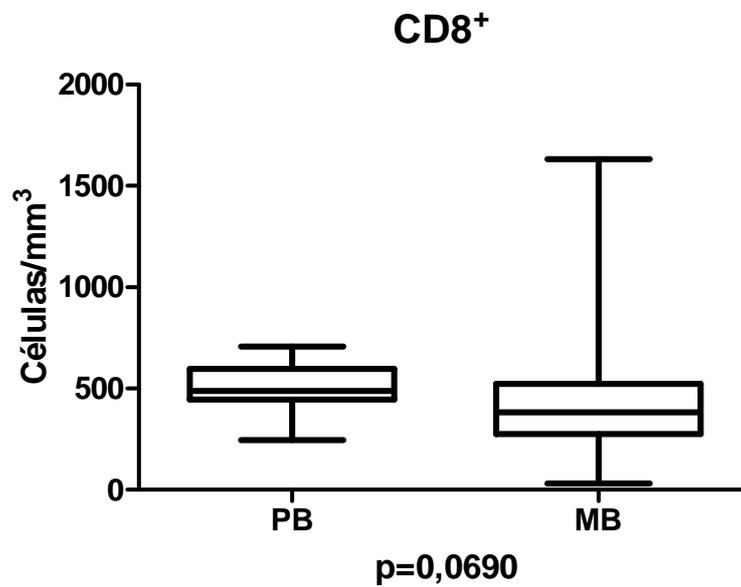
GRÁFICO 12 - Medianas dos valores da contagem de linfócitos T (CD4⁺) em pacientes portadores de hanseníase nas formas pauci (n= 9) e multibacilar (n=124).



4.4.3 Linfócitos T citotóxicos (CD8⁺)

As medianas das contagens (células/mm³) de linfócitos T (CD8⁺), nos grupos pauci e multibacilar, estão demonstradas no **gráfico 13**, e foram: 487,0 [245,0 – 707,0] e 383,0 [30,0 – 1632,0], respectivamente (p=0,0690).

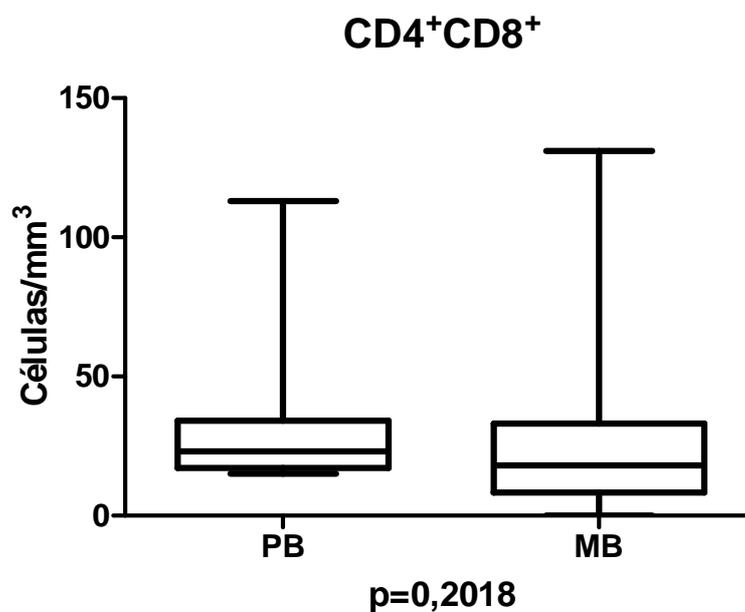
GRÁFICO 13 - Medianas dos valores da contagem de linfócitos T (CD8⁺) em pacientes portadores de hanseníase nas formas pauci (n= 9) e multibacilar (n=124).



4.4.4 Linfócitos T ($CD4^+ CD8^+$)

As medianas das contagens (células/mm³) de linfócitos T($CD4^+ CD8^+$), nos grupos pauci e multibacilar, estão demonstradas no **gráfico 14**, e foram: 23,0 [15,0 – 113,0] e 18,0 [0,0 – 131,0], respectivamente ($p=0,2018$).

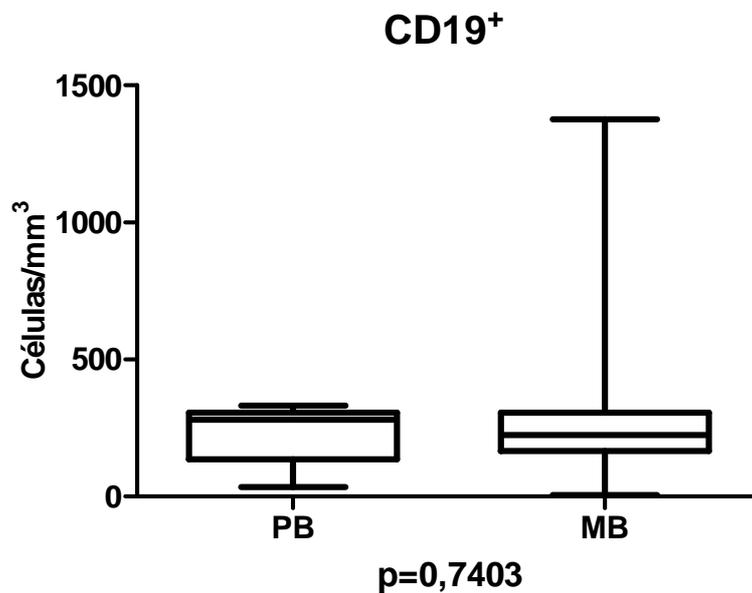
GRÁFICO 14 - Mediana dos valores da contagem de linfócitos T ($CD4^+CD8^+$) em pacientes portadores de hanseníase nas formas pauci ($n= 9$) e multibacilar ($n=124$).



4.4.5 Linfócitos B (CD19⁺)

As medianas das contagens (células/mm³) de linfócitos B (CD19⁺), nos grupos pauci e multibacilar, estão demonstradas no **gráfico 15**, e foram: 280,0[34,0 – 332,0] e 224,5 [6,0 – 1376,0], respectivamente (p=0,7403).

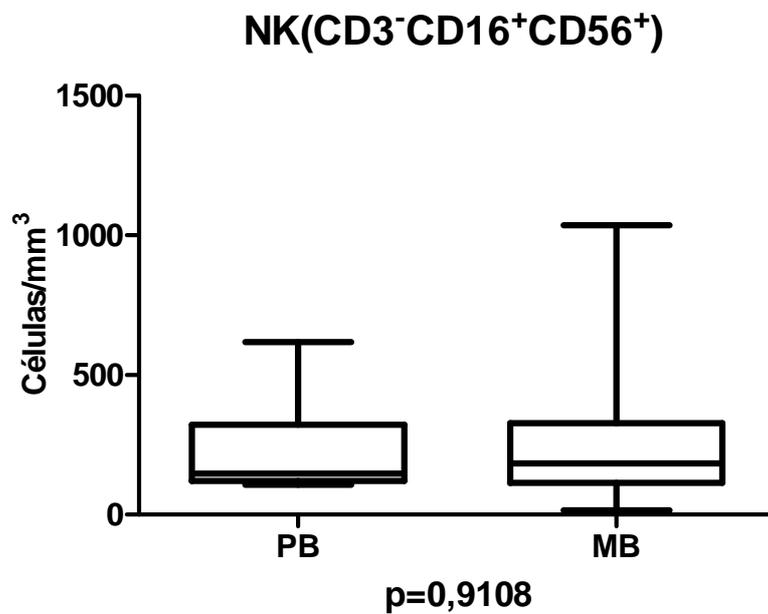
GRÁFICO 15 - Medianas dos valores da contagem de linfócitos B (CD19⁺) em pacientes com hanseníase nas formas pauci (n= 9) e multibacilar (n=124).



4.4.6 Linfócitos NK ($CD3^- CD16^+ CD56^+$)

As medianas das contagens (células/mm³) de linfócitos NK ($CD3^- CD16^+ CD56^+$), nos grupos pauci e multibacilar, estão demonstradas no **gráfico 16**, e foram: 147,0 [107,0 – 618,0] e 1825,0 [15,0 – 1037,0], respectivamente ($p=0,9108$).

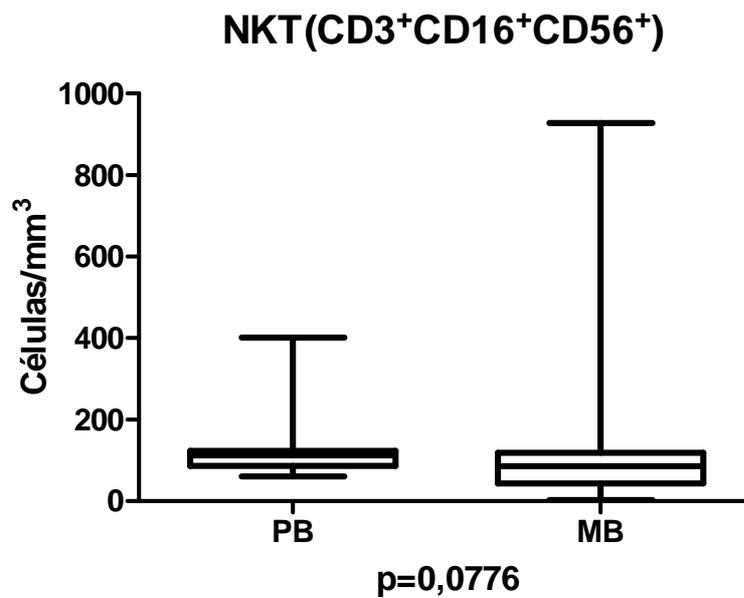
GRÁFICO 16 - Medianas dos valores da contagem de linfócitos NK ($CD3^- CD16^+ CD56^+$) em pacientes portadores de hanseníase nas formas pauci ($n= 9$) e multibacilar ($n=124$).



4.4.7 Linfócitos NKT ($CD3^+ CD16^+ CD56^+$)

As medianas das contagens (células/mm³) de linfócitos NKT ($CD3^+ CD16^+ CD56^+$), nos grupos pauci e multibacilar, estão demonstradas no **gráfico 17**, e foram: 112,0 [60,0 – 401,0] e 85,0 [3,0 – 928,0], respectivamente ($p=0,0776$).

GRÁFICO 17 - Medianas dos valores da contagem de linfócitos NKT ($CD3^+ CD16^+ CD56^+$) em pacientes portadores de hanseníase nas formas pauci (n= 9) e multibacilar (n=124).



5 DISCUSSÃO

Hanseníase é uma doença infecto-contagiosa que se caracteriza por apresentar formas clínicas, patológicas e imunológicas contrastantes. É reconhecido que um componente relevante na patogenia da doença é o sistema imunológico.

Os linfócitos, representados por diversas subpopulações celulares, são células que têm papel fundamental no desenvolvimento da imunidade contra o *M. leprae* (MODLIN et al.,1988). O presente estudo caracterizou, qualitativa e quantitativamente, as subpopulações das células envolvidas no processo imunológico da hanseníase, comparando as subpopulações linfocitárias antes e após o tratamento com a multidrogaterapia, em pacientes pauci e multibacilares, com o intuito de auxiliar no diagnóstico e melhorar o acompanhamento desses pacientes.

Estudo semelhante foi recentemente realizado por Montezuma (2011), que utilizou citometria de fluxo para investigar as subpopulações linfocitárias em pacientes com e sem formas reacionais de hanseníase. Foram avaliados linfócitos T totais (CD3⁺), T auxiliares (CD4⁺), T citotóxicos (CD8⁺), T (CD4⁺CD8⁺), B (CD19⁺), NK (CD3⁻CD16⁺CD56⁺) e NKT (CD3⁺CD16⁺CD56⁺). O estudo evidenciou que os linfócitos T CD8⁺ estavam reduzidos nos pacientes sem formas reacionais (264 ± 106 células/mm³) quando comparados com os que não apresentaram reação ($427,2 \pm 248,8$ células/mm³). No presente estudo, foram avaliados pacientes com diagnóstico recente, independente de serem ou não formas reacionais, sendo um dos grupos virgem de tratamento, o que reduz a chance de que sejam encontrados pacientes com formas reacionais. É possível, no entanto, que haja, pacientes com formas reacionais no grupo pós-tratamento; estes pacientes não foram analisados de forma isolada porque o objetivo foi analisar o impacto do tratamento nas populações celulares e a relação entre a apresentação clínica (pauci ou multibacilar) com estas populações celulares.

O estudo do perfil epidemiológico da hanseníase em Fortaleza, revelou uma maior frequência na SER V, região com baixos padrões de moradia e higiene, cujo bairro mais acometido é o Bom Jardim, dado este já destacado no trabalho de Montezuma (2011). A hanseníase está associada com baixos padrões de moradia, nutrição inadequada, falta de higiene, aglomerações e presença de piolhos, pulgas, carrapatos e moscas. Este conceito ficou demonstrado, na Noruega, com o

desaparecimento da hanseníase, a partir do controle de pulgas, moscas e piolhos (DUNGAL, 1961). Blake *et al.* (1987) afirmaram que em alguns países os artrópodes não tem função de transmissão do *M. leprae*, todavia em países pobres eles podem servir como vetores ou hospedeiros intermediários para a transmissão do bacilo.

O estudo Saúde Brasil 2010, do Ministério da Saúde, comprova que nos últimos dez anos a detecção de novos casos reduziu em 31,5% em todas as regiões brasileiras, onde o Nordeste é responsável por 16,9%. Essa redução é justificada pela oferta de tratamento nas unidades públicas de saúde e ainda pelo crescimento econômico e pelas melhorias na área social do Brasil (BRASIL, 2011).

Os resultados apresentados, com relação ao sexo dos pacientes, neste estudo, demonstraram maior predominância do sexo masculino (59,4%), como apontado na literatura (MONTEZUMA, 2011). Quanto à forma clínica, um número maior de indivíduos foi classificado com a forma clínica LL com 42 casos (31,58%). A predominância de pacientes do sexo masculino com a forma lepromatosa favorece fortemente a hipótese da existência de reservatórios ambientais, pois tradicionalmente o homem tem mais contato com o meio ambiente do que a mulher (BLAKE *et al.*, 1987; FINE, 1982).

Analisando a frequência quanto à idade dos pacientes, o estudo atual constatou que o maior número de casos da doença foi encontrado na população com idade entre 45 e 54 anos (n= 36), concordando com os achados de Montezuma (2011). A temperatura ótima para a reprodução de *M.leprae* está entre 27°C a 33°C, o que explica sua predileção por áreas mais frias do corpo como a pele, os nervos periféricos e a mucosa das vias aéreas superiores. Na pele, o bacilo se encontra preferencialmente nos macrófagos, enquanto no tecido neural localiza-se nas células de Schwann, onde pode permanecer por longo período de tempo sem estimular uma resposta imunológica (CONCHA *et al.*, 2008). Este fato corrobora para acometer pessoas mais maduras.

De um modo geral, no presente estudo, não foi possível demonstrar diferenças entre as subpopulações linfocitárias estudadas ao serem comparados os grupos antes e após tratamento. No entanto, quando foram analisadas as células NK, níveis reduzidos foram observados no grupo pré-tratamento. Os linfócitos NK participam da imunidade inata, influenciando a resposta imunológica adaptativa e a imunorregulação (POLI *et al.*, 2009). A função das células NK em pacientes com hanseníase não está bem estabelecida. Um dos primeiros estudos realizados sobre

a atividade destas células na hanseníase, mostrou que não houve diferença na atividade das células NK de indivíduos com hanseníase virchowiana ou com as formas dimorfas, comparados aos indivíduos saudáveis, porém mostrou atividade reduzida dos linfócitos NK em pacientes LL com ENH (HUMPHRES; GELBER; KRAHENBUHL, 1982). Estudos posteriores mostraram células NK com baixa atividade em pacientes com hanseníase virchowiana não tratados e não reacionais, quando comparados aos controles normais. Pacientes com reações reversas mostraram atividade normal dessas células, quando foram comparados com a forma *boderline* tuberculoide (BT) (CONVERSE; BJUNE, 1986). Chiplunkar *et al.* (1990) demonstram que as células NK de pacientes com a forma virchowiana não tratados e tratados com multidrogaterapia (MDT) foram menos eficazes em promover a citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC), em comparação com pacientes com a forma tuberculoide ou controles saudáveis. As células NK promovem a depuração dos bacilos de *M. leprae* via citotoxicidade contra macrófagos e células de Schwann infectados. Esta ação pode ser incrementada pela injeção intra-lesional de IL-2 (CHIPLUNKAR *et al.*, 1990; KAPLAN *et al.*, 1989; STEINHOFF *et al.*, 1991). Este conjunto de dados permite considerar que as contagens reduzidas de células NK encontradas nos pacientes com hanseníase poderiam representar uma migração desta população de células para os sítios de lesão na tentativa de promover proteção contra o bacilo. A possibilidade de imunodeficiência especificamente na população de células NK é considerada mais remota, pois estes indivíduos com hanseníase experimentam uma recuperação das contagens de células NK após o tratamento específico da doença.

Estudo recente foi realizado no intuito de avaliar as células NKT em pacientes coinfectados com HIV-1 e *Mycobacterium leprae*, o qual demonstrou que células NKT encontravam-se diminuídas, quando comparados a pessoas do grupo controle e também a pacientes infectados apenas pelo HIV-1. A mediana da contagem de células CD4⁺ realizada neste estudo em pacientes com hanseníase foi de 733 células/mm³, valores estes, inferiores aos encontrados no grupo controle (917 células/mm³) e comparáveis com os encontrados no presente estudo, antes e após tratamento. Este estudo, ainda revelou que a mediana da contagem de células CD8⁺, em pacientes com hanseníase, foi de 526 células/mm³ valores estes, inferiores aos encontrados no grupo controle (556 células/mm³) (CARVALHO *et al.*, 2012). Os valores encontrados para a população com hanseníase são comparáveis

àqueles encontrados no presente estudo, antes e após tratamento. Esse trabalho demonstrou que a imunidade inata é fortemente influenciada pelo espectro de infecções crônicas como pelo *M. leprae* e em indivíduos com HIV-1 que leva a uma redução no número de células NKT. O atual estudo não conseguiu evidenciar tal fato.

Em um estudo retrospectivo, utilizando imunohistoquímica, buscou-se uma nova compreensão da patogênese da hanseníase pesquisando-se a presença, a frequência e a distribuição das células T-reg CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ e das células dendríticas plasmocitoides CD123⁺ em 20 pacientes com hanseníase. Foi evidenciado que 95% dos casos tinham células FoxP3⁺ e, com exceção de dois casos, foi observado positividade focal para CD123. Esse estudo mostrou que as células dendríticas plasmocitoides não estão envolvidas na resposta imune da hanseníase enquanto que as T-reg estão presente nas lesões de pele dos pacientes com hanseníase (MASSONE *et al.*, 2010).

Um outro trabalho avaliando células T variantes circulantes CD4⁺ CD25^{high} FoxP3⁺ em 38 pacientes com diferentes formas clínicas da hanseníase e em 38 controles, usando citometria de fluxo, mostrou elevada expressão com este marcador em pacientes com forma clínica TT quando comparados ao grupo controle. Quando as formas clínicas foram comparadas entre si quanto à presença da célula FoxP3⁺, não houve significância estatística (p=0,149). As células T-reg estão diminuídas em pacientes com a forma LL e fortemente reduzida no ENL. Esses achados permitem vislumbrar uma nova e diferente leitura da patogênese da hanseníase e pode levar ao desenvolvimento de uma nova estratégia terapêutica como, por exemplo, drogas voltadas para as células T-reg (ATTIA *et al.*, 2010).

É importante destacar que, no presente trabalho, foi realizado um estudo transversal e não de coorte. Dessa forma, o grupo de pacientes tratados não é o mesmo grupo de pacientes antes do tratamento. Contudo, as características demográficas dos dois grupos foram semelhantes, o que reforça as comparações realizadas. As características genéticas do indivíduo não foram observadas, pois os estudos que avaliaram genes associados ao HLA não demonstraram que estes genes estejam associados à suscetibilidade à hanseníase, mas, ao padrão clínico da doença (GOULART; PENNA; CUNHA, 2002). Até o presente momento não é de nosso conhecimento que haja outros estudos semelhantes avaliando o impacto do tratamento com multidrogaterapia na distribuição das populações de linfócitos.

6 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo apontam para uma redução na população de células NK (CD3⁻CD16⁺CD56⁺), caracterizadas por técnica de citometria de fluxo, na hanseníase, antes de qualquer intervenção terapêutica. Após o tratamento adequado da hanseníase, há uma recuperação na contagem desta população celular, enquanto as outras subpopulações: linfócitos T totais (CD3⁺), T auxiliares (CD4⁺), T citotóxicos (CD8⁺), T (CD4⁺CD8⁺), B (CD19⁺), e NKT (CD3⁺CD16⁺CD56⁺) mantiveram-se inalteradas. É possível que as células NK estejam envolvidas ativamente na depuração de bacilos numa resposta imunológica inata e precoce, migrando para os sítios de lesão a fim de desempenharem seu papel biológico na destruição de macrófagos e células de Schwann infectadas por *M. leprae*. Estudo posterior, utilizando imunohistoquímica para análise das populações celulares, particularmente de células NK, em biópsias cutâneas de lesões hansênicas, poderá confirmar esta hipótese.

REFERÊNCIAS

- ANTUNES, S. L.; LIANG, Y.; NERI, J. A.; SARNO, E. N.; HAAK-FRENDSCHO, M.; JOHANSSON, O. Mast cell subsets and neuropeptides in leprosy reactions. **Arq. Neuropsiquiatr.**, v. 61, n. 2A, p. 208-219, 2003.
- ATTIA, E. A.; ABDALLAH, M.; SAAD, A. A.; AFIFI, A.; EL TABBAKH, A.; EL-SHENNAWY, D.; ALI, H. B. Circulating CD4⁺ CD25^{high}FoxP3⁺ T cells vary in different clinical forms of leprosy. **Int. J. Dermatol.**, v. 49, n. 10, p. 1152-1158, 2010.
- APOSTOLOU, I.; TAKAHAMA, Y.; BELMANT, C.; KAWANO, T.; HUERRE, M.; MARCHAL, G.; CUI, J.; TANIGUCHI, M.; NAKAUCHI, H.; FOURNIÉ, J. J.; KOURILSKY, P.; GACHELIN, G. Murine natural killer T (NKT) cells [correction of natural killer cells] contribute to the granulomatous reaction caused by mycobacterial cell walls. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 96, p. 5141–5146, 1999.
- ARRUNATEGUI-CORREA, V.; LENZ, L.; KIM, H.S. CD1d-independent regulation of NKT cell migration and cytokine production upon *Listeria monocytogenes* infection. **Cell. Immunol.**, v. 232, p. 38–48, 2004.
- AUTISSIER, P.; SOULAS, C.; BURDO, T. H.; WILLIAMS, K. C. Immunophenotyping of lymphocyte, monocyte and dendritic cell subsets in normal rhesus macaques by 12-color flow cytometry: Clarification on DC heterogeneity. **J. Immunol. Methods**, v. 360, p.119–128, 2010.
- BARRERA, S.; FINIASZ, M.; FINK, S.; ILARREGUI, J.; ALEMÁN, M.; OLIVARES, L.; FRANCO, M. C.; PIZZARIELLO, G.; SASIAIN, M. DEL C. NK cells modulate the cytotoxic activity generated by *Mycobacterium leprae* -hsp65 in leprosy patients: role of IL-18 and IL-13. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 135, n. 1, p. 105–113, 2004.
- BAUMGARTH, N.; ROEDERER, M. A practical approach to multicolor flow cytometry for immunophenotyping. **J. Immunol. Methods**, v. 243 p.77–97, 2000.
- BENDELAC, ARIVERA, M. N.; PARK, SE-HO.; ROARK, J. H. Mouse CD1¹ specific NK1T cells: developm.; ent, specificity, and function. **Ann. Rev. Immunol.**, v. 15, p. 535–562, 1997.
- BÍBLIA. Português. Êxodo, capítulo 4, versículo 6.In.:_____. **Bíblia de Jerusalém**. São Paulo: Paulus, 2002. p.107.
- BLAKE, L. A.; WEST, B. C.; LARY, C. H.; TODD, JR. I. V. Environmental nonhumam sources of leprosy. **Rev. Infect. Dis.**, v. 9, n. 3, p. 562-577, 1987.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Hanseníase e direitos humanos: direitos e deveres dos usuários do SUS**. Brasília, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de procedimentos técnicos**: baciloscopia em hanseníase. Brasília, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Saúde Brasil 4**. Brasília , 2011.

BRIGHTBILL, H. D.; LIBRATY, D. H.; KRUTZIK, S. R.; YANG, R. B.; BELISLE, J.T.; BLEHARSKI, J. R.; MAITLAND, M.; NORGDARD, M. V.; PLEVY S. E.; SMALE, S. T.; BRENNAN, P. J.; BLOOM, B. R.; GODOWSKI, P. J.; MODLIN, R. L. Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. **Science**, v. 285, p.732-736, 1999.

BROWNE, S. G. Leprosy--an imported disease. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 64, n. 2, p. 223-227, 1970.

CALIGIURI, M. Human natural killer cells. **Blood**, v.112, p. 461–469, 2008.

CARVALHO, K.I.; BRUNO,F.R.; SNYDER-CAPPIONE,J.E.; MAEDA, S.M.; TOMIMORI,J.; XAVIER, M.B.; HASLETT,P.A.; NIXON,D.F.; KALLAS,E.G. Lower numbers of Natural killer T cells in HIV-1 and Mycobacterium leprae coinfecting patients. **Immunology** “Accepted Article”; doi: 10.1111/j.1365-2567.2012.03563.x

CEARÁ. Secretaria de Saúde. Situação Epidemiológica de Hanseníase no Ceará. **Inf. Epidemiol. Hanseníase**, jun. 2011. Disponível em: <<http://portal.saude.ce.gov.br/saude>>. Acesso em: 24 nov. 2011.

CEARÁ. Secretaria de Saúde. Situação Epidemiológica de Hanseníase no Ceará. **Inf. Epidemiol. Hanseníase**, jan. 2012. Disponível em: <<http://portal.saude.ce.gov.br/saude>>. Acesso em: 18 abr. 2012.

CHATTREE, V.; KHANNA, N.; BISHT, V.; RAO, D. N. Inhibition of apoptosis, activation of NKT cell and upregulation of CD40 and CD40L mediated by M. leprae antigen(s) combined with Murabutide and Trt peptide in leprosy patients. **Mol. Cell. Biochem.**, v. 309, n.1-2, p. 87–97, 2008.

CHIPLUNKAR, S. V.; DESHMUKH, M. V.; SAMSON, P. D.; BUTLIN, R.; BHATKI, W. S.; CHULAWALLA, R. G.; DEO, M. G.; GANGAL, S. G. Natural killer-cell-mediated and antibody-dependent cellular cytotoxicity in leprosy. **Int. J. Lepr. Other. Mycobact. Dis.**, v. 58, n. 2, p. 334-341, 1990.

CALLEGARO FILHO, D.; SHRESTHA, N.; BURDICK, A. E.; HASLETT, P. A. A potential role complement in immune evasion by *Mycobacterium leprae* **J. Drugs Dermatol.**, v. 9, n.11, p. 1373-1382, 2010.

CONCHA, R. M.; COSSIO T., M. L.; SALAZAR S., I.; FICH S., F.; PÉREZ C., C.; GONZÁLEZ B., S. Enfermedad de Hansen: revisión a propósito de um caso. **Rev. Chil. Infectol.**, v. 25, n. 1, p. 64-69, 2008.

CONVERSE, P. J.; BJUNE, G. Natural killer (NK) cell activity and reversal reaction in leprosy. **Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.**, v. 54, n. 4, p. 503-509, 1986.

COOPER, M. A.; FEHNIGER, T. A.; CALIGIURI, M. A. The biology of human natural killer-cell subsets. **Trends Immunol.**, v. 22, p. 633–640, 2001.

CREE, I. A.; COGHILL, G.; SWANSON BECK, J. Mast cells in leprosy skin lesions. **J. Clin. Pathol.**, v. 43, n. 3, p. 196-200, 1990.

DATH, C.; DETHY, A.; VAN LANGENDONCKT, A.; VAN EYCK, A. S.; AMORIM, C. A.; LUYCKX, V.; DONNEZ, J.; DOLMANS, M. M. Endothelial cells are essential for ovarian stromal tissue restructuring after xenotransplantation of isolated ovarian stromal cells. **Hum. Reprod.**, v. 26, n. 6, p. 1431-1439, 2011.

DUNGAL, N. Is leprosy transmitted by arthropods? **Lepr. Rev.**, v. 32, p. 28-35, 1961.

DURIE, F. H.; FOY, T. M.; MASTERS, S. R.; LAMAN, J. D.; NOELLE, R. J. The role of CD40 in the regulation of humoral and cell-mediated immunity. **Immunol. Today**, v. 15, n. 9, p. 406-411, 1994.

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

FAILACE, R. **Hemograma:** manual de interpretação. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2003.

FINE, P. E. Leprosy: the epidemiology of a slow bacterium. **Epidemiol. Rev.**, v. 4, p. 161-188, 1982.

GOULART, I. M., PENNA, O. G., CUNHA, G. Immunopathology of leprosy: the complexity of the mechanisms of host immune response to *Mycobacterium leprae*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 35, n. 4, p. 365-375, 2002.

HUMPHRES, R. C.; GELBER, R. H.; KRAHENBUHL, J. L. Suppressed natural killer cell activity during episodes of erythema nodosum leprosum in lepromatous leprosy. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 49, n. 3, p. 500-508, 1982.

HYODO, Y.; MATSUI, K.; HAYASHI, N.; TSUTSUI, H.; KASHIWAMURA, S.; YAMAUCHI, H.; TAKEDA, K.; TAGAWA, Y.; IWAKURA, Y.; KAYAGAKI, N.; KURIMOTO, M.; OKAMURA, H.; HADA, T.; YAGITA, H.; AKIRA, S.; NAKANISHI, K.; HIGASHINO, K. IL-18 upregulates perforin mediated NK activity without increasing perforin messenger RNA expression by binding constitutively expressed IL-18 receptor. **J. Immunol.**, v. 162, n. 3, p. 1662–1668, 1999.

ILHAN, F.; CICEK, D.; GÖDERKMERDAN, A.; TAHRAN, G.; BULUT, V. CD5+ B cells rati in lepromatous leprosy. **J. Clin. Diag. Res.**, v. 1, p. 138-142, 2007.

IM, J. S.; KANG, T. J.; LEE, S. B.; KIM, C. H.; LEE, S. H.; VENKATASWAMY, M. M.; SERFASS, E. R.; CHEN, B.; ILLARIONOV, P. A.; BESRA, G. S.; JACOBS JR., W. R.; CHAE, G. T.; PORCELLI, S. A. Alteration of the relative levels of iNKT cell subsets is associated with chronic mycobacterial infections **Clin. Immunol.**, v. 127, n. 2, p. 214–224, 2008.

IYER, A. M. **Immunopathology of leprosy**: towards the search for diagnostic and prognostic biomarkers in elucidating pathobiology and their utility in patient care. 2009. 170f. Thesis - Department of Pathology, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, 2009.

JANEWAY JR., C. A.; MEDZHITOV, R. Innate immune recognition. **Ann. Rev. Immunol.**, v. 20, p. 197–216, 2002.

JAYALAKSHMI, P. Mast cells in lepromatous leprosy. **Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.**, v. 63, n. 2, p. 291-293, 1995.

KAPLAN, G.; KIESSLING, R.; TEKLEMARIAM, S.; HANCOCK, G.; SHEFTEL, G.; JOB, C. K.; CONVERSE, P.; OTTENHOFF, T. H. M.; BECX-BLEUMINK, M.; DIETZ, M.; COHN, Z. A. The reconstitution of cell-mediated immunity in the cutaneous lesions of lepromatous leprosy by recombinant interleukin 2. **J. Exp. Med.**, v.169, p. 893–907, 1989.

KERN, W.; HAFERLACH, C.; SCHNITTGER, S.; HAFERLACH, T. Clinical utility of multiparameter flow cytometry in the diagnosis of 1013 patients with suspected myelodysplastic syndrome. Correlation to cytomorphology, cytogenetics, and clinical data. **Cancer**, v. 116, n. 19, p. 4549–4563, 2010.

KIMURA, H.; MAEDA, Y.; TAKESHITA, F.; TAKAOKA, L. E.; MATSUOKA, M.; MAKINO, M. Upregulation of T-cell-stimulating activity of mycobacteria infected macrophages. **Scand. J. Immunol.**, v.60, n. 3, p. 278–286, 2004.

KRUTZIK, S. R.; OCHOA, M. T.; SIELING, P. A.; UEMATSU, S.; NG, Y. W.; LEGASPI, A.; LIU, P. T.; COLE, S. T.; GODOWSKI, P. J.; MAEDA, Y.; SARNO, E. N.; NORGDARD, M. V.; BRENNAN, P. J.; AKIRA, S.; REA, T. H.; MODLIN, R. L. Activation and regulation of Toll-like receptors 2 and 1 in human leprosy. **Nat. Med.**, v. 9, n. 5, p. 525-532, 2003.

LEE, P. S.; LIN, C. N.; CHUANG, S. S. Immunophenotyping of angioimmunoblastic t-cell lymphomas by multiparameter flow cytometry. **Pathol. Res. Pract.**, v.199, 539–545, 2003.

LOCKWOOD, D. N. J. Leprosy. In: BURNS, D. A.; BREATHNACH, S. M.; COX, N. H.; GRIFFITHS, C. E. M. (Eds.). **Rook's textbook of dermatology**. 7th ed. Oxford: Blackwell, 2004. p. 29.1 -29.21.

LONG, E.O. Regulation of immune responses through inhibitory receptors. **Ann. Rev. Immunol.**, v. 17, p. 875–904, 1999.

MACLENNAN, I. C. Germinal centers. **Ann Rev. Immunol.**, v. 12, p. 117-139, 1994.

MANETTI, R.; GEROSA, F.; GIUDIZI, M. G.; BIAGIOTTI, R.; PARRONCHI, P.; PICCINNI, P-M.; SAMPOGNARO, S.; MAGGI, E.; ROMAGNONI, S.; TRINCHIERI, G. Interleukin 12 induces stable priming for interferon g (IFN-g) production during differentiation of human T helper (Th) cells and transient IFN-g production in established Th2 cell clones. **J. Exp. Med.**, v. 179, n. 4, p. 1273-1283, 1994.

MASSONE, C.; NUNZI, E.; RIBEIRO-RODRIGUES, R.; TALHARI, C.; TALHARI, S.; SCHETTINI, A. P.; PARENTE, J. N.; BRUNASSO, A. M.; PUNTONI, M.; CLAPASSON, A.; NOTO, S.; CERRONI, L. T. Regulatory cells and plasmacytoid dendritic cells in Hansen Disease: a new insight into pathogenesis? **Am. J. Dermatopathol.**, v.32, n. 3, p. 251-256, 2010.

MCHEYZER-WILLIAMS, L. J.; MCHEYZER-WILLIAMS, M. G. Antigen-specific memory B cell development. **Ann. Rev. Immunol.**, v. 23, p. 487-513, 2005.

MENDONÇA, V. A.; MELO, G. E. B. A.; TEIXEIRA, M. M.; MARTINS-FILHO, O. A.; ANTUNES, C. M.; TEIXEIRA, A. L. Análise de receptores de quimiocinas na superfície de leucócitos de indivíduos infectados pelo *Mycobacterium leprae*: resultados preliminares. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 41, supl. 2, p. 95-98, 2008.

MERCER, J.C.; RAGIN, M.J.; AUGUST, A. Natural killer T cells: rapid responders controlling immunity and disease. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, v. 37, p. 1337–1343, 2005.

MIRA, M. T.; ALCAÏS, A.; NGUYEN, V. T.; MORAES, M. O.; DI FLUMERI, C.; VU, H. T. *et al.* Susceptibility to leprosy is associated with PARK2 and PACRG. **Nature**, v.12, n. 427, p. 636–640, 2004.

MODLIN, R. L. The innate immune response in leprosy. **Curr. Opin. Immunol.**, v. 22, n. 1, p. 48-54, 2010.

MONTEZUMA, B. O. X. **Subpopulações de linfócitos em pacientes com formas reacionais de hanseníase atendidos no Centro de Dermatologia D. Libânia, em Fortaleza-CE.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

MORAES, M.O.; CARDOSO, C. C.; VANDERBORGHT, P. R.; PACHECO, A. G. Genetics of host response in leprosy. **Lepr. Rev.**, v. 77, n. 3, p. 189-200, 2006.

MORETTA, A.; BOTTINO, C.; VITALE, M.;PENDE, D.; CANTONI, C.; MINGARI, M. C.; BIASSONI, R.; MORETTA, L. Activating receptors and coreceptors involved in human natural killer cell-mediated cytotoxicity. **Ann. Rev. Immunol.**, v. 19, p. 197–223, 2001.

NAKAGE, A. P. M.; SANTANA, A. E.; CÁPUA, M. L. B.; COELHO, P. S. Metodologia e aplicação da citometria de fluxo na hematologia veterinária. **Ciênc. Rural**, v. 35, n. 4, p. 966-973, 2005.

NOORDEEN, S. K. Leprosy control through multidrug therapy (MDT). **Bull. World Health Organ.**, v. 69, n. 3, p. 263-269, 1991.

OLIVEIRA, R. B.; MORAES, M. O.; OLIVEIRA, E. B.; SARNO, E. N, NERY, J. A.; SAMPAIO, E. P. Neutrophils isolated from leprosy patients release TNF-alpha and exhibit accelerated apoptosis in vitro. **J. Leukoc. Biol.**, v.65, n.3, p.364-371, 1999.

OWENS, M.A.; VALL, H. G.; HURLEY, A. A.; WORMSLEY, S. B. Validation and quality control of immunophenotyping in clinical flow cytometry. **J. Immunol. Methods**, v. 243, p. 33–50, 2000.

POLI, A.; MICHEL, T.; THÉRÉSINE, M.; ANDRÈS, E.; HENTGES, F.; ZIMMER, J. CD56bright natural killer (NK) cells: an important NK cell subset. **Immunology**, v. 126, p. 458–465, 2009.

RONET, C.; DARCHE, S.; LEITE DE MORAES, M.; MIYAKE, S.; YAMAMURA, T.; LOUIS, J. A.; KASPER, L. H.; BUZONI-GATEL, D. NKT cells are critical for the initiation of an inflammatory bowel response against *Toxoplasma gondii*. **J. Immunol.**, v. 175, N. 2, p. 899–908, 2005.

RIDLEY, D. S.; JOPLING, W. H. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. **Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.**, v. 34, n. 3, p. 255-273, 1966.

SCHEPERS, K.; ARENS R.; SCHUMACHER, T. N. M. Dissection of cytotoxic and helper T cell responses. **Cell. Mol. Life Sci.**, v. 62, p. 2695–2710, 2005.

SCHWONZEN, M.; DIEHL, V.; DELLANNA, M.; STAIB, P. Immunophenotyping of surface antigens in acute myeloid leukemia by flow cytometry after red blood cell lysis. **Leukemia Research**, v. 31, n. 1, p. 113–116, 2007.

SCOLLARD, D. M.; ADAMS, L. B.; GILLIS, T. P.; KRAHENBUHL, J. L.; TRUMAN, R. W.; WILLIAMS, D. L. The continuing challenges of leprosy. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 19, n. 2, p. 338-381, 2006.

SEINO, K.; MOTOHASHI, S.; FUJISAWA, T.; NAKAYAMA, T.; TANIGUCHI, M. Natural killer T cell-mediated antitumor immune responses and their clinical applications. **Cancer Sci.**, v. 97, n. 9, p. 807–812, 2006.

STEINHOFF, U.; WAND-WÜRTTENBERGER, A.; BREMERICH, A.; KAUFMANN, S. H. *Mycobacterium leprae* renders Schwann cells and mononuclear phagocytes susceptible or resistant to killer cells. **Infect. Immun.** v. 59, n. 2, p. 684–688, 1991.

STEWART, C. A.; VIVIER, E.; COLONNA, M. Strategies of natural killer cell recognition and signaling. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.** v. 298, p. 1–21, 2006.

TALHARI, S.; NEVES, R. G. **Dermatologia tropical: hanseníase**. 3. ed. Manaus, AM: Tropical, 1997.

TAN, S. Y.; GRAHAM, C. Armauer Hansen (1841-1912): discoverer of the cause of leprosy. **Singapore Med. J.**, v. 49, n. 7 , p. 520-521, 2008.

TECHNICAL Resolutions on Classification 6th International Congress Leprosy, Madrid 1953. **Int. J. Lepr.**, v. 21, p 504-516, 1953.

TRINCHIERI, G. Interleukin-12: a cytokine produced by antigen-presenting cells with immunoregulatory functions in the generation of T-helper cells type 1. **Blood**, v. 84, p. 4008- 4027, 1994.

VAN BRAKEL, W.H. Peripheral neuropathy in leprosy and its consequences. **Lepr. Rev.**, v. 71, suppl., p. S146-153, 2000.

VILCHES, C.; PARHAM, P. KIR: diverse, rapidly evolving receptors of innate and adaptive immunity. **Ann. Rev. Immunol.**, v. 20, p. 217–251, 2002.

WEBSTER, R. L.; JOHNSON, R. P. Delineation of multiple subpopulations of natural killer cells in rhesus macaques. **Immunology**, v. 115, p. 206–214, 2005.

APÊNDICES

APÊNDICE A – INFORMAÇÕES DOS PACIENTES ESTUDADOS – ANTES DO TRATAMENTO

Leucograma		CRF	CITOMETRIA							Sexo	Idade em anos	Bairro	Regional	Classificação OMS	Tratamento	Forma Clínica Ridley-Jopling	Índice Baciloscópico
Leuc. (/mm ³)	Linf (%)		CD3+ (/mm ³) "T"	CD4+ (/mm ³)	CD8+ (mm3)	CD4+ CD8+ (/mm3)	CD3 ⁺ NK ⁺ (/mm3)	CD19+ (/mm ³)	CD3- CD16+CD56+ (/mm3)								
4.500	20	646	544	421	120	10	12	158	182	F	56	Carlito Pamplona	1	MB	MB- ainda não foi randomizado	VV	3,75
5.600	38	647	1655	1309	363	34	292	245	194	M	59	Parangaba	4	MB	MB- ainda não foi randomizado	VV	2,50
7.100	25	648	1496	886	479	50	138	138	142	M	56	Jereissati I	Maracanaú	MB	MB- ainda não foi randomizado	DD	3,50
1800	31	640	382	276	96	6	30	21	150	F	53	Serrinha	4	MB	MB- ainda não foi randomizado	VV	1,80
3700	32	653	622	486	121	7	20	152	298	F	43	Jangurussu	6	MB	MB- Ainda não foi randomizado	DT	4,00
6500	32	657	1793	1090	749	85	104	177	90	M	39	Canindezinho	5	MB	MB- ainda não foi randomizado	DT	0,00
4200	32	656	913	515	344	5	236	379	63	M	51	Parque Santa Filomena	5	MB	MB- ainda não foi randomizado	Dimorfa	0,25
5600	31	654	1353	691	555	14	129	254	114	M	26	Planalto Airton Senna	5	MB	MB NÃO RANDOMIZADO 12 doses	BB	2,50
7800	24,4	668	1441	985	446	54	209	306	134	F	55	Salinas	2	MB	MB- Ainda não foi randomizado	BT	4,50
5440	22	680	819	600	167	8	67	175	169	M	37	Jacarecanga	1	MB	MB- Ainda não foi randomizado	BL	3,75
5340	35,2	681	1112	845	262	18	35	305	463	M	35	Canidezinho	5	MB	MB- Ainda não foi randomizado	BB	0,00
8790	14,5	683	1009	557	430	19	122	160	119	F	28	Jardim Iracema	1	PB	MB- Ainda não foi randomizado	TT	0,00
5130	49	682	2061	943	870	73	51	251	44	M	55	Santa Cecília	6	MB	MB- Ainda não foi randomizado	HL	4,00

Leucograma		CITOMETRIA								Sexo	Idade em anos	Bairro	Regional	Classificação OMS	Tratamento	Forma Clínica Ridley-Jopling	Índice Bsciloscópico
Leuc. (/mm ³)	Linf (%)	CRF	CD3+ (/mm ³) "T"	CD4+ (/mm ³)	CD8+ (mm3)	CD4+ CD8+ (/mm3)	CD3 ⁺ NK ⁺ (/mm3)	CD19+ (/mm ³)	CD3- CD16+CD56+ (/mm3)								
8580	32	684	2004	1013	645	4	62	247	114	F	49	Jardim Guanabara	1	MB	MB- Ainda não foi randomizado	BT	1,40
4570	32	686	1185	620	398	7	35	205	15	F	34	Bom Jardim	5	MB	MB- Ainda não foi randomizado	BT	0,00
9100	24	685	1579	1112	413	9	0	422	153	M	36	Conjunto Jereissati	Maracanaú	MB	MB- Ainda não foi randomizado	BT	0,00
6690	25	687	1321	694	470	4	24	184	33	M	25	João XXIII	3	MB	MB- Ainda não foi randomizado	BB	3,25
4500	37	673	1121	812	273	5	70	372	216	M	64	Antônio Bezerra	3	MB	MB- Ainda não foi randomizado	LL	5,00
7300	25	660	1061	780	260	15	16	311	405	M	41	Jardim Guanabara	1	MB	MB- Ainda não foi randomizado	LL	2,80

APÊNDICE B – INFORMAÇÕES DOS PACIENTES ESTUDADOS – APÓS TRATAMENTO

Leucograma		CRF	CITOMETRIA							Sexo	Idade em anos	Bairro	Regional	Classificação OMS	Tratamento	Forma Clínica Ridley-Jopling	Índice Baciloscópio
Leuc. (/mm ³)	Linf (%)		CD3+ (/mm ³)	CD4+ (/mm ³)	CD8+ (mm3)	CD4+ CD8+ (/mm ³)	CD3 ⁺ NK ⁺ (/mm ³)	CD19+ (/mm ³)	CD3- CD16+CD56+ (/mm ³)								
5.800	28	605	678	459	197	6	54	207	734	M	53	Vicente Pizon	2	MB	MB U-MDTU 6 doses	DV	4,80
6.300	35	405	1643	1112	511	30	89	396	183	M	55	Jardim Iracema	1	MB	MB U-MDTU 6 doses	DV	1,40
6.000	33	395	1223	907	335	42	49	250	495	F	53	Barroso I	6	MB	MB R-MDT 12 doses	DT	0,00
3.500	32	232	754	505	231	8	61	229	151	M	57	Conj. São Miguel	Caucaia	MB	MB U-MDTU 6 doses	DD	1,00
7100	27	390	1434	1018	401	30	116	276	178	M	58	Passaré	6	MB	MB U-MDTU 6 doses	VV	6,00
10.000	10	593	577	285	273	6	63	219	122	M	33	Messejana	6	MB	MB U-MDTU 6 doses	VV	2,80
6500	37	126	1449	961	353	8	102	797	124	M	35	Parque Genibaú	5	MB	MB U-MDTU 6 doses	VV	4,00
6300	23	418	844	500	302	5	53	166	401	M	64	Bom Jardim	5	MB	MB R-MDT 12 doses	DT	0,00
6300	25	589	958	621	289	4	13	236	362	M	43	Quintino Cunha	3	MB	MB U-MDTU 6 doses	LL	4,00
9000	6	95	240	158	69	5	31	81	204	M	51	Siqueira	5	MB	MB U-MDTU 6 doses	DT	0,00
14400	13	396	1485	789	667	50	323	195	189	F	46	Vila União	4	MB	MB R-MDT 12 doses	VV	5,25
5600	6	611	260	173	80	3	19	54	25	M	52	Boa Vista/ Castelão	6	MB	MB U-MDTU 6 doses	VV	0,40
8500	25	37	1539	1050	445	33	91	168	332	F	22	Granja Portugal	5	MB	MB R-MDT 12 doses	DT	0,00

Leucograma		CRF	CITOMETRIA							Sexo	Idade em anos	Bairro	Regional	Classificação OMS	Tratamento	Forma Clínica Ridley-Jopling	Índice Baciloscópio
Leuc. (/mm ³)	Linf (%)		CD3+ (/mm ³)	CD4+ (/mm ³)	CD8+ (mm3)	CD4+ CD8+ (/mm3)	CD3 ⁺ NK ⁺ (/mm ³)	CD19+ (/mm ³)	CD3- CD16+CD56+ (/mm3)								
9200	26	618	1536	936	472	23	35	331	429	M	45	Alagadiço Novo	6	MB	MB U-MDTU 6 doses	VV	4,00
7400	22	564	1212	913	292	21	64	248	113	F	42	Canindezinho	5	MB	MB U-MDTU 6 doses	DV	0,40
7500	44	587	2018	1308	655	61	121	358	837	M	39	Parangaba	6	MB	MB U-MDTU 6 doses	DV	5,00
11000	3	309	199	144	56	5	32	6	93	F	49	Parque Potira	Caucaia	MB	MB R-MDT 12 doses	LL	5,00
11800	11	420	1128	160	970	12	928	221	87	M	30	Messejana	6	MB	MB U-MDTU 6 doses	VV	4,00
5800	33	602	1279	589	601	15	131	342	269	M	22	Passaré	6	MB	MB U-MDTU 6 doses	LL	4,80
5900	26	462	1062	728	265	6	46	316	94	F	14	Bom Jardim	5	MB	MB U-MDTU 6 doses	BT	0,50
5900	39	614	1688	1317	347	8	46	283	357	F	60	Água Fria	6	MB	MB U-MDTU 6 doses	DV	1,60
5700	38	305	1366	998	336	25	95	273	553	F	55	Jardim Iracema	1	MB	MB R-MDT 12 doses	DT	0,00
14000	29	622	2689	1071	1632	131	474	281	1037	M	38	Quintino Cunha	3	MB	MB U-MDTU 6 doses	LL	4,00
6300	29	616	1283	854	402	14	85	243	368	F	48	Serrinha	4	MB	MB U-MDTU 6 doses	DD	0,00
6900	32	619	1240	807	435	29	58	194	722	M	50	Bom Sucesso	3	MB	MB U-MDT 6 doses	LL	4,25
6500	30	307	1276	932	327	13	23	217	265	M	56	Centro	Centro	MB	MB R-MDT 12 doses	DT	0,00
17900	24	521	2744	1802	859	0	112	1376	393	M	19	Conjunto Alto Alegre	6	MB	MB R-MDT 12 doses	LL	3,00

Leucograma		CRF	CITOMETRIA							Sexo	Idade em anos	Bairro	Regional	Classificação OMS	Tratamento	Forma Clínica Ridley-Jopling	Índice Baciloscópio
Leuc. (/mm ³)	Linf (%)		CD3+ (/mm ³)	CD4+ (/mm ³)	CD8+ (mm3)	CD4+ CD8+ (/mm3)	CD3 ⁺ NK ⁺ (/mm3)	CD19+ (/mm ³)	CD3- CD16+CD56+ (/mm3)								
5900	32	554	1613	1016	642	90	165	68	168	M	58	Aracapé	5	MB	MB R-MDT 12 doses	BT	2,00
9300	31	519	2057	1425	533	7	114	587	180	F	31	Santa Cecília	6	MB	MB U-MDTU 6 doses	Dimorfa	4,00
5100	31	594	1154	369	742	11	38	99	66	M	63	Prefeito José Walter	5	MB	MB U-MDT 6 doses	BL	4,50
6500	36	297	1911	1221	606	11	33	241	117	M	48	Conj.Palmeiras	6	PB	MB U-MDT 12 DOSES	TT	0,00
11900	34	291	2305	1557	693	70	163	1069	645	F	16	Bom Jardim	5	MB	PB R-MDT 12 doses	LL	1,50
5300	19	340	776	481	257	16	106	63	180	M	51	João XXIII	3	MB	MB U-MDT 6 doses	LL	0,00
10000	10	485	660	277	369	33	161	94	223	M	52	Bom Jardim	5	MB	MB R-MDT 12 DOSES	LL	2,00
5400	28	585	1128	744	367	15	15	201	149	M	17	Pq. Santa Cecília	6	MB	MB R-MDT 12 doses	LL	2,80
5600	30	334	870	591	238	8	38	311	506	M	33	Parangaba	4	MB	MB R-MDT 12 doses	LL	0,00
5200	30	323	1287	919	331	19	49	163	67	F	48	Planalto PICI	3	MB	MB R-MDT 12 doses	BL	0,00
6100	20	630	1044	530	417	7	71	85	84	M	39	Parque Genibaú	5	MB	MB U-MDT 6 doses	LL	4,80
5400	31	628	1208	920	282	15	46	341	70	F	45	Pq. Santa Rosa	5	MB	MB U-MDT 6 doses	BT	0,00
6800	30	135	1476	1011	402	12	42	327	242	M	20	José Walter	5	MB	PB R-MDT 6 doses	BT	0,00
5000	26,2	469	850	496	329	14	86	204	225	M	60	Varjota	2	MB	MB R-MDT 12 doses	BL	3,20

Leucograma		CRF	CITOMETRIA							Sexo	Idade em anos	Bairro	Regional	Classificação OMS	Tratamento	Forma Clínica Ridley-Jopling	Índice Baciloscópico
Leuc. (/mm ³)	Linf (%)		CD3+ (/mm ³) "T"	CD4+ (/mm ³)	CD8+ (mm3)	CD4+ CD8+ (/mm3)	CD3 ⁺ NK ⁺ (/mm3)	CD19+ (/mm ³)	CD3- CD16+CD56+ (/mm3)								
7800	50,6	71	2908	1882	1049	127	278	705	336	F	54	Bom Jardim	5	MB	MB U-MDT 6 DOSES	BT	1,50
5400	26,6	199	998	710	232	9	56	255	139	M	40	Castelão	6	MB	MB U-MDT 6 DOSES	LL	5,00
5400	19,3	596	789	449	347	42	136	127	110	F	49	Bom Jardim	5	MB	MB R-MDT 12 doses	BB	1,75
6000	17,8	453	766	531	178	7	55	196	110	M	34	Bom Jardim	5	MB	MB R-MDT 12 doses	LL	5,00
5000	36,2	454	1208	718	466	18	110	242	320	M	46	Parque Alto Alegre	5	MB	MB R-MDT 12 doses	LL	1,50
5600	31,5	79	1449	923	479	14	92	192	106	F	48	Planalto Airtton Sena	5	MB	MB U-MDT 6 doses	BT	0,00
8300	25,1	474	1575	1070	418	16	224	130	362	M	37	Padre Andrade	3	MB	MB R-MDT 12 doses	LL	5,00
8900	10,6	527	603	259	288	6	116	187	149	F	42	Parque Santo Amaro(Bom Jardim)	5	MB	PB R-MDT 6 doses	BT	0,00
9400	20,5	582	1515	919	259	6	103	137	204	M	50	Bom Jardim	5	MB	MB U-MDT 6 doses	BL	1,75
6600	39,4	627	1771	1331	471	49	111	409	349	M	45	Montese	4	MB	MB U-MDT 6 doses	BB	3,25
6800	30,6	448	1672	1091	529	27	110	261	147	F	46	Quintino Cunha	3	PB	PB U-MDT 6 doses	TT	0,00
17600	5,6	580	694	436	233	13	36	258	25	M	26	Planalto Pici	3	MB	MB R-MDT 12 doses	LL	5,20
12300	17,6	563	1675	1167	511	50	115	277	204	F	53	Granja Portugal	5	MB	MB R-MDT 12 doses	BT	0,00
11100	17,8	437	1482	1074	400	37	23	260	236	M	35	Genibaú	5	MB	MB R-MDT 12 doses	BT	2,75

Leucograma		CRF	CITOMETRIA							Sexo	Idade em anos	Bairro	Regional	Classificação OMS	Tratamento	Forma Clínica Ridley-Jopling	Índice Baciloscópio
Leuc. (/mm ³)	Linf (%)		CD3+ (/mm ³)	CD4+ (/mm ³)	CD8+ (mm3)	CD4+ CD8+ (/mm ³)	CD3 ⁺ NK ⁺ (/mm ³)	CD19+ (/mm ³)	CD3- CD16+CD56+ (/mm ³)								
5100	19,9	315	750	401	330	13	51	52	187	M	65	Conjunto Ceará	5	MB	MB U-MDT 6 doses	BB	3,40
9600	19,9	552	1443	1126	220	20	43	129	331	F	42	Canidezinho	5	MB	MB U-MDT 6 doses	BB	4,00
13000	1,6	451	140	108	30	1	3	48	18	M	55	Bom Jardim	5	MB	MB R-MDT 12 doses	LL	3,75
7800	29,3	18	1972	1442	475	15	89	34	261	F	58	Bom Jardim	5	PB	PB R-MDT 12 doses	TT	0,00
5000	28,7	29	1177	757	375	9	99	147	82	F	30	Jardim Guanabara	1	MB	MB R-MDT 12 doses	BT	0,00
12000	25,2	626	2282	1636	633	23	195	692	57	F	61	Parquelândia	3	MB	MB U-MDT 6 doses	BB	0,00
7000	26,5	633	1562	926	560	6	45	226	48	M	28	Parque Rio Branco	3	MB	MB U-MDT 6 doses	BL	4,00
6600	18,5	612	815	516	272	24	29	212	144	F	35	Parangaba	4	MB	MB U-MDT 6 doses	LL	3,75
13000	12,9	300	1304	814	433	22	27	210	77	M	27	Barra do Ceará	1	MB	MB U-MDT 6 doses	BT	0,00
8900	29,5	471	1929	1420	537	57	93	307	360	F	39	Henrique Jorge	6	MB	MB R-MDT 12 doses	BT	1,75
5900	30,2	445	1351	987	330	7	88	256	173	M	54	Granja Portugal	5	MB	MB U-MDT 6 doses	BB	0,40
8100	27,9	152	1694	1280	382	24	125	333	208	F	43	Alvaro Weyne	1	MB	MB U-MDT 6 doses	BT	1,00
5200	27,8	338	1171	812	321	17	41	125	130	F	27	Alvorada	6	MB	MB R-MDT 12 doses	LL	4,25
9900	21,4	346	1560	1016	477	19	136	215	319	F	35	Aldeota	2	MB	MB U-MDT 6 doses	BT	1,75

Leucograma		CRF	CITOMETRIA							Sexo	Idade em anos	Bairro	Regional	Classificação OMS	Tratamento	Forma Clínica Ridley-Jopling	Índice Baciloscópico
Leuc. (/mm ³)	Linf (%)		CD3+ (/mm ³) "T"	CD4+ (/mm ³)	CD8+ (mm3)	CD4+ CD8+ (/mm3)	CD3 ⁺ NK ⁺ (/mm3)	CD19+ (/mm ³)	CD3- CD16+CD56+ (/mm3)								
10064	8,8	494	486	360	117	13	44	94	307	M	49	Bom Jardim	5	MB	MB U-MDT 6 doses	LL	5,50
9020	25,1	635	1888	1269	678	99	118	136	222	M	47	Vila União	4	MB	MB U-MDT 6 doses	BL	4,25
6790	42,4	574	2034	1457	526	38	127	684	134	F	40	Praia do Futuro	2	MB	MB U-MDT 6 doses	BB	0,00
7670	26,0	598	1381	785	484	28	108	182	431	M	31	Granja Portugal	5	MB	MB R-MDT 12 doses	BL	4,75
8480	37,6	409	1967	1071	779	46	125	896	257	F	20	Passaré	6	MB	MB R-MDT 12 doses	BB	0,00
5710	26,9	638	1150	692	328	20	64	203	127	M	30	Messejana	6	MB	MB U-MDT 6 doses	BL	4,00
10150	10,5	604	656	373	284	13	59	172	249	M	58	Parque Santana (mondunbim)	5	MB	MB R-MDT 12 doses	BB	2,75
6590	20,4	642	905	717	180	18	21	220	116	F	44	Santa Cecília	6	MB	MB U-MDT 6 doses	BB	4,00
7280	25,9	603	1339	863	456	24	149	256	195	F	38	Meireles	2	MB	MB R-MDT 12 doses	BT	0,00
5900	29,6	449	1164	727	371	13	92	351	197	M	15	Montese	4	MB	MB U-MDT 6 doses	BB	1,80
7250	33,4	496	1907	1389	535	27	154	364	100	F	61	Conjunto Ceará	5	MB	MB R-MDT 12 doses	BL	3,20
10290	15,8	159	1075	635	384	19	111	185	371	M	29	Passaré	6	MB	MB U-MDT 6 doses	BB	4,25
6550	27	549	1395	864	464	27	127	194	162	F	61	Montese	4	MB	PB U-MDT 6 doses	BT	0,00
6420	37,9	82	1842	1226	707	113	401	332	265	F	65	Novo Metropole	6	PB	PB U-MDT 6 doses	TT	0,00

Leucograma		CRF	CITOMETRIA							Sexo	Idade em anos	Bairro	Regional	Classificação OMS	Tratamento	Forma Clínica Ridley-Jopling	Índice Baciloscópico
Leuc. (/mm ³)	Linf (%)		CD3+ (/mm ³)	CD4+ (/mm ³)	CD8+ (mm3)	CD4+ CD8+ (/mm3)	CD3 ⁺ NK ⁺ (/mm3)	CD19+ (/mm ³)	CD3- CD16+CD56+ (/mm3)								
4540	35,7	570	1175	750	427	20	54	260	167	M	29	Parque poti	6	MB	MB R-MDT 12 doses	LL	1,56
7480	15,2	493	859	680	174	10	22	205	80	M	55	Jardim Iracema	1	MB	MB U-MDT 6 doses	BL	4,20
7620	20,6	607	788	556	225	9	36	495	266	M	61	Passare	6	MB	MB R-MDT 12 doses	LL	4,80
5450	33,2	597	1390	965	453	47	94	284	122	F	33	Parque Genibau	5	MB	MB U-MDT 6 doses	BT	1,60
7270	10,7	578	593	368	217	11	63	60	112	M	46	São cristovão	6	MB	MB R-MDT 12 doses	BB	3,75
9000	33,9	72	1998	1293	657	22	51	513	537	M	28	Barra do Ceará	1	MB	MB U-MDT 6 doses	BB	0,00
9600	24,8	151	1551	861	688	36	140	229	580	M	13	Jardim Jatobá	5	MB	MB R-MDT 12 doses	BT	5,00
12550	14,9	634	896	455	371	33	113	119	798	M	46	Bom Jardim	5	MB	MB R-MDT 12 doses	LL	5,20
15790	13,1	517	1755	1021	751	7	49	240	49	M	25	Jardim Ganabara	1	MB	MB U-MDT 6 doses	BB	4,00
4300	40,7	653	1047	841	186	28	58	220	442	F	44	Jangurussu	6	MB	MB U-MDT 6 doses	LL	4,00
6560	30,3	262	1010	756	245	16	123	304	618	F	57	Quintinho Cunha	3	PB	MB U-MDT 6 doses	TT	0,00
11990	16,3	609	1491	1022	451	40	109	168	267	M	34	João Paulo II	6	MB	MB R-MDT 12 doses	LL	4,50
7360	21,4	242	1158	837	350	29	31	278	97	F	43	Conjunto Sítio Estrela	6	MB	MB R-MDT 12 doses	LL	4,40
4940	35,2	566	1293	729	560	39	84	280	129	F	48	Vila Peri	4	PB	PB R-MDT 12 doses	TT	0,00

Leucograma		CRF	CITOMETRIA							Sexo	Idade em anos	Bairro	Regional	Classificação OMS	Tratamento	Forma Clínica Ridley-Jopling	Índice Baciloscópico
Leuc. (/mm ³)	Linf (%)		CD3+ (/mm ³)	CD4+ (/mm ³)	CD8+ (mm3)	CD4+ CD8+ (/mm3)	CD3 ⁺ NK ⁺ (/mm3)	CD19+ (/mm ³)	CD3- CD16+CD56+ (/mm3)								
7060	31	381	1531	1291	248	47	83	388	172	F	51	Cristo Redentor	1	MB	PB R-MDT 12 doses	BT	0,00
11280	9,9	516	838	487	293	9	119	132	137	M	56	Maraponga	5	MB	MB R-MDT 12 doses	BB	3,00
4860	29,8	11	1075	708	418	92	136	119	233	M	51	Carlito Pamplona	1	MB	PB U-MDT 6 doses	Indeterminada	0,00
5110	35,9	364	1207	808	408	28	75	467	105	F	51	Granja Portugal	5	MB	MB U-MDT 6 doses	BT	0,00
4490	21	644	676	395	293	17	88	115	122	M	64	Aldeota	2	MB	MB U-MDT 6 doses	BT	1,00
5950	24,6	166	1108	758	351	31	39	136	190	M	48	Aerolândia	6	MB	MB R-MDT 12 doses	BT	2,50
4830	17,7	414	574	367	211	8	57	169	109	F	60	Tabapuazinho	Caucaia	MB	MB U-MDT 6 doses	LL	1,50
5950	38,3	310	1677	1233	497	41	119	221	394	M	69	Granja Portugal	5	MB	MB U-MDT 6 doses	BT	0,00
5620	20,3	235	897	429	487	29	124	112	122	M	60	Aerolândia	6	PB	PB U-MDT 6 doses	TT	0,00
7580	30,1	617	1747	1057	684	31	112	29	504	M	65	Parque Santa Maria	6	MB	MB R-MDT 12 doses	BT	0,00
10430	23,5	119	2056	1283	747	46	137	237	125	M	65	Parque Santana (mondunbim)	5	MB	MB U-MDT 6 doses	BB	0,50
10010	16,4	311	1212	711	460	18	60	299	107	F	23	Bom Jardim	5	PB	MB R-MDT 12 doses	TT	0,00
7490	36,4	42	1935	1305	635	23	112	306	378	F	58	PAssare	6	PB	PB U-MDT 6 doses	TT	0,00

Leucograma		CRF	CITOMETRIA							Sexo	Idade em anos	Bairro	Regional	Classificação OMS	Tratamento	Forma Clínica Ridley-Jopling	Índice Baciloscópico
Leuc. (/mm ³)	Linf (%)		CD3+ (/mm ³) "T"	CD4+ (/mm ³)	CD8+ (mm ³)	CD4+ CD8+ (/mm ³)	CD3 ⁺ NK ⁺ (/mm ³)	CD19+ (/mm ³)	CD3- CD16+CD56+ (/mm ³)								
12000	29	624	2958	2054	981	76	226	255	284	F	45	Antônio Bezerra	3	MB	MB R-MDT 12 doses	BB	3,50
7700	19	81	1014	602	378	31	85	283	187	M	27	Itaoca	4	MB	MB R-MDT 12 doses	LL	5,00
10000	41	542	3225	2321	861	82	267	460	408	F	57	Parque Santa Maria	6	MB	PB U-MDT 6 doses	BT	0,00
10000	41	542	3225	2321	861	82	267	460	408	F	57	Parque Santa Maria	6	MB	PB U-MDT 6 doses	BT	0,00

ANEXOS

ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO - CRIANÇA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA CRIANÇAS

Eu, _____, em pleno gozo das minhas
(nome do responsável legal)

faculdades mentais, com 18 anos de idade ou mais, detentor de integral competência para dar consentimento a _____

(nome do paciente menor)

faço deste menor, por força deste documento, voluntário para participar no estudo denominado “Estudo independente para avaliação da eficácia de esquema único de multidrogaterapia (MDT-U) para tratar pacientes com hanseníase”.

As implicações de sua participação voluntária, incluindo a natureza, duração e objetivo do estudo, os métodos e meios através dos quais deve ser conduzido e as inconveniências e riscos que podem ser naturalmente esperados foram explicados a mim. Tive a oportunidade de esclarecer outras dúvidas que eu tinha a respeito do estudo e obtive resposta para estas dúvidas. Entendo também que em qualquer momento posso revogar meu consentimento e retirar o menor do estudo sem sofrer nenhuma punição ou perda de direitos. Minha recusa em participar não resultará em punições ou perdas dos benefícios a ele tem direito. Eu receberei uma cópia da declaração e do documento de consentimento.

Nome do responsável

Assinatura ou impressão digital

Data e hora da assinatura

Para representante legal analfabeto:

Eu presenciei a explicação acima descrita, posso confirmar a oportunidade concedida ao voluntário de fazer perguntas e neste documento testemunhar a assinatura do mesmo.

Nome da testemunha

Assinatura

Data e hora da assinatura

Declaração do investigador

Expliquei o objetivo deste estudo ao voluntário. No melhor do meu conhecimento, ele entendeu o objetivo, procedimentos, riscos e benefícios deste estudo.

Nome do investigador

Assinatura do investigador

Data e hora da assinatura

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO - ADULTO**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Eu, _____, em pleno gozo das minhas faculdades
(nome do voluntário)

mentais, com 18 anos de idade ou mais faço-me voluntário para participar no estudo denominado “Estudo independente para avaliação da eficácia de esquema único de multidrogaterapia (MDT-U) para tratar pacientes com hanseníase”.

As implicações de minha participação voluntária, incluindo a natureza, duração e objetivo do estudo, os métodos e meios através dos quais deve ser conduzido e as inconveniências e riscos que podem ser naturalmente esperados foram explicados a mim. Tive a oportunidade de esclarecer outras dúvidas que eu tinha a respeito do estudo e obtive resposta para estas dúvidas. Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo. Entendo também que em qualquer momento posso revogar meu consentimento e retirar-me do estudo sem sofrer nenhuma punição ou perda de direitos. Minha recusa em participar não resultará em punições ou perdas dos benefícios a que tenho direito. Eu receberei uma cópia da declaração e do documento de consentimento.

Nome do voluntário

Assinatura ou impressão digital

Data e hora da assinatura

Para voluntários analfabetos:

Eu presenciei a explicação acima descrita, posso confirmar a oportunidade concedida ao voluntário de fazer perguntas e neste documento testemunhar a assinatura do mesmo.

Nome da testemunha

Assinatura

Data e hora da assinatura

Declaração do investigador

Expliquei o objetivo deste estudo ao voluntário. No melhor do meu conhecimento, ele entendeu o objetivo, procedimentos, riscos e benefícios deste estudo.

Nome do investigador

Assinatura do investigador

Data e hora da assinatura

ANEXO C – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
CENTRO DE REFERÊNCIA NACIONAL EM DERMATOLOGIA SANITÁRIA DONA LIBÂNIA - CDERM

ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Registro do Projeto CEP/CDERM – 011/07

Título: Portadores de Hanseníase: Estudo Clínico - epidemiológico da Hanseníase em Área Endêmica do Nordeste do Brasil

Pesquisador responsável: Lígia Regina Franco Sansigolo Kerr

Proposição do (a) relator (a):

- aprovação
 aprovação com pendências
 não aprovação

Data da primeira análise pelo CEP/CDERM – 12/09/2007

Data do parecer final do projeto pelo CEP/CDERM: 12/09/2007

PARECER

Com base na Resolução CNS/MS nº 196/96, que regulamenta a matéria, o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Referência Nacional em Dermatologia Sanitária Dona Libânia CDERM, em sua reunião realizada em 12/09/2007, decidiu APROVAR, de acordo com o parecer do(a) Relator(a), o projeto de pesquisa acima especificado, quanto aos seus aspectos éticos.

Observações:

1. Declaramos que a Dra. Maria Araci Pontes, membro deste CEP, não participou da avaliação do projeto em questão, abstendo-se de votar, para evitar conflito de interesses.
2. O(s) pesquisador(es) deve(m) apresentar relatório final da pesquisa ao CEP/CDERM.

Fortaleza, 13 de setembro de 2007.

Lucy Landim
Dra. Lucy Maria Landim Tavares
Vice-Coordenadora do CEP/CDERM