



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA**

LUIS FELIPE RODRIGUES PINHEIRO BRITO

**RESISTÊNCIA MEDICAMENTOSA EM HANSENÍASE: VIGILÂNCIA DE
PACIENTES ATENDIDOS NA FUNDAÇÃO ALFREDO DA MATTA, MANAUS – AM**

MANAUS – AM

2020

LUIS FELIPE RODRIGUES PINHEIRO BRITO

**RESISTÊNCIA MEDICAMENTOSA EM HANSENÍASE: VIGILÂNCIA DE
PACIENTES ATENDIDOS NA FUNDAÇÃO ALFREDO DA MATTA, MANAUS – AM**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito final para a obtenção do título de bacharelado em farmácia, pela Universidade do Estado do Amazonas.

Orientadora: Prof.^a Ma. Cynthia de Oliveira Ferreira

MANAUS – AM
2020

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.

R696r Brito , Luis Felipe Rodrigues Pinheiro
Resistência medicamentosa em hanseníase:
vigilância de pacientes atendidos na Fundação Alfredo
da Matta, Manaus – Am / Luis Felipe Rodrigues
Pinheiro Brito .
Manaus : [s.n], 2020.
50 f.: color.; 30 cm.

TCC - Farmácia - Universidade do Estado do
Amazonas, Manaus, 2020.
Inclui bibliografia
Orientador: Cynthia de Oliveira Ferreira

1. Hanseníase. 2. Mycobacterium leprae. 3.
Resistência medicamentosa. 4. Vigilância. 5.
Poliquimioterapia Padrão. I. Cynthia de Oliveira Ferreira
(Orient.). II. Universidade do Estado do Amazonas. III.
Resistência medicamentosa em hanseníase: vigilância de
pacientes atendidos na Fundação Alfredo da Matta,
Manaus
– Am

ELABORADO POR JEANE MACELINO GALVES - CRB-11/463

LUIS FELIPE RODRIGUES PINHEIRO BRITO

**RESISTÊNCIA MEDICAMENTOSA EM HANSENÍASE: VIGILÂNCIA DE
PACIENTES ATENDIDOS NA FUNDAÇÃO ALFREDO DA MATTA, MANAUS – AM**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado como requisito final para a obtenção do título de bacharelado em farmácia pela Universidade do Estado do Amazonas – UEA, submetido à aprovação da banca examinadora composta pelos seguintes membros abaixo:

Aprovado em: 14 de setembro de 2020.

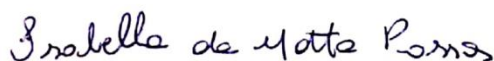
BANCA EXAMINADORA



Presidente/Orientadora: Prof.^a Cynthia de Oliveira Ferreira
Mestra em Biotecnologia
Fundação Alfredo da Matta



Prof.^a Laura Patrícia Viana Maia - Membro
Doutora em Biotecnologia
Universidade do Estado do Amazonas



Prof.^a Isabella da Motta Passos - Membro
Mestra em Imunologia Básica e Aplicada
Universidade do Estado do Amazonas

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me deu saúde, força, paciência e perseverança na busca de meus objetivos, que segurou em minhas mãos nos momentos mais difíceis e foi o responsável pelos meus sorrisos nos dias de vitória. Senhor te agradeço pelo dom da vida, pelo zelo e pelo amor que me destes, essa vitória eu devo a Ti.

Agradeço aos meus pais, minha avó e minha irmã, que me deram amor, suporte e abraços nos momentos mais angustiantes, que me mostraram que eu sou capaz até mesmo quando eu mesmo não acreditava nisso. Vocês são dádivas de Deus na minha vida, dedico tudo o que sou a vocês.

Agradeço ao meu namorado, que esteve comigo durante toda essa jornada de escrita do TCC, que estendeu a mão e me incentivou a continuar, mesmo eu pensando tantas vezes que não daria certo, obrigado por tudo meu querido, cada palavra sua foi um diferencial nessa jornada.

E por fim e não menos importante, agradeço aos esforços da minha orientadora no repasse de seus conhecimentos, dicas e correções e a todo o laboratório de biologia molecular da Fundação Alfredo da Matta e aos demais setores envolvidos na construção desse trabalho, que com certeza ficará marcado durante minha caminhada na vida acadêmica.

*“Quanto mais aumenta nosso conhecimento, mais
evidente fica nossa ignorância”*

John F. Kennedy

RESUMO

A hanseníase é uma doença infectocontagiosa crônica de evolução lenta que resulta em comprometimento dermatoneurológico. É causada pelo *Mycobacterium leprae*, um parasita intracelular obrigatório. Em 2018 foram diagnosticados 208.619 novos casos da doença no mundo, sendo o Brasil o segundo país com o maior número de casos, ficando atrás apenas da Índia. A Organização Mundial de Saúde propôs em 2009 a criação da rede de vigilância em resistência medicamentosa na hanseníase, uma vez que o surgimento e a disseminação de cepas resistentes representam séria ameaça às estratégias de controle da doença. Em vista disso o objetivo desse trabalho foi avaliar a ocorrência de cepas de *M. leprae* resistentes aos fármacos que compõe o tratamento da hanseníase, através da investigação de mutações pontuais nos genes *folp1*, *rpoB* e *gyrA*, associados com a resistência à dapsona, rifampicina e ofloxacina respectivamente. Tratou-se de um estudo descritivo, retrospectivo, em pacientes com hanseníase, atendidos na Fundação Alfredo da Matta, Manaus - AM, durante o período de 2017 a 2019. Foram selecionados para o estudo 65 pacientes divididos em dois grupos: casos novos e recidivas, para avaliação de resistência primária e secundária. Observou-se a predominância do sexo masculino, com média de idade de 50 anos, raça parda e baixo nível de escolaridade. A forma clínica virchowiana foi a mais prevalente e todos os casos novos foram pacientes multibacilares. Dos genes estudados o gene *folp1* obteve maior índice de amplificação (98,46%), seguido do gene *rpoB* (88,15%) e do gene *gyrA* (81,54%). Uma amostra apresentou mutação nos genes estudados, tratou-se de uma mutação pontual no códon 55 do gene *folp1*, conferindo resistência secundária à dapsona em amostra de paciente recidivado. Não se trata de um relato isolado de caso de resistência em pacientes do Estado do Amazonas, seja caso novo ou recidiva. Portanto, é de extrema importância a continuidade da vigilância em resistência medicamentosa na hanseníase. Devido a pequena quantidade de amostras analisadas na presente pesquisa, acredita-se que não represente o real cenário de circulação de cepas resistentes na região.

Palavras-chaves: Hanseníase. *Mycobacterium leprae*. Resistência medicamentosa. Vigilância. Poliquimioterapia Padrão.

ABSTRACT

Leprosy is a chronic infectious disease with slow evolution that results in dermatoneurological disorders. It is caused by *Mycobacterium leprae*, an obligate intracellular parasite. In 2018, 208,619 new cases of the disease were diagnosed in the world, with Brazil being the second country with the highest number of cases, just behind India. In 2009, the World Health Organization proposed the creation of a drug resistance surveillance network in leprosy, since the emergence and spread of resistant strains pose a serious threat to disease control strategies. In view of this, the objective of this work was to evaluate the occurrence of *M. leprae* resistant strains through the investigation of polymorphisms in the *folp1*, *rpoB* and *gyrA* genes, which confer resistance to the drugs dapsone, rifampicin and ofloxacin respectively. This was a descriptive, retrospective study in leprosy patients, attended at Fundação Alfredo da Matta, Manaus - AM, during the period from 2017 to 2019. The patients selected for the study (N=65) were divided into two groups: new cases and relapse, for the evaluation of primary and secondary resistance. There was a predominance of males, with an average age of 50 years, mixed race and low level of education. The Virchowian clinical form was the most prevalent and all new cases were multibacillary patients. Of the studied genes, the *folp1* gene obtained the highest amplification index (98,46%), followed by the *rpoB* gene (88,15%) and the *gyrA* gene (81,54%). One sample showed a mutation in the studied genes, it was a point mutation in codon 55 of the *folp1* gene, conferring secondary resistance to dapsone in a sample of a relapsed patient. This is not an isolated report of a resistance case in patients from the Amazonas State, whether it is a new case or a relapse. Therefore, the continuity of surveillance on leprosy drug resistance is extremely important. Due to the small number of samples analyzed in the present research, it is believed that does not represent the real scenario of resistant strains circulation in the region.

Keywords: Hansen's disease. *Mycobacterium leprae*. Drug resistance. Surveillance. Multi-drug therapy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Distribuição geográfica dos casos novos de hanseníase, 2018.....	10
Figura 2 - Gráfico do coeficiente de detecção geral da hanseníase: Manaus, Interior e Estado - 1990 a 2018.	11
Figura 3 - Sequências de nucleotídeos e aminoácidos em regiões determinantes de resistência a drogas. Os códons mais envolvidos em resistência estão destacados em retângulos.....	23
Figura 4 - Mutações em genes alvos dos fármacos antihansênicos que conferem resistência ao <i>Mycobacterium leprae</i> . As mais frequentes estão em negrito.	23
Quadro 1 – Poliquimioterapia Padrão Paucibacilar (6 MESES)	20
Quadro 2 – Poliquimioterapia Padrão Multibacilar (12 MESES).....	20
Gráfico 1 - Modo de detecção de casos novos de hanseníase notificados entre 2017 a 2019, registrados no laboratório de biologia molecular da FUAM (n = 39).....	30
Gráfico 2 - Formas clínicas de acordo com a Classificação de Madri, observadas nos casos novos de hanseníase notificados entre 2017 a 2019, registrados no laboratório de biologia molecular da FUAM (n = 39).	31
Gráfico 3 - Eficiência de amplificação dos genes <i>rpoB</i> , <i>folp1</i> e <i>gyrA</i> dos pacientes casos novos.	31
Gráfico 4 - Formas clínicas de acordo com a Classificação de Madri, observadas nos casos de recidiva de hanseníase notificados entre 2017 a 2019, registrados no laboratório de biologia molecular da FUAM (n = 26).	35
Gráfico 5 - Eficiência de amplificação dos genes <i>rpoB</i> , <i>folp1</i> e <i>gyrA</i> , dos pacientes com recidiva.	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características sociodemográficas da população de casos novos de hanseníase notificados entre 2017 a 2019, registrados no laboratório de biologia molecular da FUAM.....	29
Tabela 2 - Características sociodemográficas de casos de recidivas em hanseníase notificados entre 2017 a 2019, registrados no laboratório de biologia molecular da FUAM.	34

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1.	Aspectos gerais da hanseníase	13
2.2.	Manifestações clínicas	13
2.3.	Classificação clínica.....	14
2.4.	Diagnóstico	15
2.5.	Tratamento.....	17
2.5.1.	Classificações e definições.....	17
2.5.2.	Histórico da resistência em hanseníase	18
3	OBJETIVOS.....	24
3.1.	Geral	24
3.2.	Específicos.....	24
4	METODOLOGIA	25
4.1.	Desenho do estudo	25
4.2.	Aspectos legais e éticos.....	25
4.3.	Universo de estudo	25
4.3.1.	População de estudo	25
4.3.2.	Critérios de inclusão	25
4.3.3.	Critérios de exclusão	26
4.4.	Coleta e processamento das amostras	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	28
5.1	Casos Novos.....	28
5.2	Recidivas	34
6	CONCLUSÃO	39
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
	ANEXOS	46

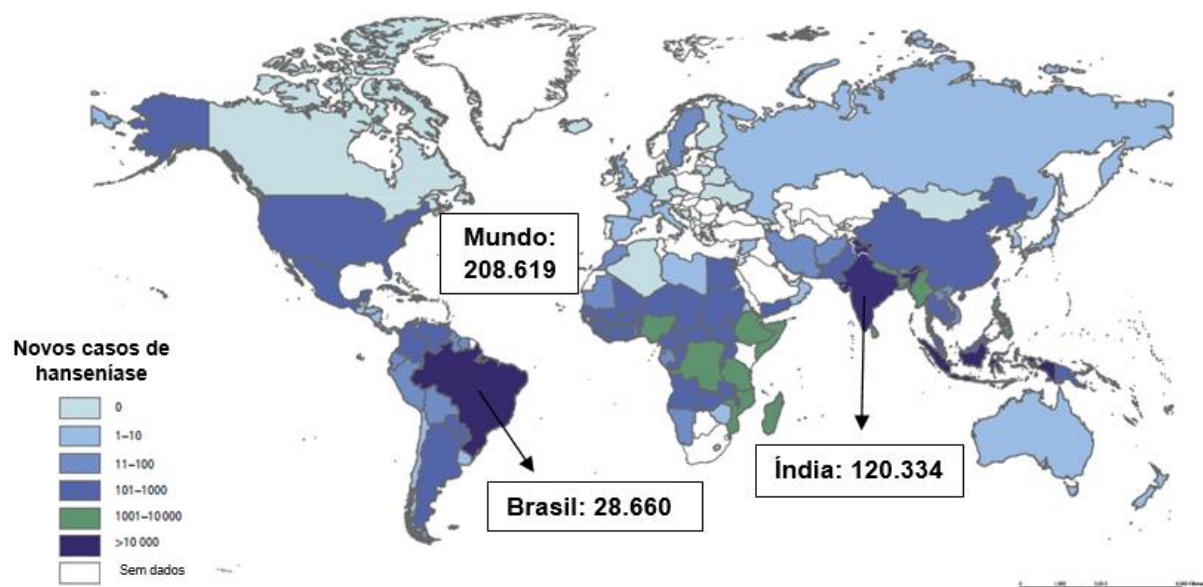
1 INTRODUÇÃO

A hanseníase é uma doença infectocontagiosa de caráter crônico pertencente à Lista Nacional de Notificação Compulsória de Doenças (Portaria de Consolidação MS/GM nº 4, de 28 de setembro de 2017) (BRASIL, 2020). Sua investigação é obrigatória e os casos diagnosticados necessitam ser notificados através da ficha de notificação/investigação (ANEXO A), pertencente ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) (BRASIL, 2017).

No ano de 2018, de acordo com dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), foram diagnosticados mundialmente 208.619 novos casos de hanseníase, com uma taxa de detecção de 2,74/100.000 habitantes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). A prevalência global registrada, incluindo os pacientes em tratamento, foi de 184.238 casos, correspondendo a uma taxa de 0,24/10.000 habitantes, onde observa-se um decréscimo de 8.474 casos em relação ao ano 2017 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

O Brasil notificou em 2018 um total de 28.660 novos casos de hanseníase, 93% do total de casos registrados na Região das Américas, constituiu-se também como a segunda nação com o maior número de novos casos da doença no mundo, ficando apenas atrás da Índia (Figura 1) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

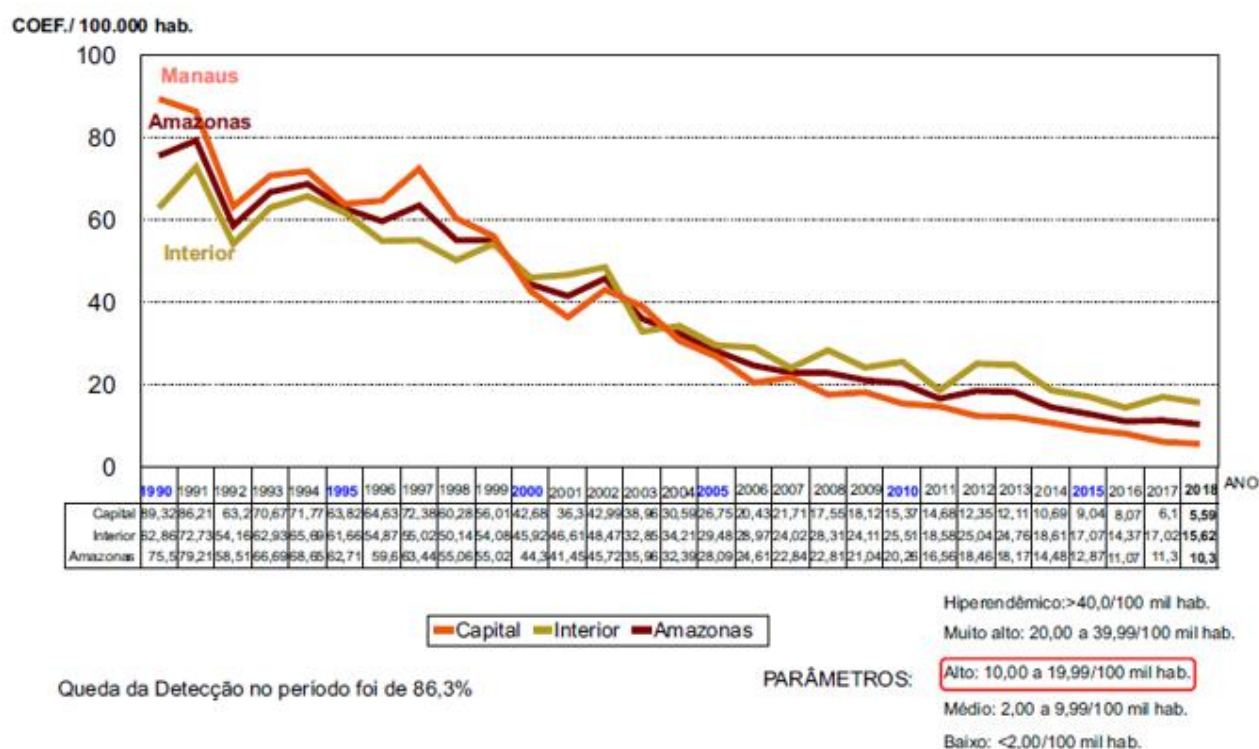
Figura 1 - Distribuição geográfica dos casos novos de hanseníase, 2018



Fonte: Organização Mundial da Saúde, 2019 (adaptado)

No mesmo ano, foram notificados 421 novos casos de hanseníase no Estado do Amazonas, que somados às recidivas, outros reingressos e transferências totalizaram 497 casos (FUNDAÇÃO ALFREDO DA MATTA, 2019). Dos novos casos notificados no Amazonas 119 (28,3%) eram residentes de Manaus e 302 (71,7%) residentes em outros 56 municípios. Os níveis de detecção da doença nos municípios amazonenses variaram entre 1,61 a 61,52/100.000 habitantes o que perfaz um nível de endemidade entre média (2,00 a 9,99/100.000 hab.) e hiperendêmica ($\geq 40,0/100.000$ hab.), segundo parâmetros do Ministério da Saúde. Atualmente o Estado enquadra-se em um nível de endemidade alto (10 a 19,99/100 hab.) possuindo uma taxa de detecção de 10,36/100 mil habitantes (Figura 2) (FUNDAÇÃO ALFREDO DA MATTA, 2019).

Figura 2 - Gráfico do coeficiente de detecção geral da hanseníase: Manaus, Interior e Estado - 1990 a 2018.



Fonte: SINANET/DSDE/GEPI/Subinfor/FundaçãoAlfredoDaMatta (adaptado).

Um dos principais pilares das estratégias para o enfrentamento da hanseníase como um problema de saúde pública, elaboradas pela OMS, é o combate à hanseníase e suas complicações (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016). Dentre os componentes desse pilar está o reforço da vigilância de resistência

aos antimicrobianos, que deve ser mantida e ampliada em todos os países endêmicos por meio da criação/fortalecimento de redes de vigilância (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016).

A vigilância da resistência medicamentosa é fundamental nas estratégias globais que visam manter a eficácia do tratamento da hanseníase, por meio de ações direcionadas à intervenção da propagação de cepas resistentes no meio ambiente (MATSUOKA, 2015). Segundo a OMS (2009, p. v) “o surgimento de resistência a medicamentos é motivo de preocupação e ameaça a qualquer programa de intervenção em doenças infecciosas”.

No ano de 2009 a OMS propôs a criação de uma rede de vigilância sentinela padronizada, por meio de diretrizes simples focadas em detectar a resistência medicamentosa em hanseníase e monitorar sua tendência em ambientes vulneráveis (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009).

É importante ressaltar que apesar da resistência em hanseníase não ser um problema agudo atualmente, ainda assim é relevante o seu monitoramento, objetivando o desenvolvimento de medidas adequadas para o combate a essa ameaça (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Aspectos gerais da hanseníase

A hanseníase é definida como uma doença crônica, infectocontagiosa, cujo o principal agente etiológico é o bacilo *Mycobacterium leprae*, um parasita intracelular obrigatório, gram-positivo e álcool-ácido-resistente (EICHELMANN et al., 2013). Essa micobactéria ocasiona danos especialmente aos nervos superficiais da pele e aos troncos nervosos periféricos, afetando mais especificamente as células de Schwann, podendo também se infiltrar nas regiões dos olhos e nas mucosas (BRASIL, 2017).

O bacilo possui elevada infectividade e baixa patogenicidade, ou seja, é transmitido a muitos indivíduos, porém apenas uma pequena parcela destes desenvolverá os sintomas clínicos da doença (ARAÚJO, 2003). O cultivo *in vitro* do patógeno ainda não é viável, porém no ano de 1960 Shepard demonstrou a possibilidade de cultivá-lo em patas de camundongos, viabilizando uma série de pesquisas acerca da doença (SHEPARD, 1960).

O trato respiratório superior é considerado a principal via de entrada e saída do *M. leprae*, participando ativamente do processo de transmissão da hanseníase (TALHARI et al., 2015). Todavia lesões na pele também são relatadas como um suposto meio de propagação do microrganismo, sobretudo em pacientes com elevada carga bacilar e que ainda não iniciaram o tratamento (JOB et al., 2008). O convívio familiar íntimo e prolongado, com pacientes não tratados, é um fator crucial no processo de transmissão da infecção (ARAUJO et al., 2016; GAMA et al., 2018).

2.2. Manifestações clínicas

Conforme o guia prático sobre a hanseníase (BRASIL, 2017) algumas das principais manifestações clínicas características, que podem surgir ao longo do curso natural da doença, são apresentadas a seguir:

- Áreas da pele, ou manchas esbranquiçadas (hipocrômicas), acastanhadas ou avermelhadas, com alterações de sensibilidade ao calor e/ou dolorosa, e/ou ao tato;
 - Pápulas, tubérculos e nódulos (caroços), normalmente sem sintomas;
 - Dor, choque e/ou espessamento de nervos periféricos;
 - Diminuição e/ou perda de sensibilidade nas áreas dos nervos afetados, principalmente nos olhos, mãos e pés;
 - Diminuição e/ou perda de força nos músculos inervados por estes nervos, principalmente nos membros superiores e inferiores e, por vezes, pálpebras;
 - Febre e artralgia, associados a caroços dolorosos, de aparecimento súbito;
- A intensidade das manifestações clínicas bem como o nível de progressão da hanseníase dependerá especialmente da resposta imunológica de cada indivíduo frente ao *M. leprae* (EICHELMANN et al., 2013; KUNDAKCI; ERDEM, 2019).

2.3. Classificação clínica

Com a compreensão de que a resposta imunológica influencia diretamente na evolução da hanseníase, os pesquisadores Ridley e Jopling propuseram na década de 1960 um sistema de classificação clínica, do qual ainda é muito utilizado no meio científico e abrange um amplo espectro de critérios voltados à imunologia, histopatologia e baciloscopia, complementando a classificação estabelecida no Congresso de Hanseníase de Madri (1953) (RIDLEY; JOPLING, 1966).

De acordo com a Classificação de Madri a evolução da patologia progride inicialmente através de uma forma indeterminada (I) em direção a um polo estável com manifestações mais brandas (Tuberculóide – T), passando por um polo intermediário instável (*Boderline* – B ou também conhecido como Dimorfo - D) e por fim migrando para um espectro estável, entretanto mais invasivo e com maior comprometimento físico (Virchowiano – V) (TALHARI et al., 2015).

Com a soma de conhecimentos específicos acerca dos mecanismos de interação patógeno-hospedeiro, a subdivisão do polo intermediário foi um diferencial do estudo de Ridley e Jopling frente a Classificação de Madri, onde os pesquisadores incluíram três subgrupos dos quais denominaram dimorfo tuberculóide (DT), dimorfo dimorfo (DD) e dimorfo virchowiano (DV), conforme a

tendência de evolução da doença entre os dois polos extremos (RIDLEY; JOPLING, 1966).

2.4. Diagnóstico

O diagnóstico da hanseníase é realizado levando-se em consideração aspectos clínicos e epidemiológicos, executado por meio da anamnese do paciente e com o auxílio de exames laboratoriais e dermatoneurológicos (DA SILVA CRUZ et al., 2017). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (2018) deve-se atentar no momento do diagnóstico a um dos seguintes sinais cardinais, característicos da presença da doença:

- (i) Lesão(ões) e/ou área(s) da pele com alteração da sensibilidade térmica e/ou dolorosa e/ou tátil; ou
- (ii) Espessamento de nervo periférico, associado a alterações sensitivas e/ou motoras e/ou autonômicas; ou
- (iii) Presença de bacilos *M. leprae*, confirmada na baciloscopia de esfregaço intradérmico ou na biópsia de pele.

O diagnóstico da doença não deve ser confundido com um episódio reacional denominado reação hansênica, que segundo o Ministério da Saúde são alterações do sistema imunológico que se exteriorizam como manifestações inflamatórias que são mais frequentes nos pacientes multibacilares (BRASIL, 2016). As reações são de dois tipos, sendo o tipo 1, também chamado de reação reversa, caracterizado pelo aparecimento de novas lesões dermatológicas (manchas ou placas), infiltrações, alterações de cor e edema nas lesões antigas, com ou sem espessamento e dor de nervos periféricos (neurite) (BRASIL, 2016). A reação tipo 2 por sua vez é manifestada pelo Eritema Nodoso Hansênico (ENH), sendo característico o aparecimento de nódulos subcutâneos dolorosos, acompanhados ou não de manifestações sistêmicas como: febre, dor articular e mal-estar generalizado (BRASIL, 2016).

A baciloscopia de raspado intradérmico é um exemplo de análise que colabora no diagnóstico da doença, na qual é possível mensurar a carga bacilar presente na amostra do portador da infecção, através de uma escala logarítmica que

varia de 0 a 6+, proposta por Ridley e Jopling na década de 1960 (RIDLEY; JOPLING, 1966). Por meio da técnica de baciloscopia é possível determinar também a viabilidade dos bacilos por intermédio de um índice morfológico, onde pode-se averiguar a porcentagem dos bacilos íntegros em relação ao total de bacilos encontrados, sendo usado por exemplo, no acompanhamento da eficácia do tratamento da hanseníase (LASTÓRIA; ABREU, 2012).

O diagnóstico molecular de doenças infecciosas, dado por meio de métodos de amplificação de ácidos nucleicos, tem se mostrado uma ferramenta primordial na detecção e caracterização de patógenos, de modo rápido, altamente específico e sensível (SPEERS, 2006). Aplicações deste tipo de análise frente a bactérias têm sido realizadas em investigações de resistência, bem como em respostas mais rápidas nas identificações de infecções bacterianas, e no acompanhamento dessas patologias após início do tratamento (SPEERS, 2006).

A introdução da revolucionária técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), há cerca de 30 anos, demonstrou-se abundantemente promissora como análise molecular na detecção do *M. leprae* (DE WIT et al., 1991; HARTSKEERL; DE WIT; KLATSER, 1989; KAMPIRAPAP et al., 1998; WILLIAMS et al., 1990; WOODS; COLE, 1989).

Este método propicia a detecção e viabilidade do bacilo por meio da amplificação de regiões-alvo em ácidos nucleicos (GOULART; GOULART, 2008). Torna possível também o acompanhamento da eficácia da Poliquimioterapia (PQT) padrão da hanseníase, através da detecção da atividade transcricional do *M. leprae* (RNA), contribuindo também na vigilância de casos resistentes ao tratamento (CHAE et al., 2002; GOULART; GOULART, 2008; MALE et al., 2016; MARTINEZ et al., 2009).

Na atualidade a técnica de PCR convencional vem sido substituída por ensaios quantitativos de PCR (qPCR), baseados na quantificação de fluorescência em tempo real, proporcionando maiores taxas de detecção do bacilo em casos clínicos difíceis, inclusive em paucibacilares (MANTA et al., 2019; MARTINEZ et al., 2006, 2009, 2011, 2014; RUDEEANESKIN et al., 2008; TATIPALLY; SRIKANTAM; KASETTY, 2018) .

2.5. Tratamento

2.5.1. Classificações e definições

Atualmente, para facilitar os esquemas de tratamento da hanseníase, é utilizado um modelo de classificação simplificado, baseado nos critérios estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1982). Os pacientes são classificados conforme a seguinte divisão:

Paucibacilares (PB – presença de até cinco lesões de pele com baciloscopia de raspado intradérmico negativa, quando disponível).

Multibacilares (MB – presença de seis ou mais lesões de pele ou baciloscopia de raspado intradérmico positiva).

No Brasil, para fins de tratamento, também se obedece a essa classificação (BRASIL, 2017).

Algumas definições também devem ser consideradas no delineamento terapêutico da hanseníase, das quais são acrescentadas a seguir (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017):

Caso novo de hanseníase: paciente com diagnóstico de hanseníase que nunca foi tratado para a doença.

Caso de retratamento da hanseníase: paciente diagnosticado com hanseníase que já havia recebido tratamento para a doença no passado.

Dentro dos casos de retratamento, há um grupo de pacientes inseridos em um quadro denominado de RECIDIVA (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017). Segundo o Ministério da Saúde, esse é conceituado da seguinte maneira:

Define-se como RECIDIVA todos os casos de HANSENÍASE, tratados regularmente com esquemas oficiais padronizados e corretamente indicados, que receberam alta por cura, isto é, saíram do registro ativo da doença no SINAN, e que voltam a apresentar novos sinais e sintomas clínicos de doença infecciosa ativa (BRASIL, 2016, p.37).

2.5.2. Histórico da resistência em hanseníase

A hanseníase é uma patologia que carrega uma bagagem milenar marcada por estigma e preconceito, da qual ainda gera consequências perceptíveis em distintos âmbitos sociais e profissionais nos portadores da infecção, mesmo que em menor grau atualmente (GARBIN et al., 2015; MARAHATTA et al., 2018). Em décadas passadas o impacto causado pelas mazelas da doença sucedia em separações de famílias e isolamento social, através dos antigos leprosários e colônias como o Leprosário de Paricatuba e a Colônia Antônio Aleixo no Amazonas, desativados no final da década de 1970 (SCHWEICKARDT; XEREZ, 2015).

A introdução da dapsona (diamino-difenilsulfona) no tratamento da hanseníase foi um marco na década de 1950, onde foram comprovadas suas propriedades como uma droga bacteriostática segura na terapêutica, apresentando elevada eficácia e fácil administração através da via oral (LOWE, 1950; WILLIAMS; GILLIS, 2012). Entretanto anos mais tarde, por meio da técnica de Shepard, foi constatada a presença de resistência bacteriana a dapsona, em pacientes que não apresentavam melhoras clínicas após uso do fármaco em monoterapia (PETTIT; REES, 1964; SHEPARD, 1960).

Outros fármacos passaram a ser testados para o tratamento da hanseníase. Na década de 1960 pesquisas satisfatórias quanto ao uso de corantes fenólicos sintetizados no tratamento da tuberculose levaram os pesquisadores Browne e Hogerzeil a realizar estudos clínicos com a droga clofazimina (B 663), em pacientes com hanseníase virchowiana e a avaliar sua atividade contra o *M. leprae* (BROWNE; HOGERZEIL, 1962). Dentre os resultados encontrados notou-se uma pigmentação na pele dos pacientes, porém a toxicidade do fármaco demonstrou-se leve e o mesmo foi capaz de reduzir o índice baciloscópico e induzir mudanças degenerativas no bacilo, especialmente com a adição da dapsona na terapêutica, causando uma perceptível melhora clínica nos pacientes (BROWNE; HOGERZEIL, 1962). A resistência a clofazimina tem se demonstrado rara e pouco documentada (DIEDEN, 1982).

A rifampicina é uma droga bactericida que se mostrou promissora no tratamento da infecção, inclusive em pacientes resistentes a dapsona, reduzindo rapidamente a viabilidade dos bacilos e promovendo uma melhora acelerada no

quadro clínico dos mesmos (WATERS et al., 1978). Porém o uso isolado do fármaco a longo prazo não se mostrou suficiente na estagnação da doença e os primeiros casos de resistência medicamentosa começaram a surgir, intensificando a necessidade de debates acerca de um esquema terapêutico combinado, a fim de conter o surgimento e a transmissão de cepas resistentes e tratar os casos já diagnosticados (JACOBSON; HASTINGS, 1976; WATERS et al., 1978).

Na década de 1970 os casos resistentes a dapsona atingiram um ápice alarmante mundialmente, dessa forma estabeleceu-se um cenário de emergência na busca de novas estratégias para o tratamento da hanseníase (PEARSON; REERS; WATERS, 1975; PEARSON; CAP; HAILE, 1977; PETERS et al., 1976; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1982).

Após pesquisas serem realizadas por um grupo de estudos da OMS no início da década de 80, recomendou-se um novo regime terapêutico para hanseníase, no qual foi preconizada a utilização de uma Poliquimioterapia (PQT) padrão (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1982).

O Estado do Amazonas foi um dos pioneiros na implementação da PQT no Brasil através da Fundação Alfredo da Matta e antes mesmo do surgimento do tratamento padrão diversos profissionais da saúde já trabalhavam ativamente no combate a hanseníase no Amazonas (CUNHA et al., 2015; SCHWEICKARDT; XEREZ, 2015). Através dessa instituição, antes chamada de Dispensário Alfredo da Matta, foi possível também realizar a distribuição da dapsona para o tratamento da doença na década de 1950, logo após serem comprovadas suas propriedades como um fármaco eficaz no tratamento (CUNHA et al., 2015; SCHWEICKARDT; XEREZ, 2015).

A PQT mostrou-se essencial na interrupção do ciclo de transmissão da hanseníase, além de evitar o surgimento de casos resistentes e tratar os casos diagnosticados, levando-os a critérios clínicos de cura (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1982). Desse modo a poliquimioterapia padrão utilizada no tratamento da hanseníase é demonstrada nos quadros a seguir:

Quadro 1 – Poliquimioterapia Padrão Paucibacilar (6 MESES)

	Fármacos	Administração da dose	Dose (mg)
ADULTOS	RIFAMPICINA	Uma vez ao mês de forma supervisionada	600
	DAPSONA	Diariamente	100
CRIANÇAS (10 a 14 ANOS):	RIFAMPICINA	Uma vez ao mês de forma supervisionada	450
	DAPSONA	Diariamente	50

Fonte: Organização Mundial da Saúde, 2018 (adaptado).

Quadro 2 – Poliquimioterapia Padrão Multibacilar (12 MESES)

	Fármacos	Administração da dose	Dose (mg)
ADULTOS	RIFAMPICINA	Uma vez ao mês de forma supervisionada	600
	DAPSONA	Diariamente	100
	CLOFAZIMINA	Diariamente / uma vez ao mês de forma supervisionada	50 / 300
CRIANÇAS (10 a 14 ANOS):	RIFAMPICINA	Uma vez ao mês de forma supervisionada	450
	DAPSONA	Diariamente	50
	CLOFAZIMINA	Em dias alternados / uma vez ao mês de forma supervisionada	50 / 150

Fonte: Organização Mundial da Saúde, 2018 (adaptado).

Os mecanismos de ação dos fármacos da poliquimioterapia da hanseníase e a base molecular da resistência medicamentosa são abordados a seguir:

Dapsona: caracteriza-se por sua ação bacteriostática, inibindo a síntese de ácido fólico no *M. leprae* de modo competitivo por ser um análogo do ácido p-aminobenzóico e ter como alvo a enzima diidropteroato sintase (DHPS), codificada pelo gene *folp1* (HITCHINGS; BURCHALL, 1965; WILLIAMS et al., 2000). Estudos apontaram uma relação entre mutações no gene *folp1* e resistência à dapsona (KAI et al., 1999; WILLIAMS et al., 2000).

Rifampicina: é uma droga bactericida essencial para o tratamento da hanseníase (REES; PEARSON; WATERS, 1970). Atua diretamente na subunidade beta (β) da RNA polimerase do *M. leprae*, codificada pelo gene *rpo β* . A ligação com essa subunidade inibe a transcrição do mRNA dependente de DNA, acarretando na inviabilidade do bacilo (HONORE; COLE, 1993; MATSUOKA, 2010). Uma associação entre a resistência à rifampicina e mutações em regiões substancialmente preservadas no gene *rpo β* tem sido evidenciada (HONORE; COLE, 1993).

Clofazimina: este fármaco contém uma fraca atividade bactericida e também possui propriedades anti-inflamatórias (MATSUOKA, 2015). O mecanismo de ação do mesmo ainda não é completamente compreendido, porém deduz-se que seu efeito bactericida esteja relacionado à sua ligação em domínios ricos em guanina e citosina no DNA do *M. leprae* (MORRISON; MARLEY, 1976).

Ofloxacina: corresponde a um antibiótico pertencente a classe das fluoroquinolonas moderadamente bactericida para o *M. leprae* (SAITO; TOMIOKA; NAGASHIMA, 1986). A droga se liga à subunidade A da enzima DNA girase, que é codificada pelo gene *gyrA*, mutações em regiões específicas nesse gene foram associadas a resistência medicamentosa (CAMBAU et al., 1997).

A ofloxacina é uma droga de segunda linha utilizada em esquemas substitutivos quando há a presença de resistência à dapsona e/ou à rifampicina, porém o uso irregular da mesma no tratamento de outros quadros infecciosos tem sido a provável causa de resistência em cepas de *M. leprae* (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

Um estudo recente conduzido por Singh e colaboradores entre os anos de 2013 e 2015 no norte da Índia demonstrou casos resistentes à ofloxacina na região, por meio de uma mutação pontual no códon 91 (GCA-GTA), levando a alteração do

aminoácido alanina para valina (SINGH et al., 2018). A presença de resistência a ofloxacina em três casos novos de hanseníase gerou uma surpresa aos pesquisadores, que atribuem a resistência a quinolonas como consequência de seu uso indiscriminado para tratar outros tipos de infecções na comunidade (SINGH et al., 2018). Dessa forma o uso da droga como segunda linha para o tratamento da hanseníase demonstrou não ser uma opção prioritária na localidade (SINGH et al., 2018).

Beltrán-Alzate *et al.* expuseram resultados de um monitoramento relacionado a resistência medicamentosa em hanseníase, conduzido na Colômbia, durante um período de 10 anos (2004 a 2013) (BELTRÁN-ALZATE et al., 2016). O estudo destaca que 11,8% (4/34) dos pacientes em quadro de recidiva apresentaram mutações localizadas em regiões determinantes de resistência à drogas (RDRD), relacionadas a resistência a dapsona e/ou a rifampicina, que constitui-se como o fármaco-chave na PQT (BELTRÁN-ALZATE et al., 2016). Os autores ressaltam a importância da continuidade da rede de vigilância sentinela, da qual o país faz parte, haja vista os casos resistentes encontrados (BELTRÁN-ALZATE et al., 2016).

Além dos casos de recidiva, o Guia para Vigilância da Resistência Antimicrobiana na Hanseníase (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017) ressalta a importância do monitoramento de resistência medicamentosa também em casos novos, objetivando avaliar as tendências de resistência primária aos fármacos da PQT, especialmente à rifampicina, e acompanhá-las a longo prazo. Destaca ainda a relevância no estabelecimento e/ou expansão da rede de vigilância a nível global através da compilação dos dados de resistência com variáveis socioeconômicas e geográficas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

Tomando como base os dados presentes na literatura, a Organização Mundial de Saúde (2017) traz dados atualizados das sequências, códons e mutações mais observadas, em regiões determinantes de resistência à drogas (RDRD) nos genes *folp1*, *rpoβ* e *gyrA* (fig. 6 e fig.7).

Figura 3 - Sequências de nucleotídeos e aminoácidos em regiões determinantes de resistência a drogas. Os códons mais envolvidos em resistência estão destacados em retângulos.

A)		<i>folP1</i> DRDR																					
151 -	gaa	tog	acc	53	ogg	ccc	55	ggt	qcc	att	agg	acc	gat	cct	cga	gtt	gaa	ctc	tot	cgt	atc	gtt	
51 -	E	S	T	R	P	G	A	I	R	T	D	P	R	V	E	L	S	R	I	V			
B)		<i>rpoB</i> DRDR																					
1261 -	cgt	cog	gtg	gtc	gcc	gct	atc	aag	gaa	ttc	ttc	ggc	acc	agc	cag	ctg	tog	cag	438	ttc	atg		
421 -	R	P	V	V	A	A	I	K	E	F	F	G	T	S	Q	L	S	Q	F	M			
1321 -	gat	cag	aac	aac	cct	ctg	tog	ggc	ctg	acc	cac	451	aag	cgc	cgg	ctg	tcg	456	gog	ctg	458	ggc	cog
441 -	D	Q	N	N	P	L	S	G	L	T	H	K	R	R	L	S	A	H	G	P			
C)		<i>gyrA</i> DRDR																					
241 -	acg	atg	ggc	aat	tac	cat	cog	cac	ggc	89	gac	gca	91	tog	att	tat	gac	acg	tta	gtg	cgc	atg	
81 -	T	M	G	N	Y	H	P	H	G	D	A	S	I	Y	D	T	L	V	R	M			

Fonte: Organização Mundial da Saúde, 2017 (adaptado)

Figura 4 - Mutações em genes alvos dos fármacos antihansênicos que conferem resistência ao *Mycobacterium leprae*. As mais frequentes estão em negrito.

Gene	Substituição de aminoácidos devido a mutação genética	Mudança de nucleotídeo (5' ->3')
<i>rpoB</i>	Gln438Val	cag → gtg
	Asp441Tyr	gat → tat
	Asp441Asn	gat → aat
	His451Asp	cac → gac
	His451Tyr	cac → tac
	Ser456Leu	tcg → ttg
	Ser456Met	tcg → atg
	Ser456Phe	tcg → tc
	Ser456Trp	tcg → tgg
	Leu458Val	ctg → gtg
	Leu458Pro	ctg → ccg
<i>folP1</i>	Thr53Ala	acc → gcc
	Thr53Arg	acc → agc
	Thr53Ile	acc → atc
	Pro55Arg	ccc → cgc
	Pro55Leu	ccc → ctc
	Pro55Ser	ccc → tcc
<i>gyrA</i>	Gly89Cys	ggc → tgc
	Ala91Val	gca → gta

Fonte: Organização Mundial da Saúde, 2017 (adaptado)

3 OBJETIVOS

3.1. Geral

Avaliar a ocorrência de cepas de *M. leprae* com mutações de DNA que conferem resistência medicamentosa às drogas utilizadas na Poliquimioterapia da hanseníase, em casos novos e recidivas, atendidos na Fundação Alfredo da Matta (FUAM), Manaus, Amazonas;

3.2. Específicos

Investigar mutações pontuais associadas à resistência medicamentosa nos genes relacionados à mesma: *rpoB*, *folp1* e *gyrA* em cepas de *M. leprae* identificadas em pacientes com hanseníase atendidos na FUAM;

Correlacionar os dados clínicos, laboratoriais, terapêuticos e sociodemográficos visando a compreensão acerca da resposta clínica dos pacientes, da análise epidemiológica do universo amostral e do impacto de possíveis cepas resistentes no processo de evolução para cura nos casos estudados.

4 METODOLOGIA

4.1. Desenho do estudo

Trata-se de estudo descritivo, retrospectivo, de vigilância epidemiológica para o monitoramento da resistência medicamentosa em pacientes diagnosticados com hanseníase na Fundação de Dermatologia Tropical e Venereologia Alfredo da Matta.

4.2. Aspectos legais e éticos

O presente estudo fez parte de um projeto maior, intitulado: “Monitoramento da resistência medicamentosa em pacientes com hanseníase atendidos na FUAM, MANAUS, AM”, submetido ao CEP/FUAM, sob o CAAE: 68098817.4.0000.0002 e aprovado sob o parecer Nº 2.081.853 de 25/05/2017, coordenado por Cynthia de Oliveira Ferreira.

4.3. Universo de estudo

4.3.1. População de estudo

Pacientes que buscaram atendimento na Fundação Alfredo da Matta, localizada na cidade de Manaus, Amazonas, diagnosticados com hanseníase e notificados no SINAN no período de 2017 a 2019.

4.3.2. Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo pacientes maiores de dezoito anos, submetidos ao fluxo de atendimento da rede de vigilância antimicrobiana em hanseníase, notificados no SINAN como casos novos multibacilares (MB), com baciloscopia positiva e índice baciloscópico $\geq 2+$ e todos os casos de recidiva notificados no SINAN com diagnóstico confirmado, cujas amostras de biópsias de pele foram encaminhadas ao laboratório de biologia molecular da FUAM.

4.3.3. Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo: pacientes cuja amplificação dos genes de interesse não foi possível devido à uma concentração baixa e/ou indetectável de DNA na amostra analisada.

4.4. Coleta e processamento das amostras

A coleta das biópsias cutâneas foi realizada com *punch* de 4 a 6 mm, no setor de cirurgia da FUAM, realizada por profissionais médicos experientes e devidamente capacitados.

As amostras foram armazenadas em álcool 70% e encaminhadas ao setor de biologia molecular para processamento. Foi realizada a extração de DNA a partir de kit comercialmente disponível (*DNeasy Blood and Tissue*, Qiagen) e as reações de PCR para amplificação de fragmentos de interesse nos genes *rpoB*, *folpI*, *gyrA*, associados à resistência medicamentosa para as drogas rifampicina, dapsona e ofloxacina, respectivamente, de acordo com protocolo padronizado no setor, adaptado de Kai *et.al.* 2001. Após a amplificação dos genes, foi realizado o sequenciamento direto, pelo método de Sanger, em Analisador genético 3130 ABI, *Applied Biosystems*. As sequências obtidas foram analisadas no *software* BioEdit versão 7.2.5, comparadas à sequências disponíveis em bancos de dados públicos (Genbank), com perfil de sensibilidade conhecido para cada uma das drogas citadas anteriormente para identificação de possíveis mutações. Foram utilizados dados secundários do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) com o objetivo de avaliar variáveis de classificação clínica individual, assim como variáveis sociodemográficas e de tratamento.

Todas as amostras passaram por uma etapa inicial de amplificação por PCR em tempo real, dos genes: 16S rRNA para detecção do DNA de *M. leprae* e do gene humano da B-actina para verificar a eficiência da extração de DNA e a presença de possíveis inibidores na amostra.

A rotina de identificação de mutações associadas à resistência medicamentosa está em curso na rotina da FUAM desde o ano de 2012, em amostras de recidiva da doença. No ano de 2017 iniciou-se uma pesquisa no

Laboratório de Biologia Molecular da FUAM que incluiu a análise de resistência medicamentosa em casos novos de hanseníase. No ano de 2018 instituiu-se no Brasil a Rede Nacional de Vigilância da Resistência Medicamentosa em Hanseníase, que conta com a FUAM como centro de referência para as análises de amostras de 5 estados brasileiros (Amazonas, Amapá, Roraima, Rondônia e Maranhão).

Análise dos dados

Foi gerado um banco de dados proveniente dos resultados e informações obtidos em Excel. As variáveis analisadas foram: idade, sexo, raça, escolaridade, modo de detecção de casos novos, quantidade de lesões e de nervos afetados, forma clínica, resultado do índice baciloscópico, tratamento e perfil de resistência dos pacientes casos novos e recidivas. Para análises descritivas foram construídos gráficos, tabelas e figuras quando convenientes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Durante o período de 2017 a 2019 foram selecionados para o estudo 65 pacientes notificados pelo SINAN como casos novos e de recidiva, dos quais tiveram suas amostras de biópsias cutâneas registradas no Laboratório de Biologia Molecular da FUAM para a pesquisa de resistência medicamentosa aos fármacos dapsona, rifampicina e ofloxacina em regiões determinantes de resistência a drogas nos genes *folp1*, *rpoB* e *gyrA*, respectivamente. De modo geral observou-se uma predominância de pacientes do sexo masculino (73,85%), com média de idade de 50 anos, raça parda (76,92%), detendo de um nível de escolaridade entre a 1^o e a 4^o série do ensino fundamental (31,15%).

Quanto aos dados clínicos, a forma virchowiana foi a mais prevalente (58,46%), houve média de 18 lesões cutâneas, com 2 a 6 nervos acometidos (66,10%). Na análise de resistência obteve-se uma melhor amplificação nas regiões-alvo do gene *folp1* (98,46%), seguido do gene *rpoB* (88,15%) e do gene *gyrA* (81,54%). As populações de casos novos e recidivas foram distribuídas em dois grupos para melhor visualização dos resultados das variáveis analisadas e quanto ao perfil de resistência encontrado, e são abordadas individualmente a seguir:

5.1 Casos Novos

Dos 386 casos novos de hanseníase notificados na Fundação Alfredo da Matta entre os anos de 2017 a 2019 foram selecionados 39 pacientes (10,10%) para o presente estudo. Foram excluídos 347 pacientes por serem de menor idade, apresentar IB < 2+ ou por falta de dados no SINAN da instituição, reforçando a necessidade de uma melhor coleta de dados dos pacientes no momento da triagem. As características sociodemográficas dessa população foram traçadas através dos dados contidos nesse sistema, onde foi evidenciado que a faixa etária de 40 a 50 anos foi prevalente (43,59%), com uma média de idade de 46 anos. Houve uma predominância de pacientes do sexo masculino (71,79%), raça parda (69,23%), com nível de escolaridade entre a 1^a e a 4^a série incompleta do ensino fundamental (25,64%), conforme apresentado na tabela 1.

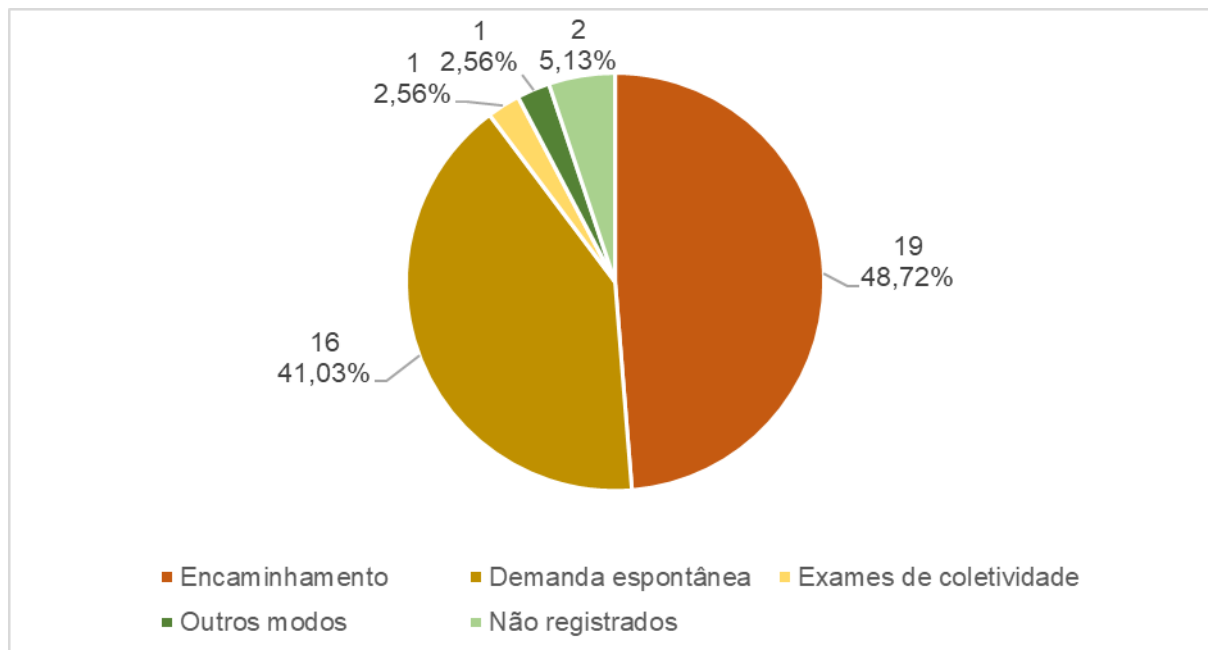
Tabela 1 - Características sociodemográficas da população de casos novos de hanseníase notificados entre 2017 a 2019, registrados no laboratório de biologia molecular da FUAM.

VARIÁVEL		N	%
Idade	19 a 30	2	5,13
	31 a 39	8	20,51
	40 a 50	17	43,59
	51 a 60	7	17,95
	61 a 68	5	12,82
	TOTAL	39	100,00
Sexo	Masculino	28	71,79
	Feminino	11	28,21
	TOTAL	39	100,00
Raça	Branca	5	12,82
	Preta	2	5,13
	Parda	27	69,23
	Não registrados/ignorados	5	12,82
	TOTAL	39	100,00
Escolaridade	Analfabetos	5	12,82
	1ª a 4ª série incompleta do ensino fundamental	10	25,64
	5ª a 8ª série incompleta do ensino fundamental	3	7,69
	Ensino fundamental completo	2	5,13
	Ensino médio incompleto	4	10,26
	Ensino médio completo	7	17,95
	Educação superior completa	1	2,56
	Não registrados/ignorados	7	17,95
	TOTAL	39	100,00

Fonte: SINAN.

Quanto ao modo de detecção dos casos novos a maior parte se deu através de encaminhamentos (48,72%), seguido de demanda espontânea (41,03%) e exames de coletividade (2,56%). Dois pacientes não tiveram registrados seus dados quanto a essa variável, o que corresponde a 5,13% dos casos, conforme visualizado no gráfico 1.

Gráfico 1 - Modo de detecção de casos novos de hanseníase notificados entre 2017 a 2019, registrados no laboratório de biologia molecular da FUAM (n = 39)

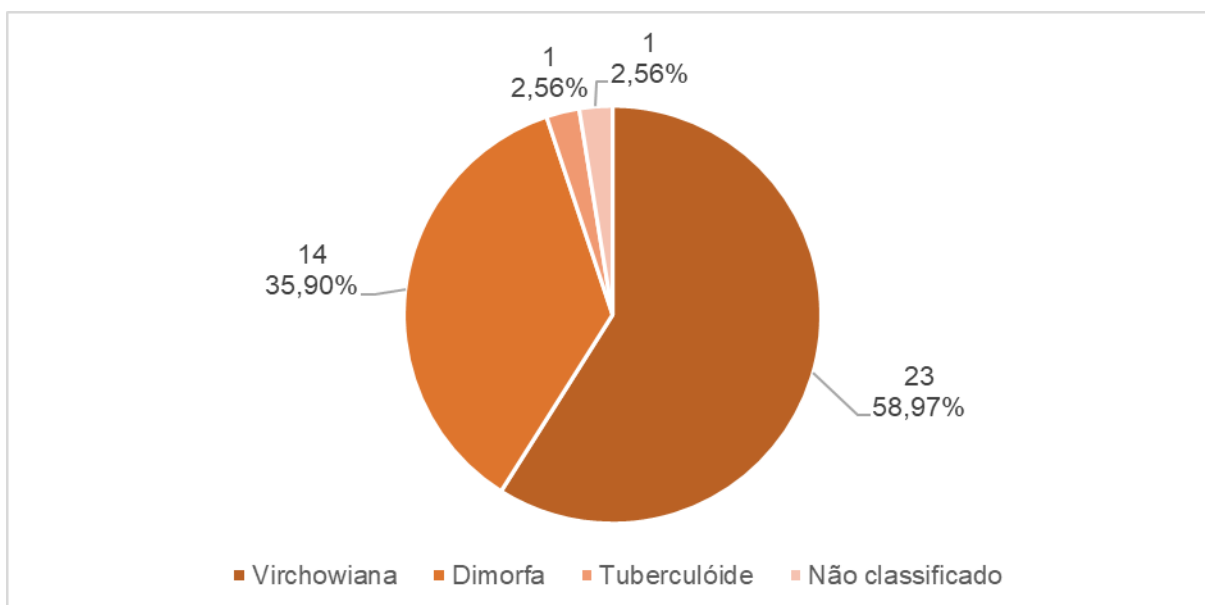


Fonte: SINAN.

Analisando os dados clínicos observou-se uma média de 19 lesões cutâneas nessa população, onde a maioria dos casos apresentou entre 2 a 6 nervos afetados (58,97%). Levando-se em consideração a Classificação de Madri a forma clínica virchowiana da hanseníase foi predominante, acometendo 58,97% dos casos, seguido da forma dimorfa (35,90%) e tuberculóide (2,56%) (gráfico 2). Por meio de dados laboratoriais do exame de baciloscopia, obteve-se um índice baciloscópico médio de 3,89+ entre os casos novos. Isso se deve aos critérios de inclusão aplicados aos casos novos, ou seja, baciloscopia acima de 2+. Esse critério foi estabelecido para que houvesse maior eficiência na amplificação do DNA de *M. leprae* dado o elevado custo da análise.

Todos os pacientes receberam o esquema de tratamento inicial PQT/MB/12 doses, uma vez que se trataram de indivíduos diagnosticados como multibacilares, de acordo com a classificação da OMS (2018).

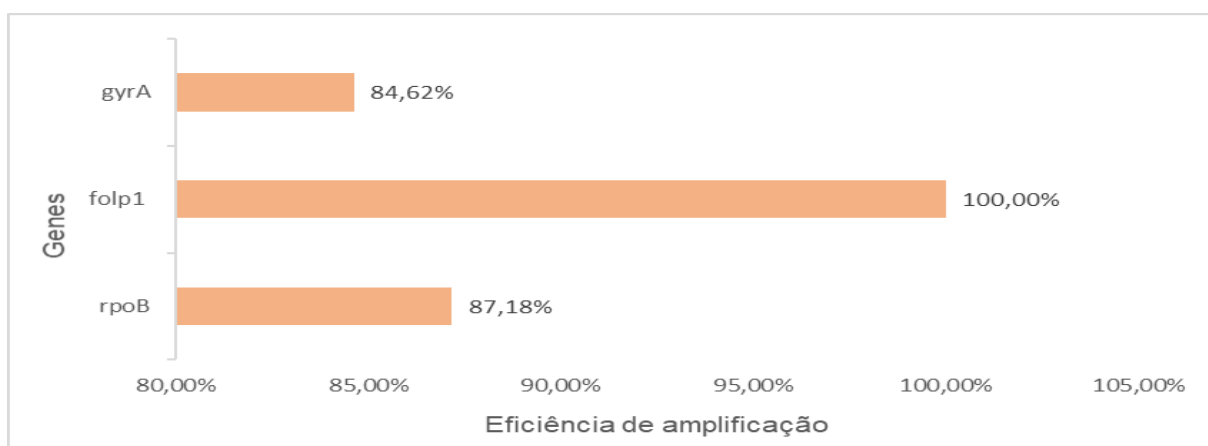
Gráfico 2 - Formas clínicas de acordo com a Classificação de Madri, observadas nos casos novos de hanseníase notificados entre 2017 a 2019, registrados no laboratório de biologia molecular da FUAM (n = 39).



Fonte: SINAN.

Quanto ao perfil de resistência, obteve-se uma melhor eficiência na amplificação das regiões-alvo no gene *folp1* (100%), seguido do gene *rpoB* (87,18%) e do gene *gyrA* (84,62%) (gráfico 3). Nenhuma mutação pontual foi encontrada nas regiões determinantes de resistência a drogas nos genes analisados, dessa forma as cepas de *M. leprae* desses pacientes demonstram-se sensíveis aos fármacos estudados.

Gráfico 3 - Eficiência de amplificação dos genes *rpoB*, *folp1* e *gyrA* dos pacientes casos novos.



Fonte: Registros do laboratório de biologia molecular da FUAM.

Segundo dados do Ministério da Saúde (BRASIL, 2020), dentre os anos de 2014 a 2018 houve nos novos casos de hanseníase do Brasil um maior acometimento da doença em pacientes do sexo masculino (55,2%), na faixa etária de 50 a 59 anos, raça parda (58,3%), com ensino fundamental incompleto (43,3%). Observa-se um aumento na proporção de pacientes multibacilares entre o total de casos novos, no ano de 2018 essa proporção chegou a 77,2%, um incremento de 26% comparado ao ano de 2009 (BRASIL, 2020). A detecção de casos novos no Brasil em 2018 se deu principalmente através de encaminhamentos (44,7%), sendo a região norte responsável pela maior proporção de detecção por demanda espontânea (44,2%) (BRASIL, 2020)

Na compilação das características sociodemográficas nota-se que os resultados obtidos no presente estudo corroboram a tendência nacional apresentada nos últimos anos para os casos novos de hanseníase diagnosticados no país, sendo mais prevalentes em uma faixa etária economicamente ativa (BRASIL, 2020). Estudos em diferentes regiões do Brasil também reforçam esses dados (BARBOSA; ALMEIDA; DOS SANTOS, 2014; SARMENTO et al., 2015; SILVA et al., 2015).

Pesquisas apontam que o baixo índice de escolaridade apresentado na presente pesquisa é configurado como um fator de risco para a transmissão da hanseníase e observa-se um maior acometimento em indivíduos com renda familiar baixa, esse fato acarreta em impactos nas relações profissionais dos portadores da hanseníase e no âmbito biopsicossocial dos mesmos (GARBIN et al., 2015; MARAHATTA et al., 2018; NERY et al., 2019). Diante desse contexto a doença é atrelada muitas vezes ao baixo grau de instrução dos pacientes, à pobreza e à falta de higiene, acarretando em estigma e preconceito por parte da sociedade (NERY et al., 2019; SANTOS; CASTRO; FALQUETO, 2008).

Apesar dos presentes dados de resistência entre os casos novos não apontarem cepas de *M. leprae* resistentes, dados recentes da literatura indicam a presença de resistência medicamentosa primária em distintas regiões do globo (AVANZI et al., 2016; CHAUFFOUR et al., 2018; LAVANIA et al., 2015; LIU et al., 2015).

Um estudo conduzido por Cambau *et al.* (2018) traz os resultados obtidos da rede de vigilância em resistência medicamentosa na hanseníase instaurada pela OMS, desde sua criação no ano de 2009 até o ano de 2015. Dentre os casos novos testados, o Brasil apresentou o dobro da taxa de resistência a rifampicina em

relação a Índia, possuindo o maior índice de resistência primária a esse fármaco comparado aos outros países integrantes da rede (CAMBAU et al., 2018). Apesar desse índice se tratar apenas de cinco casos resistentes demonstra-se a importância de se reforçar o monitoramento no país, especialmente tratando-se de uma droga que é imprescindível para a eficácia do tratamento (CAMBAU et al., 2018).

Com a participação de pesquisadores da Fundação Alfredo da Matta, Méjia et al. (2014) evidenciaram no Estado do Amazonas três casos novos de hanseníase com polimorfismos no gene *rpoB*, conferindo resistência primária a rifampicina. Este foi um achado alarmante na região e corrobora a necessidade de uma maior frequência na realização de monitoramentos atrelados a resistência medicamentosa em hanseníase a nível local, como o realizado na presente pesquisa (MEJÍA et al., 2014).

Na Região Amazônica Brasileira, Rosa *et al.* (2020) expuseram recentemente dados sobre a prevalência de resistência medicamentosa em uma população habitante na Vila do Santo Antônio do Prata (Aldeia do Prata), localizada no Estado do Pará. Segundo a pesquisa há uma circulação ativa do *Mycobacterium leprae* entre os aproximadamente 3.000 habitantes da comunidade e um cenário de resistência preocupante, incentivando ainda mais a execução de estudos na região norte do país (ROSA et al., 2020). Foi demonstrada a transmissão de cepas resistentes entre esses indivíduos e foi comprovado o que os autores atribuem como um cenário de emergência local, onde reforça-se que atitudes rápidas devem ser tomadas na região a fim de se evitar a propagação exacerbada de cepas resistentes, recomendando que uma vigilância mais rigorosa seja realizada em outras regiões do mundo (ROSA et al., 2020).

5.2 Recidivas

Durante o período de 2017 a 2019 foram notificados na Fundação Alfredo da Matta 52 casos de recidiva, desses 26 (50%) tiveram suas amostras de biópsias cutâneas encaminhadas para a pesquisa de resistência medicamentosa. Na análise sociodemográfica dessa população evidenciou-se que a faixa etária de 35 a 55 anos foi prevalente (53,85%), seguido daqueles que apresentaram entre 56 a 67 anos (38,46%), com uma média de idade de 56 anos. Houve uma predominância de pacientes do sexo masculino (76,92%), raça parda (88,46%), com nível de escolaridade entre a 1ª e a 4ª série incompleta do ensino fundamental (34,62%), conforme apresentado na tabela 2.

Tabela 2 - Características sociodemográficas de casos de recidivas em hanseníase notificados entre 2017 a 2019, registrados no laboratório de biologia molecular da FUAM.

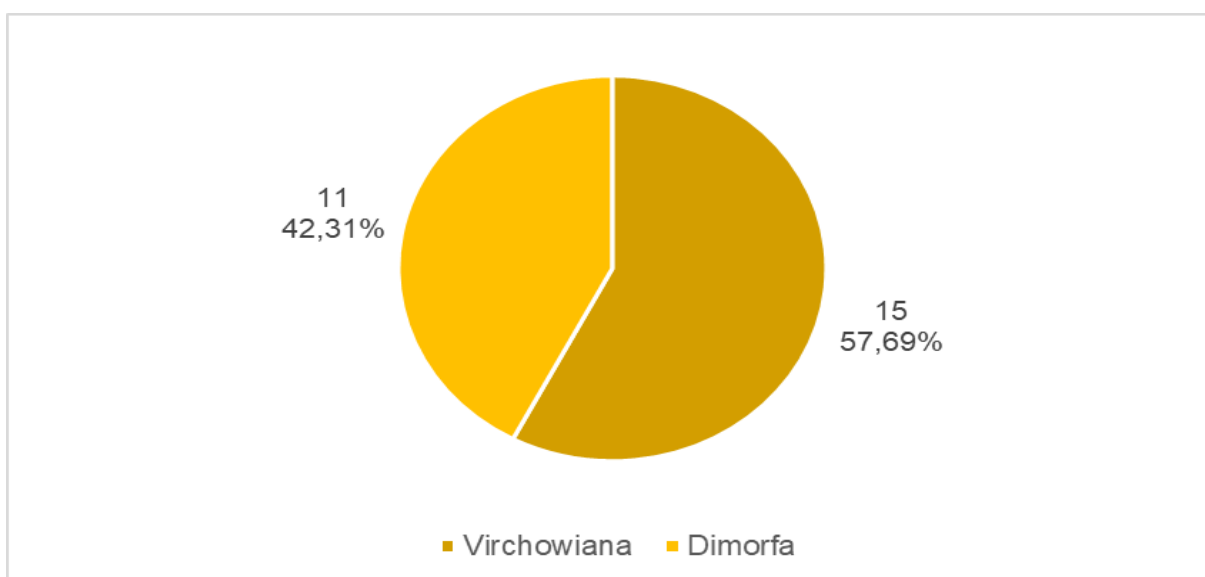
VARIÁVEL		N	%
Idade	35 a 55	14	53,85
	56 a 67	10	38,46
	≥70	2	7,69
	TOTAL	26	100,00
Sexo	Masculino	20	76,92
	Feminino	6	23,08
	TOTAL	26	100,00
Raça	Branca	1	3,85
	Preta	1	3,85
	Parda	23	88,46
	Não registrados/ignorados	1	3,85
	TOTAL	26	100,00
Escolaridade	Analfabetos	2	7,69
	1ª a 4ª série incompleta do ensino fundamental	9	34,62
	Ensino médio completo	4	15,38
	Não registrados/ignorados	11	42,31
	TOTAL	26	100,00

Fonte: SINAN.

Percebe-se quanto a escolaridade, que a maioria dos pacientes não tiveram seus dados registrados ou essa variável foi ignorada no momento do registro, o que perfaz uma perda parcial dessas informações.

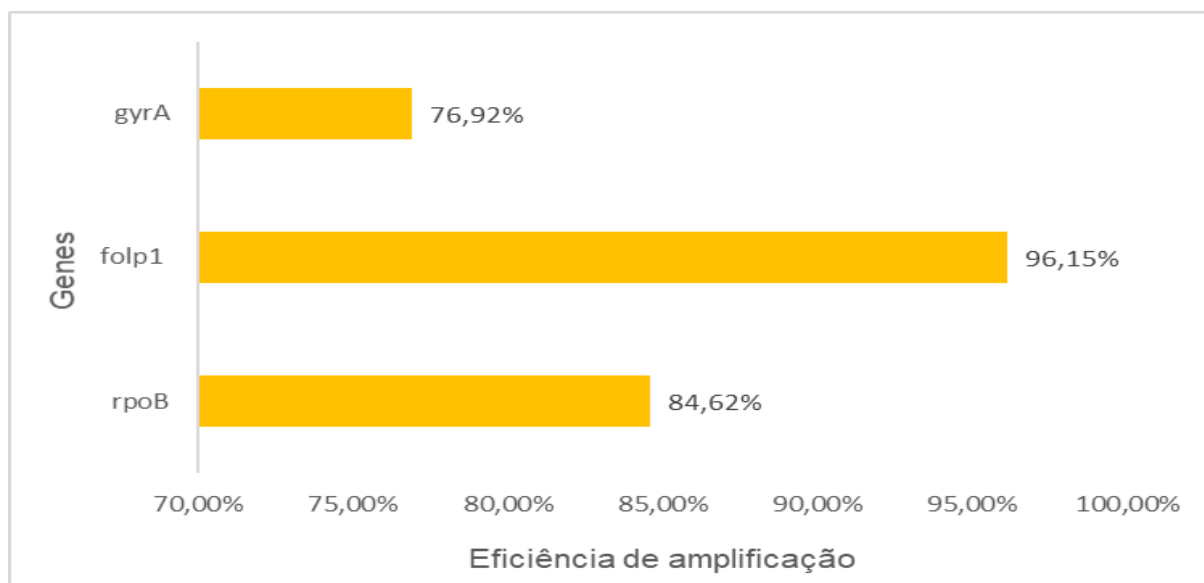
Em relação aos dados clínicos obteve-se uma média de 18 lesões cutâneas nessa população, onde a maioria dos casos apresentou entre 2 a 6 nervos afetados (61,54%). Considerando-se a Classificação de Madri a forma clínica virchowiana foi a mais recorrente acometendo 57,69% dos casos, seguido da forma dimorfa (42,31%) (gráfico 4). Todos os pacientes em quadro de recidiva foram classificados a princípio como multibacilares e iniciaram o tratamento fazendo o uso do esquema terapêutico PQT/MB/12 doses. Analisando os dados laboratoriais do exame de baciloscopia, obteve-se um índice baciloscópico médio de 2,87+.

Gráfico 4 - Formas clínicas de acordo com a Classificação de Madri, observadas nos casos de recidiva de hanseníase notificados entre 2017 a 2019, registrados no laboratório de biologia molecular da FUAM (n = 26).



Fonte: SINAN.

Analisando o perfil de resistência dessa população, observou-se que a eficiência de amplificação foi maior no gene *folp1* (96,15%), seguido do gene *rpoB* (84,62%) e do gene *gyrA* (76,92%) (gráfico 5). Uma mutação pontual no gene *folp1* foi encontrada no códon 55 (CCC-CGC), resultando na mudança do aminoácido prolina para arginina e dessa forma, conferindo resistência secundária a dapsona nesse caso de recidiva.

Gráfico 5 - Eficiência de amplificação dos genes *rpoB*, *folp1* e *gyrA*, dos pacientes com recidiva.

Fonte: Registros do laboratório de biologia molecular da FUAM.

Na análise das variáveis sociodemográficas, os resultados expressos no presente estudo estão de acordo com o observado em outros estados brasileiros para os casos confirmados de recidiva, indicando que os mesmos tendem a se manter estáveis nessa população. (ALMEIDA et al., 2018; BONA et al., 2015; DINIZ et al., 2009; FERREIRA; IGNOTTI; GAMBA, 2012; MELO et al., 2014).

A presença da mutação pontual no códon 55 (Pro – Arg) chamou atenção entre os casos de recidiva. Estudos comprovam que mutações pontuais encontradas no códon 55 do *M. leprae* são responsáveis pela resistência medicamentosa à dapsona (KAI et al., 1999; MAEDA et al., 2001; WILLIAMS et al., 2000).

Trata-se de um paciente do sexo masculino, solteiro, com 54 anos de idade, pardo, que possui ensino fundamental incompleto. Habita atualmente em casa de alvenaria, com serviço de água, luz e esgoto, onde mora com mais três pessoas. Foi diagnosticado pela primeira vez com hanseníase no ano de 1995, foi classificado como multibacilar, apresentando a forma clínica virchowiana da doença. Realizou na Fundação Alfredo da Matta o tratamento completo PQT/MB preconizado pela OMS, que consistia em 24 doses, recebendo alta por critérios clínicos de cura em 1997.

No ano de 2018 o paciente retornou à instituição por demanda espontânea, devido a lesões no corpo e dormência na pele. Constatou-se a presença de inúmeros bacilos íntegros e fragmentados, com um índice baciloscópico de 4+,

dessa forma recebeu o diagnóstico em abril do mesmo ano de hanseníase virchowiana, em um quadro de recidiva associada a reação hansênica tipo II.

O paciente iniciou o uso da PQT/MB/12 doses, porém durante o curso do tratamento necessitou utilizar talidomida e em algumas vezes prednisona por conta da evidência de eritemas nodosos hansênicos, artralgia e edemas. Devido ao fluxo de rotina da vigilância em resistência medicamentosa em hanseníase foi encaminhada ao laboratório de biologia molecular da FUAM uma amostra de biópsia de pele do paciente conservada em álcool 70%, onde foi constatada em setembro de 2018 uma mutação pontual no gene *folp1*, mais especificamente no códon 55 (CCC-CGC), conferindo resistência secundária a dapsona a esse caso.

Foi necessária a mudança do esquema terapêutico, e a partir de sua 7ª dose passou a utilizar ofloxacina 400 mg diariamente e de forma supervisionada em substituição à dapsona. Devido à instabilidade de seu quadro clínico, o paciente seguiu com o tratamento mesmo após completá-lo com a 12ª dose da poliquimioterapia substitutiva. Ao atingir a sua 13ª dose, a ofloxacina foi substituída pela minociclina 100 mg por conta da falta do fármaco na FUAM, dessa forma o paciente prosseguiu com o esquema substitutivo com minociclina até a sua 16ª dose quando retornou com o uso da ofloxacina e seguiu até a 24ª dose, recebendo alta por cura da hanseníase em janeiro de 2020. No momento de sua alta não apresentava mais queixas, porém ao exame apresentou infiltrado em face, nervos ulnares palpáveis e indolores e um único nódulo subcutâneo em braço esquerdo. Ao exame de baciloscopia apresentou um índice baciloscópico de 3,75+.

Atualmente o paciente segue em tratamento na FUAM para reação hansênica do tipo II com talidomida.

Mundialmente há casos esporádicos atuais que atestam a presença de resistência aos fármacos utilizados na poliquimioterapia padrão associados a casos de recidiva (CAMBAU et al., 2018; CHOKKAKULA et al., 2019; LAVANIA et al., 2014, 2017; MATSUOKA et al., 2007). Os primeiros relatos de resistência secundária à dapsona no Brasil datam da década de 1980, dos quais por meio da técnica de Shepard comprovaram-se no Estado do Amazonas seis pacientes resistentes ao fármaco que não obtinham melhoras com o tratamento (TALHARI et al., 1985) .

No Brasil, Rocha et al. (2012) executaram uma pesquisa prospectiva em cinco estados altamente endêmicos para hanseníase, incluindo o Amazonas, onde foram

avaliadas tendências de resistência medicamentosa em casos de recidiva, durante os anos de 2006 a 2008. Em quatro casos pôde-se notar a presença de mutações associadas a resistência, sendo demonstrada em três deles a mesma mutação no gene *folp1* encontrada no presente monitoramento (ROCHA et al., 2012). Um desses pacientes era proveniente do Estado do Amazonas e apresentou mutações também em regiões do gene *rpoB* e *gyrA*, conferindo resistência a múltiplas drogas, corroborando o surgimento de cepas resistentes na região. Mejía et al. (2014) também evidenciaram no Amazonas a presença de um caso de recidiva com resistência múltipla, do qual habitou em um leprosário e que além da monoterapia com dapsona, realizou também dois ciclos de PQT/MB/ 24 doses.

Os resultados aqui expostos constataam a presença de um caso de recidiva resistente à dapsona no Amazonas, dessa forma é necessário que haja um acompanhamento mais próximo do tratamento dessa população. Estimula-se a continuidade na inserção desses pacientes no fluxo de vigilância em resistência medicamentosa na hanseníase, a fim de se obter um diagnóstico precoce de casos resistentes e tratá-los corretamente, fazendo a alteração do esquema terapêutico.

6 CONCLUSÃO

Na análise sociodemográfica das populações de casos novos e recidivas observou-se que há uma predominância de pacientes do sexo masculino, pardos, com baixa escolaridade em uma faixa etária de idade economicamente ativa. No exame clínico os pacientes apresentaram predominantemente a forma virchowiana da doença, manifestando lesões associadas a comprometimentos neurais.

Na análise de resistência notou-se que dentre os 39 casos novos abordados no presente estudo não foram evidenciadas cepas de *M. leprae* resistentes aos fármacos rifampicina, dapsona e ofloxacina, apresentando-se essas sensíveis ao tratamento. Todavia dentre os 26 casos de recidiva analisados um paciente demonstrou uma mutação pontual no códon 55 do gene *folp1*, constatando a presença de um caso recidivado resistente à dapsona no Amazonas. Desse modo recomenda-se fortemente que estudos de vigilância em resistência medicamentosa na hanseníase sejam continuados a nível global, nacional e local, utilizando de uma maior quantidade de amostras, haja vista que o número de casos analisados na presente pesquisa não demonstra a real dimensão do impacto de casos resistentes no Estado do Amazonas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, K. T. et al. Recidiva da hanseníase entre os anos 2005-2015. **Revista de Enfermagem UFPE on line**, v. 12, n. 10, p. 2528–2534, 2018.
- ARAÚJO, M. G. Hanseníase no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 3, p. 373–382, 2003.
- ARAUJO, S. et al. Molecular evidence for the aerial route of infection of *Mycobacterium leprae* and the role of asymptomatic carriers in the persistence of leprosy. **Clinical Infectious Diseases**, 2016.
- AVANZI, C. et al. Transmission of drug-resistant leprosy in Guinea-Conakry detected using molecular epidemiological approaches. **Clinical Infectious Diseases**, v. 63, n. 11, p. 1482–1484, 2016.
- BARBOSA, D. R. M.; ALMEIDA, M. G.; DOS SANTOS, A. G. Características epidemiológicas e espaciais da hanseníase no estado do maranhão, Brasil, 2001-2012. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 47, n. 4, p. 347–356, 2014.
- BELTRÁN-ALZATE, C. et al. Leprosy Drug Resistance Surveillance in Colombia: The Experience of a Sentinel Country. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 10, p. 1–12, 2016.
- BONA, S. H. et al. Recidivas de hanseníase em Centros de Referência de Teresina, Piauí, 2001-2008. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 4, p. 731–738, 2015.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Diretrizes para vigilância, atenção e eliminação da hanseníase como problema de saúde pública. 2016.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Guia prático sobre a hanseníase. 2017.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Boletim Epidemiológico. Hanseníase 2020. 2020.
- BROWNE, S. G.; HOGERZEIL, L. M. “B 663” in the treatment of leprosy. Preliminary report of a pilot trial. **Leprosy review**, v. 33, p. 6–10, 1962.
- CAMBAU, E. et al. Multidrug-resistance to dapsone, rifampicin, and ofloxacin in *Mycobacterium leprae*. **Lancet**, v. 349, n. 9045, p. 103–104, 1997.
- CAMBAU, E. et al. Antimicrobial resistance in leprosy: results of the first prospective open survey conducted by a WHO surveillance network for the period 2009–15. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 24, n. 12, p. 1305–1310, 2018.
- CHAE, G. T. et al. DNA-PCR and RT-PCR for the 18-kDa gene of *Mycobacterium leprae* to assess the efficacy of multi-drug therapy for leprosy. **Journal of Medical Microbiology**, v. 51, n. 5, p. 417–422, 2002.
- CHAUFFOUR, A. et al. Prospective study on antimicrobial resistance in leprosy cases diagnosed in France from 2001 to 2015. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 24, n. 11, p. 1213.e5-1213.e8, 2018.
- CHOKKAKULA, S. et al. Molecular surveillance of antimicrobial resistance and transmission pattern of *Mycobacterium leprae* in Chinese leprosy patients. **Emerging**

Microbes and Infections, v. 8, n. 1, p. 1479–1489, 2019.

CUNHA, C. et al. A historical overview of leprosy epidemiology and control activities in Amazonas, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, p. 55–62, 2015.

DA SILVA CRUZ, R. C. et al. Leprosy: current situation, clinical and laboratory aspects, treatment history and perspective of the uniform multidrug therapy for all patients *. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 92, n. 6, p. 761–773, 2017.

DE WIT, M. Y. L. et al. Application of a polymerase chain reaction for the detection of *Mycobacterium leprae* in skin tissues. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, n. 5, p. 906–910, 1991.

DIEDEN, T. W. Clofazimine-Resistant Leprosy, a Case Report. **International Journal of Leprosy**, v. 50, n. 2, p. 139–142, 1982.

DINIZ, L. M. et al. Estudo retrospectivo de recidiva da hanseníase no Estado do Espírito Santo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 4, p. 420–424, 2009.

EICHELMANN, K. et al. Leprosy . An Update : Definition , Pathogenesis , Classification , Diagnosis , and Treatment. v. 104, n. 7, p. 554–563, 2013.

FERREIRA, S. M. B.; IGNOTTI, E.; GAMBÁ, M. A. Características clínico-laboratoriais no retratamento por recidiva em hanseníase. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 15, n. 3, p. 573–581, 2012.

FUNDAÇÃO ALFREDO DA MATTA. Boletim Epidemiológico. Situação Epidemiológica da Hanseníase no Estado do Amazonas - 2018. **Boletim Epidemiológico**, v. 26, p. 1–8, 2019.

GAMA, R. S. et al. High frequency of *M. leprae* DNA detection in asymptomatic household contacts. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p. 1–6, 2018.

GARBIN, C. A. S. et al. The stigma and prejudice of leprosy: Influence on the human condition. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 2, p. 194–201, 2015.

GOULART, I. M. B.; GOULART, L. R. Leprosy: Diagnostic and control challenges for a worldwide disease. **Archives of Dermatological Research**, v. 300, n. 6, p. 269–290, 2008.

HARTSKEERL, R. A.; DE WIT, M. Y. L.; KLATSER, P. R. Polymerase chain reaction for the detection of *Mycobacterium leprae*. **Journal of General Microbiology**, v. 135, n. 9, p. 2357–2364, 1989.

HITCHINGS, G. H.; BURCHALL, J. J. Inhibition of folate biosynthesis and function as a basis for chemotherapy. **Advances in enzymology and related areas of molecular biology**, v. 27, p. 417–468, 1965.

HONORE, N.; COLE, S. T. Molecular Basis of Rifampin Resistance in *Mycobacterium leprae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 37, n. 3, p. 414–418, 1993.

JACOBSON, R. R.; HASTINGS, R. C. Rifampin-Resistant Leprosy. **The Lancet**, v. 308, n. 7998, p. 1304–1305, 1976.

- JOB, C. K. et al. Transmission of Leprosy : A Study of Skin and Nasal Secretions of Household Contacts of Leprosy Patients Using PCR. v. 78, n. 3, p. 518–521, 2008.
- KAI, M. et al. Diaminodiphenylsulfone resistance of Mycobacterium leprae due to mutations in the dihydropteroate synthase gene. **FEMS Microbiology Letters**, p. 231–235, 1999.
- KAMPIRAPAP, K. et al. DNA Amplification for Detection of Leprosy and Assessment of Efficacy of Leprosy Chemotherapy. **International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases**, v. 66, n. 1, p. 16–21, 1998.
- KUNDAKCI, N.; ERDEM, C. Leprosy: A great imitator. **Clinics in Dermatology**, v. 37, n. 3, p. 200–212, 2019.
- LASTÓRIA, J. C.; ABREU, M. A. M. M. DE. Hanseníase: diagnóstico e tratamento. **Dermatologia**, v. 17, n. 4, p. 173- 179., 2012.
- LAVANIA, M. et al. Drug resistance patterns in Mycobacterium leprae isolates from relapsed leprosy patients attending The Leprosy Mission (TLM) Hospitals in India. **Leprosy review**, v. 85, n. 3, p. 177–185, 2014.
- LAVANIA, M. et al. Emergence of primary drug resistance to rifampicin in Mycobacterium leprae strains from leprosy patients in India. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 21, n. 12, p. e85–e86, 2015.
- LAVANIA, M. et al. Molecular detection of multidrug-resistant Mycobacterium leprae from Indian leprosy patients. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, 2017.
- LIU, D. et al. Drug resistance in Mycobacterium leprae from patients with leprosy in China. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 40, n. 8, p. 908–911, 2015.
- LOWE, J. Treatment of leprosy with diamino-diphenyl sulphone by mouth. **The Lancet**, p. 146–150, 1950.
- MAEDA, S. et al. Multidrug resistant Mycobacterium leprae from patients with leprosy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 12, p. 3635–3639, 2001.
- MALE, M. M. et al. Molecular screening for primary drug resistance in M. leprae from newly diagnosed leprosy cases from India. **Lepr. Rev.**, v. 87, p. 322–331, 2016.
- MANTA, F. S. N. et al. Quantitative PCR for leprosy diagnosis and monitoring in household contacts: A follow-up study, 2011–2018. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–8, 2019.
- MARAHATTA, S. B. et al. Perceived stigma of leprosy among community members and health care providers in Lalitpur district of Nepal: A qualitative study. **PLoS ONE**, v. 13, n. 12, p. 1–13, 2018.
- MARTINEZ, A. N. et al. Evaluation of real-time and conventional PCR targeting complex 85 genes for detection of Mycobacterium leprae DNA in skin biopsy samples from patients diagnosed with leprosy. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 9, p. 3154–3159, 2006.
- MARTINEZ, A. N. et al. Molecular determination of Mycobacterium leprae viability by use of real-time PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 7, p. 2124–2130, 2009.

- MARTINEZ, A. N. et al. Evaluation of qPCR-Based assays for leprosy diagnosis directly in clinical specimens. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 10, p. 1–8, 2011.
- MARTINEZ, A. N. et al. PCR-Based Techniques for Leprosy Diagnosis: From the Laboratory to the Clinic. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 4, p. 1–8, 2014.
- MATSUOKA, M. et al. The frequency of drug resistance mutations in Mycobacterium leprae isolates in untreated and relapsed leprosy patients from Myanmar, Indonesia and the Philippines. **Leprosy Review**, v. 78, n. 4, p. 343–352, 2007.
- MATSUOKA, M. Drug resistance in leprosy. **Jpn.J. Infect. Dis.**, v. 63, p. 1–7, 2010.
- MATSUOKA, M. Global surveillance system to monitor the development of drug resistance in Mycobacterium leprae. **Research and Reports in Tropical Medicine**, p. 75, 2015.
- MEJÍA, M. D. C. C. et al. Identification of primary drug resistance to rifampin in mycobacterium leprae strains from leprosy patients in Amazonas State, Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 12, p. 4359–4360, 2014.
- MELO, S. L. et al. Recidiva hansênica em área de alta endemicidade no Estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 3, p. 19–24, 2014.
- MORRISON, N. E.; MARLEY, G. M. Clofazimine binding studies with deoxyribonucleic acid. **International Journal of Leprosy**, v. 44, n. 4, p. 475–481, 1976.
- NERY, J. S. et al. Socioeconomic determinants of leprosy new case detection in the 100 Million Brazilian Cohort: a population-based linkage study. **The Lancet Global Health**, v. 7, n. 9, p. e1226–e1236, 2019.
- PEARSON, J. M. H.; REERS, R. J. W.; WATERS, M. F. R. SULPHONE RESISTANCE IN LEPROSY. A Review of One Hundred Proven Clinical Cases. **The Lancet**, p. 69–72, 1975.
- PEARSON, J. M. H.; CAP, J. A.; HAILE, G. S. Dapsone-resistant Leprosy and its implications for leprosy control programmes. **Leprosy review**, p. 83–94, 1977.
- PETERS, J. . et al. The incidence of DDS resistance in lepromatous patients in Costa Rica: their metabolic disposition of DDS. **International Journal of Leprosy**, v. 44, n. 1&2, p. 143–151, 1976.
- PETTIT, J. H. S.; REES, R. J. W. SULPHONE RESISTANCE IN LEPROSY. An Experimental and Clinical Study. **The Lancet**, v. 284, n. 7361, p. 673–674, 1964.
- REES, R. J. W.; PEARSON, J. M. H.; WATERS, M. F. R. Experimental and clinical studies on rifampicin in the treatment of leprosy. **British Medical Journal**, v. 1, p. 89–92, 1970.
- RIDLEY, D. S.; JOPLING, W. H. Classification of Leprosy According to Immunity. **International Journal of Leprosy**, v. 34, n. 3, p. 255–273, 1966.
- ROCHA, A. D. S. et al. Drug and multidrug resistance among Mycobacterium leprae isolates from Brazilian relapsed leprosy patients. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, n. 6, p. 1912–1917, 2012.

- ROSA, P. S. et al. Emergence and Transmission of Drug-/Multidrug-resistant *Mycobacterium leprae* in a Former Leprosy Colony in the Brazilian Amazon. **Clinical infectious diseases**, v. 70, n. 10, p. 2054–2061, 2020.
- RUDEEANEKSIN, J. et al. LightCycler™ real-time PCR for rapid detection and quantitation of *Mycobacterium leprae* in skin specimens. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 54, n. 2, p. 263–270, 2008.
- SAITO, H.; TOMIOKA, H.; NAGASHIMA, K. In vitro and in vivo activities of ofloxacin against *Mycobacterium leprae* infection induced in mice. **International Journal of Leprosy**, v. 54, n. 4, p. 560–562, 1986.
- SANTOS, A. S.; CASTRO, S. D. DE;; FALQUETO, A. Fatores de risco para transmissão da Hanseníase. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, p. 738–743, 2008.
- SARMENTO, A. P. A. E et al. Perfil epidemiológico da hanseníase no período de 2009 a 2013 no município de Montes Claros (MG). **Rev Soc Bras Clin Med**, v. 13, n. 3, p. 180–184, 2015.
- SCHWEICKARDT, J. C.; XEREZ, L. M. DE. A hanseníase no Amazonas: Política e institucionalização de uma doença. **Historia, Ciencias, Saude - Manguinhos**, v. 22, n. 4, p. 1141–1156, 2015.
- SHEPARD, C. C. Acid-fast bacilli in nasal excretions in leprosy, and results of inoculation of mice. **American Journal of Epidemiology**, v. 71, n. 2, p. 147–157, 1960.
- SILVA, M. D. S. et al. Perfil clínico-epidemiológico da hanseníase no estado do Acre: estudo retrospectivo. **Hansenologia Internationalis**, v. 39, n. 2, p. 19–26, 2015.
- SINGH, T. B. et al. Resistance to anti leprosy drugs in multi-bacillary leprosy: A cross sectional study from a tertiary care centre in eastern Uttar Pradesh, India. **Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology**, v. 84, n. 3, p. 275–279, 2018.
- SPEERS, D. J. Clinical applications of molecular biology for infectious diseases. **The Clinical biochemist. Reviews**, v. 27, n. 1, p. 39–51, 2006.
- TALHARI, S. et al. Sulfono-resistência secundária – Comprovação laboratorial em seis casos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 60, n. 4, 1985.
- TALHARI, S. et al. **Hanseníase I**. 5ª ed. Manaus, Amazonas: Dilivros, 2015.
- TATIPALLY, S.; SRIKANTAM, A.; KASETTY, S. Polymerase chain reaction (PCR) as a potential point of care laboratory test for leprosy diagnosis—a systematic review. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 3, n. 4, 2018.
- WATERS, M. F. R. et al. Rifampicin for lepromatous leprosy: Nine years' experience. **British Medical Journal**, v. 1, n. 6106, p. 133–136, 1978.
- WILLIAMS, D. L. et al. The use of a specific DNA probe and polymerase chain reaction for the detection of *Mycobacterium leprae*. **Journal of Infectious Diseases**, v. 162, n. 1, p. 193–200, 1990.
- WILLIAMS, D. L. et al. Dihydropteroate synthase of *Mycobacterium leprae* and dapsona resistance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 44, n. 6, p.

1530–1537, 2000.

WILLIAMS, D. L.; GILLIS, T. P. Drug-resistant leprosy: monitoring and current status. **Leprosy review**, v. 83, n. 3, p. 269–281, 2012.

WOODS, S. A.; COLE, S. T. A rapid method for the detection of potentially viable *Mycobacterium leprae* in human biopsies: a novel application of PCR. **FEMS Microbiology Letters**, v. 65, n. 3, p. 305–309, 1989.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Chemotherapy of leprosy for control programmes** Geneva, 1982.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for global surveillance of drug resistance in leprosy. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Estratégia Global para Hanseníase 2016-2020. Aceleração rumo a um mundo sem hanseníase. **Estratégia Global para Hanseníase**, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. A guide for surveillance for antimicrobial resistance in leprosy: 2017 update. **Regional Office for South-East Asia**, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for the Diagnosis, Treatment and Prevention of Leprosy. v. 1, p. 87, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global leprosy update, 2018: moving towards a leprosy-free world. **Weekly Epidemiological Record**, v. 94, p. 389–412, 2019.

ANEXOS

ANEXO A – FICHA DE INVESTIGAÇÃO/NOTIFICAÇÃO DA HANSENÍASE (SINAN)

República Federativa do Brasil
Ministério da SaúdeSINAN
SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO
FICHA DE NOTIFICAÇÃO/ INVESTIGAÇÃO HANSENÍASE

Nº

Caso confirmado de Hanseníase: pessoa que apresenta uma ou mais das seguintes características e que requer poliquimioterapia:
- lesão (ões) de pele com alteração de sensibilidade; acometimento de nervo (s) com espessamento neural; baciloscopia positiva.

Dados Gerais	1	Tipo de Notificação		2 - Individual			
	2	Agravado/doença		Código (CID10)	3 Data da Notificação		
	HANSENÍASE		A 3 0. 9				
	4	UF	5	Município de Notificação	Código (IBGE)		
Notificação Individual	6	Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora)		Código	7 Data do Diagnóstico		
	8	Nome do Paciente			9 Data de Nascimento		
	10	(ou) Idade	11	Sexo M - Masculino F - Feminino I - Ignorado	12	Gestante	
	14		Escolaridade				
Dados de Residência	15	Número do Cartão SUS		16 Nome da mãe			
	17	UF	18	Município de Residência	Código (IBGE)	19	Distrito
	20	Bairro		21 Logradouro (rua, avenida,...)		Código	
	22	Número	23 Complemento (apto., casa, ...)		24 Geo campo 1		
	25	Geo campo 2		26 Ponto de Referência		27 CEP	
	28	(DDD) Telefone		29	Zona	30 País (se residente fora do Brasil)	
					1 - Urbana 2 - Rural 3 - Periurbana 9 - Ignorado		
Dados Complementares do Caso							
Ocupação	31	Nº do Prontuário		32 Ocupação			
Dados Clínicos	33	Nº de Lesões Cutâneas	34	Forma Clínica	35	Classificação Operacional	
			1 - I 2 - T 3 - D 4 - V 5 - Não classificado		1 - PB 2 - MB		
Atendimento	37	Avaliação do Grau de Incapacidade Física no Diagnóstico				0 - Grau Zero 1 - Grau I 2 - Grau II 3 - Não Avaliado	
	38	Modo de Entrada				1 - Caso Novo 2 - Transferência do mesmo município (outra unidade) 3 - Transferência de Outro Município (mesma UF) 4 - Transferência de Outro Estado 5 - Transferência de Outro País 6 - Recidiva 7 - Outros Reingressos 9 - Ignorado	
	39	Modo de Detecção do Caso Novo				1 - Encaminhamento 2 - Demanda Espontânea 3 - Exame de Coletividade 4 - Exame de Contatos 5 - Outros Modos 9 - Ignorado	
Dados Lab.	40	Baciloscopia				1. Positiva 2. Negativa 3. Não realizada 9. Ignorado	
Tratamento	41	Data do Início do Tratamento		42			Esquema Terapêutico Inicial
				1 - PQT/PB/ 6 doses 2 - PQT/MB/ 12 doses 3 - Outros Esquemas Substitutos			
Med. Contr.	43	Número de Contatos Registrados					
Observações adicionais:							
Investigador	Município/Unidade de Saúde				Código da Unid. de Saúde		
	Nome		Função		Assinatura		
	Hanseníase		Sinan NET		SVS 30/10/2007		