

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

SARAH LAMAS VIDAL

**RELAÇÃO ENTRE MARCADORES MOLECULARES DO *Mycobacterium leprae*
COM A RESPOSTA IMUNE, CARACTERÍSTICAS INDIVIDUAIS, DE CONVÍVIO
E O ADOECIMENTO EM UMA COORTE DE CONTATOS DE
CASOS DE HANSENÍASE**

Belo Horizonte

2024

SARAH LAMAS VIDAL

**RELAÇÃO ENTRE MARCADORES MOLECULARES DO *Mycobacterium leprae*
COM A RESPOSTA IMUNE, CARACTERÍSTICAS INDIVIDUAIS, DE CONVÍVIO
E O ADOECIMENTO EM UMA COORTE DE CONTATOS DE
CASOS DE HANSENÍASE**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Enfermagem.

Área de Concentração: Saúde e Enfermagem

Linha de Pesquisa: Saúde Coletiva

Orientador: Prof. Dr. Francisco Carlos Félix Lana

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Ida Maria Foschiani Dias
Baptista

Belo Horizonte

2024

V648r Vidal, Sarah Lamas.
Relação entre marcadores moleculares do *Mycobacterium leprae* com a resposta imune, características individuais, de convívio e o adoecimento em uma coorte de contatos de casos de hanseníase [recurso eletrônico]. / Sarah Lamas Vidal. - - Belo Horizonte: 2024.
173f.: il.
Formato: PDF.
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Francisco Carlos Félix Lana.
Coorientador (a): Ida Maria Foschiani Dias Baptista.
Área de concentração: Saúde e Enfermagem.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem.

1. Hanseníase. 2. Epidemiologia Molecular. 3. Ambiente Domiciliar. 4. Condições Sociais. 5. Imunidade. 6. Dissertação Acadêmica. I. Lana, Francisco Carlos Félix. II. Baptista, Ida Maria Foschiani Dias. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem. IV. Título.

NLM: WC 335

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE ENFERMAGEM
COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

ATA DE DEFESA DE TESE

ATA DE NÚMERO 226 (DUZENTOS E VINTE E SEIS) DA SESSÃO PÚBLICA DE ARGUIÇÃO E DEFESA DA TESE APRESENTADA PELA CANDIDATA SARAH LAMAS VIDAL PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTORA EM ENFERMAGEM.

Aos 6 (seis) dias do mês de dezembro de dois mil vinte e quatro, às 14:00 horas, realizou-se a sessão pública para apresentação e defesa da tese "*RELAÇÃO ENTRE MARCADORES MOLECULARES DO MYCOBACTERIUM LEPRAE COM A RESPOSTA IMUNE, CARACTERÍSTICAS INDIVIDUAIS, DE CONVÍVIO E O ADOECIMENTO EM UMA COORTE DE CONTATOS DE CASOS DE HANSENÍASE*", da aluna **Sarah Lamas Vidal**, candidata ao título de "Doutora em Enfermagem", linha de pesquisa "Saúde Coletiva". A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes professores doutores: Francisco Carlos Félix Lana (orientador), Marcelo Grossi Araújo, Fernanda Penido Matozinhos, Angélica da Conceição Oliveira Coelho e Fernanda Saloum de Neves Manta, sob a presidência do primeiro. Abrindo a sessão, o Senhor Presidente da Comissão, após dar conhecimento aos presentes do teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra à candidata para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença da candidata e do público, para julgamento e expedição do seguinte resultado final:

(X) APROVADA;

() REPROVADA.

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Senhor Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, eu, Heloísa dos Santos de Castro, Servidora do Colegiado de Pós-Graduação da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, lavrei a presente Ata, que depois de lida e aprovada será assinada por mim e pelos membros da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 06 de dezembro de 2024.

Prof. Dr. Francisco Carlos Félix Lana
Orientador (EE/UFMG)

Prof. Dr. Marcelo Grossi Araújo
(FM/UFMG)

Profª. Drª. Fernanda Penido Matozinhos
(EE/UFG)

Profª. Drª. Angélica da Conceição Oliveira Coelho
(UFJF)

Profª. Drª. Fernanda Saloum de Neves Manta
(FIOCRUZ)

Heloísa dos Santos de Castro
Servidora do Colegiado de Pós-Graduação

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Angélica da Conceição Oliveira Coelho, Usuária Externa**, em 17/01/2025, às 09:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Grossi Araujo, Professor do Magistério Superior**, em 17/01/2025, às 14:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Francisco Carlos Felix Lana, Professor do Magistério Superior**, em 17/01/2025, às 17:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fernanda Saloum de Neves Manta, Usuária Externa**, em 20/01/2025, às 12:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fernanda Penido Matozinhos, Professora do Magistério Superior**, em 24/01/2025, às 11:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Heloísa dos Santos de Castro, Assistente em Administração**, em 24/01/2025, às 14:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3890046** e o código CRC **BC27D64A**.

A todas as pessoas que desenvolveram
hanseníase e aos seus familiares, especialmente
àquelas que abriram as portas de suas casas e
compartilharam parte da história de suas vidas,
permitindo, assim, que este estudo fosse
realizado.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por cuidar tão bem de mim, conceder-me força e saúde, e derramar inúmeras bênçãos sobre a minha vida, para que eu consiga realizar os sonhos que
Ele permite nascer em meu coração.

À minha mãe e ao meu pai, por serem colo, abrigo e incentivo. A eles, que nunca mediram esforços para me apoiar e que, com muito amor e sabedoria, me deram todo o suporte necessário para que eu pudesse me tornar quem sou hoje, o meu muito obrigada!
Eu amo vocês, mais do que qualquer palavra possa expressar!

Aos meus irmãos, Carla e Felipe, por todo o amor compartilhado, por acreditarem em mim e me incentivarem a ir além. Eu não imagino a minha vida sem vocês!

Aos meus sobrinhos, Mattews, Ryan, Cadu e Thomás.
Vocês têm o poder de colorir a minha vida e torná-la mais feliz.
Por vocês, eu sinto o amor mais puro e potente que eu já conheci.

À minha avó (*in memoriam*), por ter me ensinado tanto sobre a vida e sobre o amor, e por, com maestria, ter conquistado o lugar de uma das pessoas mais importantes da minha vida. Sinto sua ausência física todos os dias, mas sei que continua cuidando de mim a cada instante.

Ao João, pelo amor e parceria cultivados dia após dia.
Com sua compreensão e incentivo, muitos momentos desta jornada se tornaram mais suaves.

A minha cunhada Selmara, a tia Lena e a madrinha Márcia,
por estarem sempre ao meu lado, pelo incentivo, carinho e apoio.

A todas as minhas amigas, por compreenderem as minhas ausências, e não soltarem as minhas mãos, me apoiando em cada passo. Com vocês, a caminhada é mais leve.

Aos colegas e amigos da farmácia do Hospital Universitário de Juiz de Fora, pela compreensão, parceria, suporte e carinho. Por poder contar com o apoio de vocês, em muitos momentos, o percurso foi mais tranquilo.

Ao Chico, não apenas pela orientação, mas também pelos ensinamentos e oportunidades concedidas ao longo destes anos, que foram muito além da tese. E, sobretudo, pela confiança em mim depositada, pela parceria e amizade construídas e pela excelência com que conduziu essa trajetória.

A Ida, pela coorientação, pelos saberes compartilhados e por ter coordenado com sabedoria as análises moleculares. E aos seus alunos, em especial à Lavínia, por terem se dedicado à realização das análises, e principalmente pela parceria e apoio estabelecidos.

Aos amigos e colegas do NEPHANS, pela dedicação nas coletas de dados que possibilitaram a realização deste trabalho, por todos os momentos vivenciados, pelos conhecimentos compartilhados, pela colaboração, pela acolhida e pelas trocas – não só de conhecimento, mas também de afeto.

A Angélica, por ter se tornado, além de professora, amiga. Por ser uma das minhas grandes incentivadoras e a principal responsável por eu ter me apaixonado pela pesquisa.

A Profa. Dra. Mery, pelo suporte na realização das análises estatísticas.

A Mariza, por ter construído as estratégias de busca para a realização da revisão sistemática e por todo apoio e leveza durante nossos encontros.

Aos professores e funcionários da Escola de Enfermagem da UFMG, pela competência na condução de todos os processos necessários durante a caminhada na pós-graduação.

A FAPEMIG pelo apoio financeiro essencial para a realização da pesquisa que originou esta tese.

A todos, que, de alguma maneira, estiveram presentes e participaram desta importante jornada,

Muito obrigada!

"O real não está na saída nem na chegada: ele se dispõe para a gente é no meio da travessia" (Guimarães Rosa, 1994, p. 86).

RESUMO

O desenvolvimento da hanseníase está relacionado a determinantes biológicos, assim como de convívio. Nas últimas décadas ocorreram avanços com relação à identificação do *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) em amostras clínicas. Dada a complexidade da doença, analisar as relações entre seus determinantes se faz necessário para melhor compreensão do processo de adoecimento relacionado a ela. O objetivo deste estudo foi analisar a relação da viabilidade molecular do *M. leprae* com características individuais, de convívio, da resposta imune e o adoecimento de contatos de casos de hanseníase. Realizou-se uma revisão sistemática e um estudo epidemiológico. O intuito da revisão foi identificar a relação entre a presença e/ou a viabilidade molecular do *M. leprae* com o processo de infecção e/ou adoecimento de contatos de casos de hanseníase. O estudo epidemiológico foi observacional, realizado com uma coorte de contatos com quatro acompanhamentos entre 2014 e 2024, em seis municípios de Minas Gerais. Foram avaliados dados clínicos, epidemiológicos, de convívio e sorológicos obtidos por acesso a banco de dados de pesquisa anterior do Núcleo de Estudos e Pesquisas em Hanseníase (NEPHANS). Neste estudo, foram realizadas análises moleculares para identificação dos alvos RLEP, 16S e *hsp18* do *M. leprae* em *swab* nasal. A caracterização da população de estudo foi feita a partir da análise descritiva dos dados. Para as análises estatísticas utilizou-se os testes Kolmogorov-Smirnov, McNemar, Kappa, Qui-Quadrado (X^2) ou exato de Fisher, Mann-Whitney e coeficiente Phi (ϕ). Em todas as análises considerou-se um nível de significância de 5%. Os resultados da revisão sistemática evidenciaram que há grande diversidade de marcadores moleculares já testados em relação à identificação do DNA de *M. leprae* em contatos, entretanto em nenhum dos estudos recuperados, foi avaliada a viabilidade molecular do bacilo entre os contatos em relação à infecção e ao adoecimento. Concluiu-se que a detecção do DNA do *M. leprae* *per se* não fornece evidências suficientes para atrelar a positividade molecular ao desenvolvimento de infecção e adoecimento entre contatos. As análises moleculares realizadas neste estudo, evidenciaram positividade ao RLEP em mais de 90% dos contatos. Os alvos 16S e *hsp18* apresentaram 79,4% e 39,2% de positividade, respectivamente, no primeiro ano. Considerando a transitoriedade da exposição, 92,2% apresentaram bacilo viável na mucosa nasal em algum momento do seguimento, identificado pelo 16S, e 64,7% pelo *hsp18*. Apesar disso, a permanência da viabilidade foi observada em 51% pelo 16S e em 11,8% pelo *hsp18*. Na análise bivariada, apenas a variável densidade domiciliar apresentou associação significativa com o alvo *hsp18*, sendo que a maior positividade foi entre os contatos que moravam em residências com maior densidade de pessoas. Foi identificado adoecimento em um único contato. Os resultados evidenciam uma alta prevalência de *M. leprae* viável entre os contatos avaliados. Não foi possível definir um modelo que relacione as características dos contatos com a identificação de bacilo viável no organismo destes. Apesar disso, a densidade domiciliar e de dormitório, as variáveis relacionadas ao caso índice e o resultado da sorologia apresentaram o mesmo comportamento em relação ao 16S e *hsp18*. Sugere-se que, na região avaliada, a exposição ao bacilo viável é favorecida pela maior densidade domiciliar e de dormitórios e pelas características clínicas do caso índice. E que, diante da permanência da viabilidade, a ausência de anticorpos indica o importante papel da imunidade inata nessa população. Os resultados fornecem pistas para investigações futuras, para a criação de um modelo que direcione a vigilância de contatos, elencando aqueles a serem avaliados quanto à viabilidade do *M. leprae* antes do surgimento de sinais clínicos. E desta maneira, contribuem para o desenvolvimento de ações que visem alcançar a identificação precoce da infecção e consequentemente a interrupção da transmissão da hanseníase.

Palavras-chave: hanseníase; epidemiologia molecular; ambiente domiciliar; condições sociais; imunidade.

ABSTRACT

The development of leprosy is related not only to biological determinants but also to living conditions. In recent decades, progress has been made in identifying *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) in clinical samples. Given the complexity of leprosy, analyzing the relationship between its many determinants is necessary for a better understanding of the illness process related to it. This study aimed to investigate the relationship between the molecular viability of *M. leprae* and individual characteristics, living conditions, the immune response, and the illness of contacts of leprosy cases. A systematic review and an epidemiological study were carried out. The review aimed to identify the relationship between the presence and/or molecular viability of *M. leprae* and the process of infection and/or illness of contacts of leprosy cases. The epidemiological study was observational carried out with a cohort of contacts with four follow-ups between 2014 and 2024, in six municipalities in Minas Gerais state. Clinical, epidemiological, social and sorological data obtained through access to a previous research database of the Núcleo de Estudos e Pesquisas em Hanseníase (NEPHANS) were evaluated. In this study, molecular analyses were carried out to identify the RLEP, 16S, and *hsp18* targets of *M. leprae* in nasal swabs. The study population was characterized using descriptive data analysis. The Kolmogorov-Smirnov, McNemar, Kappa, Chi-Square (χ^2) or Fisher's exact, Mann-Whitney, and Phi coefficient (ϕ) tests were used for statistical analysis. A significance level of 5% was used in all the analyses. The results obtained from the systematic review showed a great diversity of molecular markers already tested for identifying *M. leprae* DNA in contacts; however, none of the studies retrieved evaluated the molecular viability of the bacillus among contacts regarding infection and illness. It was concluded that detecting *M. leprae* DNA per se does not provide sufficient evidence to link molecular positivity to infection development and illness among contacts. The molecular analyses conducted in this study identified a positivity for RLEP in over 90% of contacts. The 16S and *hsp18* targets were 79.4%, and 39.2% positive, respectively, in the first year. Considering the transience of exposure, 92.2% had a viable bacillus in the nasal mucosa at some point during follow-up, identified by 16S, and 64.7% by *hsp18*. Despite this, the permanence of viability was observed in 51% by 16S and 11.8% by *hsp18*. In the bivariate analysis, only the household density variable showed a significant association with the *hsp18* target, with higher positivity observed among contacts living in households with a higher density of people. Illness was identified in only one contact. The results demonstrate a high prevalence of viable *M. leprae* among the evaluated contacts. It was not possible to define a model linking the characteristics of the contacts to the identification of viable bacilli in their bodies. However, household and dormitory density, variables related to the index case, and serology results exhibited similar behavior in relation to 16S and *hsp18*. It is suggested that, in the evaluated region, exposure to viable bacilli is favored by higher household and dormitory densities and the clinical characteristics of the index case. Furthermore, in the presence of viable bacilli, the absence of antibodies highlights the important role of innate immunity in this population. The results provide insights for future investigations to develop a model that could guide contact surveillance, identifying those to be assessed for *M. leprae* viability before the onset of clinical signs. In this way, they contribute to the development of measures to achieve early infection identification and consequently interrupt leprosy transmission.

Keywords: leprosy; molecular epidemiology; home environment; social conditions; immunity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Distribuição de novos casos de hanseníase por país no ano de 2023.....	26
Figura 2	- <i>Clusters</i> de alto risco de detecção de hanseníase no Brasil.....	28
Figura 3	- Modelo de suscetibilidade genética à hanseníase em dois estágios.....	33
Figura 4	- Células do sistema imunológico e citocinas envolvidas na resposta imune ao <i>M. leprae</i>	35
Quadro 1	- Esquema de tratamento farmacológico para hanseníase com PQT-U.....	39
Figura 5	- Mapa do estado de Minas Gerais com destaque para a microrregião de Almenara/Jacinto e municípios que compõe este estudo	48
Figura 6	- Composição da amostra de participantes do estudo – 2014-2016 e 2024.....	51
Quadro 2	- Variáveis dependentes.....	52
Quadro 3	- Variáveis independentes.....	52
Figura 7	- Fluxograma PRISMA: Processo de seleção dos estudos elegíveis para a revisão sistemática.....	63
Quadro 4	- Positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> entre os estudos incluídos na revisão sistemática.....	81

LISTA DE TABELAS

1	- Sequência de <i>Primers</i> e Sondas dos genes RLEP, 16S rRNA e <i>hsp18</i> mRNA, específicos para o <i>M. leprae</i> utilizadas nos ensaios de qPCR, 2024.....	59
2	- Características gerais dos estudos incluídos na revisão sistemática.....	65 a 68
3	- Características das análises moleculares e desfechos dos estudos avaliados na revisão sistemática.....	69 a 79
4	- Caracterização dos dados sociodemográficos dos participantes do estudo, 2014.....	91
5	- Características de convívio dos contatos, 2014.....	92
6	- Características relacionadas ao caso índice, 2014.....	93
7	- Características relacionadas à resposta imunológica dos participantes do estudo.....	94
8	- Ensaios moleculares por qPCR e RT-qPCR, 2014-2016.....	96
9	- Diferença de positividade 16S entre 2014 e 2015, 2014 e 2016, 2015 e 2016.....	98
10	- Diferença de positividade <i>hsp18</i> entre 2014 e 2015, 2014 e 2016, 2015 e 2016.....	99
11	- Prevalência de positividade 16S e <i>hsp18</i> ao longo do seguimento, 2014 a 2016.....	100
12	- Prevalência de positividade 16S e <i>hsp18</i> em todos os anos do seguimento, 2014 a 2016.....	100
13	- Análise bivariada entre as características dos contatos e a viabilidade molecular do <i>M. leprae</i>	102 a 105
14	- Análise bivariada entre a permanência da viabilidade molecular do <i>M. leprae</i> e características associadas à resposta imune dos contatos.....	111
15	- Correlação entre os marcadores 16S e <i>hsp18</i> e as características da resposta imune.....	113

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACH	- Ações de controle da hanseníase
APS	- Atenção primária à saúde
BCG	- <i>Bacilo Calmette-Guérin</i>
BSA	- <i>Bovine serum albumin</i>
BVS	- Biblioteca Virtual em Saúde
cDNA	- DNA complementar
COEP	- Comitê de ética em pesquisa
Ct	- <i>Cycle Threshold</i>
DeCS	- Descritores em ciências da saúde
DNA	- Ácido desoxirribonucleico
FAPEMIG	- Fundação de amparo à pesquisa do estado de Minas Gerais
F	- <i>Foward</i>
GIF	- Grau de incapacidade física
GRS	- Gerência regional de saúde
IB	- Índice baciloscópico
IDH	- Índice de desenvolvimento humano
IDHM	- Índice de desenvolvimento humano municipal
IFN	- <i>Interferon</i>
IgG	- Imunoglobulina G
IgM	- Imunoglobulina M
IL	- Interleucina
ILSL	- Instituto Lauro de Souza Lima
LID-1	- <i>Leprosy IDRI diagnostic 1</i>
LILACS	- <i>Latin American and Caribbean Health Sciences Literature</i>
<i>M. leprae</i>	- <i>Mycobacterium leprae</i>
MB	- Multibacilar
MEDLINE	- <i>Medical Literature Analysis and Retrieval System Online</i>
MeSH	- <i>Medical Subject Headings</i>
MFP	- <i>Mouse footpad</i>
mRNA	- Ácido ribonucleico mensageiro
MS	- Ministério da Saúde
NDO	- <i>Natural disaccharide octyl</i>

NDO-HSA	- <i>Natural disaccharide linked to human serum albumin via octyl</i>
NDO-LID	- <i>Natural disaccharide octyl - leprosy IDRI diagnostic 1</i>
NEICAS	- Núcleo de Estudos em Infecções e Complicações relacionadas à Assistência à Saúde
NEPHANS	- Núcleo de estudos e pesquisas em hanseníase
NK	- <i>Natural Killer</i>
NOS	- <i>Newcastle-Ottawa Scale</i>
NRT	- <i>Non-Reverse Transcriptase</i>
OMS	- Organização Mundial da Saúde
PB	- Paucibacilar
PCDT	- Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas
PCR	- Reação em cadeia da polimerase
PGL-1	- <i>Phenolic glycolipid 1</i>
PQT-U	- Poliquimioterapia única
PRISMA	- <i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i>
PROSPERO	- <i>International Prospective Register of Systematic Reviews</i>
QCRI	- <i>Qatar Computing Research Institute</i>
qPCR	- Reação em cadeia da polimerase em tempo real
R	- <i>Reverse</i>
RAPH	- Rede de atenção à pessoa com hanseníase
RLEP	- <i>Repetitive element</i>
rRNA	- Ácido ribonucleico ribossômico
RP	- Razão de prevalência
RR	- Risco relativo
RT	- <i>Reverse Transcriptase</i>
RT-PCR	- PCR com transcriptase reversa
RV+	- Razão de verossimilhança positiva
SES	- Secretaria de Estado de Saúde
SINAN	- Sistema de informação de agravos de notificação
SPSS	- <i>Statistical package for social sciences</i>
SUS	- Sistema Único de Saúde
TCLE	- Termo de consentimento livre e esclarecido
Th	- <i>T helper</i>

TNF	- Fator de necrose tumoral
UFJF	- Universidade Federal de Juiz de Fora
UFMG	- Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	18
1 INTRODUÇÃO.....	20
2 OBJETIVOS.....	25
2.1 Objetivo geral	25
2.2 Objetivos específicos	25
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	26
3.1 Aspectos epidemiológicos da hanseníase	26
3.2 O processo de adoecimento por hanseníase e a vigilância de contatos: aspectos multifatoriais.....	31
3.3 Características moleculares do <i>M. leprae</i> e técnicas de identificação	42
4 METODOLOGIA.....	46
4.1 Delineamento do estudo.....	46
4.2 Revisão sistemática.....	46
4.3 Cenário do estudo	48
4.4 População do estudo	50
4.4.1 Critérios de inclusão	51
4.4.2 Critérios de exclusão.....	51
4.5 Variáveis do estudo.....	52
4.6 Coleta de dados.....	54
4.7 Preparo, armazenamento e análise das amostras de <i>swab</i> nasal	55
4.7.1 Preparo e armazenamento das amostras	55
4.7.2 Extração, tratamento e transcrição de RNA	56
4.7.3 Extração de DNA.....	58
4.7.4 qPCR RLEP, 16S rRNA e <i>hsp18</i> mRNA	58
4.8 Tratamento e análise dos dados	60
4.9 Aspectos éticos	60
4.10 Financiamento e parcerias	61
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
5.1 Detecção molecular do <i>M. leprae</i> e o processo de infecção e adoecimento em contatos de pacientes com hanseníase: uma revisão sistemática	62
5.2 Caracterização dos contatos participantes deste estudo.....	90
5.3 Ensaio molecular para identificação da presença e viabilidade do <i>M. leprae</i>	95

5.4 Relações entre a viabilidade molecular do <i>M. leprae</i> e as características individuais, de convívio e da resposta imune dos contatos.....	101
5.5 Incidência de hanseníase em contato durante o acompanhamento de uma coorte: relato de caso	115
6 LIMITAÇÕES DESTE ESTUDO.....	118
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	119
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121
APÊNDICE A - Questionário estruturado para entrevista	136
APÊNDICE B - Roteiro para realização de avaliação dermatoneurológica	138
APÊNDICE C – Protocolo para coleta de sangue	146
APÊNDICE D - Protocolo para coleta de <i>swab</i> de mucosa	149
APÊNDICE E – Formulário de encaminhamento de contatos com suspeita de hanseníase..	151
APÊNDICE F – Formulário para coleta de dados – contatos com diagnóstico confirmado..	152
APÊNDICE G – Registro de campo – Coleta de dados ano 2024	153
APÊNDICE H - Protocolo extração de RNA em <i>swab</i>	155
APÊNDICE I – Protocolo tratamento de RNA	156
APÊNDICE J – Protocolo transcrição de RNA.....	157
APÊNDICE K – Protocolo extração de DNA	159
APÊNDICE L – Protocolo para qPCR de DNA RLEP.....	160
APÊNDICE M – Protocolo para qPCR de rRNA 16S	161
APÊNDICE N – Protocolo para qPCR de mRNA <i>hsp18</i>	162
APÊNDICE O – Estratégia de busca da revisão sistemática da literatura nas bases de dados	163
APÊNDICE P – Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	167
APÊNDICE Q – Estudos excluídos da revisão sistemática após a leitura do texto completo	171
ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal De Minas Gerais (COEP-UFMG).....	173

APRESENTAÇÃO

O desenvolvimento deste estudo está atrelado a uma trajetória de pesquisa relacionada à hanseníase, iniciada ainda durante a minha graduação em enfermagem. Meu envolvimento com a temática começou por meio de um projeto de treinamento profissional. Posteriormente, participei de um projeto de iniciação científica e fui inserida no Núcleo de Estudos em Infecções e Complicações relacionadas à Assistência à Saúde (NEICAS), vinculado à Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), na linha de pesquisa “Atenção à saúde e aspectos clínicos, epidemiológicos e imunológicos dos casos de hanseníase e outras doenças infecciosas”.

Com a participação no núcleo de pesquisa e nas atividades de iniciação científica, integrei um projeto de pesquisa no qual pude participar de coleta de dados. A partir dessa experiência, desenvolvi meu trabalho de conclusão de curso da graduação no ano de 2017. Nesse trabalho, foram avaliados testes sorológicos específicos para *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) como potenciais para a vigilância epidemiológica de contatos domiciliares de casos de hanseníase. Posteriormente, ingressei no curso de mestrado em enfermagem do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da UFJF. Durante o mestrado, ainda vinculada ao NEICAS, continuei pesquisando sobre hanseníase. Para a construção da dissertação, defendida em 2020, a pesquisa envolveu tanto os testes sorológicos quanto quimiocinas, avaliando o uso destes marcadores na vigilância de contatos domiciliares e sociais de casos de hanseníase.

Ainda durante o mestrado, no ano de 2019, tive a oportunidade de me vincular ao Núcleo de Estudos e Pesquisas em Hanseníase (NEPHANS), da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). A partir deste vínculo, participei de discussões e estudos relacionados às três linhas de pesquisa desenvolvidas pelos integrantes do núcleo. No entanto, participei de maneira mais aprofundada nos estudos inseridos na linha de pesquisa “Processo de exposição, infecção e adoecimento em hanseníase”, à qual estou vinculada.

Com o ingresso no curso de doutorado no Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da UFMG, em 2020, passei a participar do projeto “Susceptibilidade genética de contatos domiciliares de casos de hanseníase e sua relação com os marcadores sorológicos e a presença e viabilidade do *Mycobacterium leprae*”, do qual esta tese se originou. Esse projeto dá sequência a outro, desenvolvido no âmbito no NEPHANS, intitulado “Análise do processo de exposição, infecção e adoecimento de contatos domiciliares de casos de hanseníase por meio de marcadores de infecção e de suscetibilidade genética ao *Mycobacterium leprae*”. Em linhas gerais, o objetivo de ambos os projetos envolve a análise do processo de exposição, infecção e

adoecimento em casos de hanseníase e em seus contatos, por meio de marcadores sorológicos e genéticos dos casos e contatos, e da presença e viabilidade do *M. leprae*.

O presente estudo analisou a vertente relacionada aos marcadores da presença e viabilidade do bacilo em contatos, utilizando, ainda, dados dos marcadores sorológicos.

1 INTRODUÇÃO

A hanseníase, doença causada pelo *M. leprae*, possui caráter crônico e infeccioso (Hastings *et al.*, 1988). As vias aéreas superiores, em especial a mucosa nasal, é assumida como a principal porta de entrada e saída do bacilo (Araujo *et al.*, 2016), e sua transmissão ocorre a partir de uma pessoa bacilífera sem tratamento (Brasil, 2022a). O diagnóstico da doença permanece eminentemente clínico a partir da identificação dos sinais e sintomas dermatoneurológicos (Brasil, 2022b). O período de incubação pode durar de dois a dez anos, o que impacta em atraso no diagnóstico (World Health Organization, 2023) e contribui para a manutenção da cadeia de transmissão do bacilo (Brasil, 2022b).

Permanecendo como um problema de saúde pública no Brasil, em 2023 houve aumento de 16% na detecção de casos novos em relação à 2022 (World Health Organization, 2024). A eliminação da doença e a interrupção da transmissão são pontos centrais da estratégia global 2021-2030 “Rumo à zero hanseníase”, da Organização Mundial da Saúde (OMS) (Organização Mundial da Saúde, 2021). Fatores como identificação de casos apresentando grau de incapacidade física (GIF) 2 e diagnóstico em menores de 15 anos indicam, respectivamente, falhas na detecção oportuna de casos e transmissão recente da doença (World Health Organization, 2024). No Brasil, continua sendo diagnosticada em todos os estados (Brasil, 2024a), e os registros envolvem casos com GIF2 e em menores de 15 anos (World Health Organization, 2024). Para alcançar a eliminação da hanseníase e interrupção de sua transmissão, o diagnóstico precoce é uma das principais estratégias (World Health Organization, 2023).

A transmissão e infecção pelo *M. leprae* é favorecida quando há contato próximo e prolongado com um indivíduo com alta carga bacilar (Brasil, 2022a). Neste sentido, o ambiente domiciliar se configura como um importante local de transmissão do bacilo, de maneira que pessoas que convivem no mesmo domicílio que um caso de hanseníase apresentam maior risco de adoecer (Niitsuma *et al.*, 2021). Além dos contatos domiciliares, os contatos sociais também devem ser alvo de vigilância epidemiológica, especialmente em regiões de alta endemicidade, uma vez que, nesse cenário, a exposição ao bacilo fora do domicílio é constante (Carvalho *et al.*, 2017). Atualmente, considera-se contato de um caso de hanseníase “toda e qualquer pessoa que resida ou tenha residido, conviva ou tenha convivido com o doente de hanseníase, no âmbito domiciliar, nos últimos cinco anos anteriores ao diagnóstico da doença, podendo ser familiar ou não” (Brasil, 2022b).

O desenvolvimento de um teste que permita identificar casos de hanseníase, tanto sintomáticos sob qualquer forma clínica, e especialmente os assintomáticos poderia contribuir

para o diagnóstico precoce e eliminação da doença (Bahmanyar *et al.*, 2016). Entretanto, o não cultivo do *M. leprae in vitro* (Colston e Hilson, 1976), dificulta, até os dias atuais, o desenvolvimento de um teste capaz de definir o diagnóstico precoce da hanseníase. Alguns exames laboratoriais vêm sendo utilizados como complementares ao diagnóstico e auxiliares na classificação, como a baciloscopia e a histopatologia. Além destes, o teste sorológico rápido que detecta anticorpos em resposta ao *Phenolic glycolipid 1* (PGL-1), o teste anti-PGL-1, e o teste de biologia molecular para detecção de *M. leprae* por reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) foram aprovados no ano 2022 para serem implementados na rotina do Sistema Único de Saúde (SUS), com o intuito de auxiliar o diagnóstico precoce a partir da investigação de contatos (Brasil, 2022b).

O teste sorológico rápido anti-PGL-1 foi aprovado para ser utilizado na Atenção Primária à Saúde (APS) como ferramenta de apoio na avaliação de todos os contatos de casos de hanseníase. O teste molecular de qPCR, por sua vez, foi aprovado com intuito de detectar o marcador genético do *M. leprae* em amostras de pele ou de nervos coletadas a partir de biópsias, e deverá ser utilizado apenas no nível da atenção especializada para auxiliar o diagnóstico de hanseníase em contatos encaminhados pela APS com alterações suspeitas inconclusivas. Estes testes deverão ser utilizados em complementariedade à outras ações de investigação e controle, que incluem anamnese, avaliação dermatológica e neurológica, vacinação com Bacilo *Calmette-Guérin* (BCG), educação em saúde e vigilância passiva ou ativa dos contatos (Brasil, 2022b).

O teste rápido *ML Flow*, preconizado para utilização na APS, identifica a presença do anticorpo imunoglobulina M (IgM) em resposta ao PGL-I. Contatos com sorologia positiva anti-PGL-1 apresentam risco aumentado de desenvolver hanseníase no futuro (Bühner-Sékula *et al.*, 2003). Entretanto, este resultado pode estar associado tanto à infecção subclínica, quanto à exposição (Romero *et al.*, 2022). Por outro lado, muitos indivíduos não irão formar anticorpos, mesmo diante da infecção por *M. leprae* (Bühner-Sékula *et al.*, 2003), uma vez que algumas pessoas desenvolvem biomarcadores da resposta imune celular (Romero *et al.*, 2022). Além disso, a imunidade inata também está envolvida na resposta ao bacilo (Froes, Trindade e Sotto, 2022).

Já o teste de biologia molecular, como o de qPCR também preconizado no SUS, fornece informação a respeito da presença do *M. leprae* no organismo a partir do alvo *repetitive element* (RLEP) do bacilo, independentemente da resposta imune do hospedeiro (Brasil, 2022b). Entretanto, a coleta de amostras de pele ou de nervos por biópsia é um procedimento invasivo, de maneira que a indicação para este teste é de que seja realizado apenas na atenção

especializada, o que torna um fator inviabilizador de seu uso difuso. Além disso, a identificação da presença do ácido desoxirribonucleico (DNA) do *M. leprae* em si não significa que este esteja viável. Sendo assim, técnicas que avaliam a viabilidade do bacilo são importantes na identificação do processo de infecção e adoecimento por hanseníase (Martinez *et al.*, 2009).

Nas últimas décadas, muitos investimentos foram realizados na busca por superar as limitações no desenvolvimento de testes diagnósticos para a hanseníase. A utilização de modelos animais, como a técnica de inoculação em camundongos descrita por Shepard, contribuiu para a melhoria nas pesquisas (Shepard, 1960). A compreensão da estrutura molecular do *M. leprae* foi conhecida após o sequenciamento do seu genoma (Cole *et al.*, 2001).

A partir de então, ensaios de reação em cadeia da polimerase (PCR) e qPCR foram desenvolvidos para amplificar diferentes alvos gênicos como por exemplo RLEP (Carvalho *et al.*, 2018), 16S (Gama *et al.*, 2018; Manta *et al.*, 2019), 18 kDa (Davis *et al.*, 2013), Ag 85B (Carvalho *et al.*, 2018; Martinez *et al.*, 2006), entre outros, com a finalidade de detecção de pequeno número de bactérias. Além disso, a análise molecular tem sido realizada utilizando ácidos nucleicos procedentes de diferentes amostras clínicas como *swabs* nasal e oral (Carvalho *et al.*, 2018), biópsia de pele e de nervos (Azevedo *et al.*, 2017; Tiwari *et al.*, 2017), raspado intradérmico (Gama *et al.*, 2019) e sangue (Wen *et al.*, 2013).

Ensaio com qPCR baseados na detecção quantitativa de fluorescência melhoraram a especificidade e sensibilidade para quantificação de DNA ou conteúdo de DNA complementar (cDNA) bacteriano diretamente em amostras clínicas, além do que o tempo de resposta ficou mais rápido (Martinez *et al.*, 2009). A variabilidade das formas clínicas da hanseníase, em especial aquelas com carga reduzida de *M. leprae*, assim como a necessidade de identificação de contatos domiciliares que podem estar infectados, mostraram a relevância de aprimorar cada vez mais o desempenho dos ensaios moleculares para detecção do bacilo (Marques *et al.*, 2018; Phetsuksiri *et al.*, 2006).

Há evidência de alta prevalência de portadores assintomáticos do bacilo na mucosa nasal entre os contatos de casos de hanseníase, e que estes podem contribuir para a sua dispersão (Araujo *et al.*, 2016). Neste estudo serão avaliados os alvos RLEP, 16S ácido ribonucleico ribossômico (rRNA) e *hsp18* ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) do *M. leprae* para identificação do bacilo em amostras de *swab* nasal de contatos domiciliares de casos de hanseníase.

Para além da presença do *M. leprae* no organismo, já avaliada em outros estudos (Gama *et al.*, 2018; Manta *et al.*, 2019; Marques *et al.*, 2018; Martinez, A. N. *et al.*, 2011) e dos aspectos biológicos, que são os genéticos (Alter *et al.*, 2011) e imunológicos (Nath, Saini e

Valluri, 2015), determinantes que refletem condições de vida (Nery *et al.*, 2019; Pescarini *et al.*, 2018) também influenciam o desenvolvimento da hanseníase. Entre eles estão baixos níveis de escolaridade (Leano *et al.*, 2019; Nery *et al.*, 2019; Pescarini *et al.*, 2018) e renda (Boigny *et al.*, 2019; Nery *et al.*, 2019), escassez e insegurança alimentar (Leano *et al.*, 2019; Pescarini *et al.*, 2018), além de condições sanitárias precárias (Pescarini *et al.*, 2018) e baixo índice de desenvolvimento humano (IDH) (Lana *et al.*, 2009).

Entre os contatos, o convívio intradomiciliar com caso índice apresentando alta carga bacilar (Niitsuma *et al.*, 2021), ter mais de cinco anos de convívio com o caso índice, morar em uma casa com mais de quatro moradores (Leano *et al.*, 2019) aumentam o risco de adoecimento por hanseníase. Em uma região endêmica do Brasil, identificou-se que 52,1% dos participantes de um estudo tinham sobreposição de casos na mesma rede de convívio domiciliar e quase 65% dos casos foram diagnosticados após diagnóstico de outros casos próximos, sendo necessário considerar as redes de convívio como importantes na transmissão da hanseníase (Boigny *et al.*, 2019).

Como a hanseníase apresenta determinantes a nível individual (Alter *et al.*, 2011; Nath, Saini e Valluri, 2015), assim como atrelados ao convívio do indivíduo (Leano *et al.*, 2019; Nery *et al.*, 2019; Pescarini *et al.*, 2018), faz-se necessária uma avaliação que considere ambas as dimensões para a compreensão do processo saúde-doença a ela relacionado.

Com base nesta delimitação, questiona-se: Quais são os principais fatores que se relacionam com a viabilidade molecular do *M. leprae* em contatos de casos de hanseníase? Parte-se da hipótese que contatos que convivem em núcleos familiares com maior densidade de pessoas e maior grau de exposição bacilar têm maior possibilidade de apresentar o *M. leprae* viável em suas mucosas nasais e que a resposta imune impacta na permanência da viabilidade bacilar influenciando no processo de adoecimento.

Considera-se que existe uma relação entre os processos biológicos de um indivíduo em sua dimensão singular, e que seu modo particular de vida se expressa nestes processos biológicos bem como na sociedade em que o indivíduo habita (Breilh, 2006). As relações que se estabelecem na sociedade e a maneira como a sociedade se organiza determinam o acesso às possibilidades do ser humano, bem como as restrições a que podem se submeter, impactando assim em sua vida, saúde e doença (Albuquerque e Silva, 2014). As condições sociais determinadas na dimensão particular, repercutem nas formas de convívio, assim como no acesso aos bens e serviços na sociedade. Sabe-se que, o adoecimento por hanseníase é relacionado a indicadores de privação, relacionados tanto a questões individuais, quanto de convívio (Nery *et al.*, 2019). Para compreender as dimensões individuais, particulares e gerais,

na saúde e na doença, é preciso que o olhar sobre as relações existentes entre elas se mantenha articulado reconhecendo os aspectos específicos, as expressões individuais e o processo da sociedade em geral (Breilh e Granda, 1986).

Os resultados deste estudo contribuem para o campo da saúde e da hanseníase, a partir da ampliação do conhecimento sobre a viabilidade molecular do *M. leprae* entre os contatos e dos fatores que interferem nesta viabilidade. Este conhecimento pode subsidiar a criação de novas estratégias de vigilância epidemiológica e a tomada de decisão por profissionais e gestores de saúde para o controle da doença.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar a relação da viabilidade molecular do *M. leprae* com características individuais, de convívio, da resposta imune e o adoecimento de contatos de casos de hanseníase.

2.2 Objetivos específicos

- a) Analisar a literatura sobre a presença e a viabilidade molecular do *M. leprae* e o processo de infecção e adoecimento em contatos de casos de hanseníase.
- b) Identificar a presença de *M. leprae* e sua viabilidade na mucosa nasal de contatos de hanseníase;
- c) Relacionar a viabilidade molecular do *M. leprae* na mucosa nasal dos contatos com suas características individuais e de convívio com o caso índice;
- d) Avaliar a relação entre a permanência da viabilidade molecular do *M. leprae* com a resposta imune dos contatos e o adoecimento.

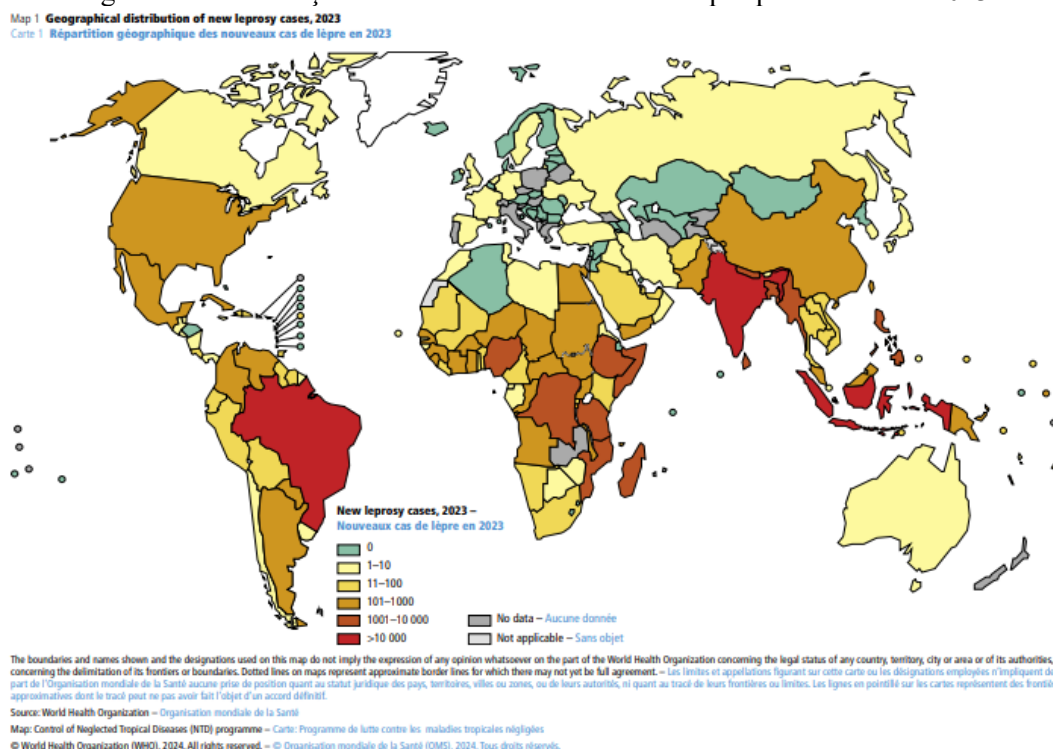
3 REFERENCIAL TEÓRICO

Neste capítulo serão apresentados aspectos teóricos da hanseníase. Divido em três partes, inicialmente serão tratados elementos a respeito da epidemiologia da doença. No segundo tópico serão exploradas questões que determinam o desenvolvimento da hanseníase, envolvendo facetas da dimensão biológica assim como da dimensão social, além de elementos a respeito da vigilância de contatos. Por fim, no terceiro tópico, serão abordadas as características moleculares do *M. leprae* e as técnicas que auxiliam na identificação do bacilo.

3.1 Aspectos epidemiológicos da hanseníase

A hanseníase permanece como um problema de saúde pública no Brasil, mesmo diante de todos os critérios clínicos de diagnóstico, exames complementares e tratamento há anos estabelecidos. O país se destaca, em conjunto com Índia e Indonésia, sendo responsáveis por 79,3% dos novos casos de hanseníase detectados globalmente em 2023. Na figura 1, em que está ilustrado o mapa da distribuição de casos novos construído pela OMS, observa-se o Brasil em destaque entre os países das Américas (World Health Organization, 2024).

Figura 1 – Distribuição de novos casos de hanseníase por país no ano de 2023.



Fonte: World Health Organization, 2024, p. 506.

Em 2023, foram registrados no país 22.773 casos novos de hanseníase, representando um aumento de 16% em relação ao registrado no ano anterior. Esse número de casos novos corresponde a uma taxa de detecção de 10,50/100.00 habitantes (World Health Organization, 2024), considerada alta segundo parâmetros do Ministério da Saúde (MS) (Brasil, 2016). Esta taxa é muito superior às taxas global e das Américas que foram de 2,27 e 2,37 por 100.000 habitantes respectivamente, o que demonstra a importância do País na manutenção da carga da doença. Ressalta-se que, em 2023, o Brasil foi responsável por mais de 90% dos casos diagnosticados na região das Américas (World Health Organization, 2024).

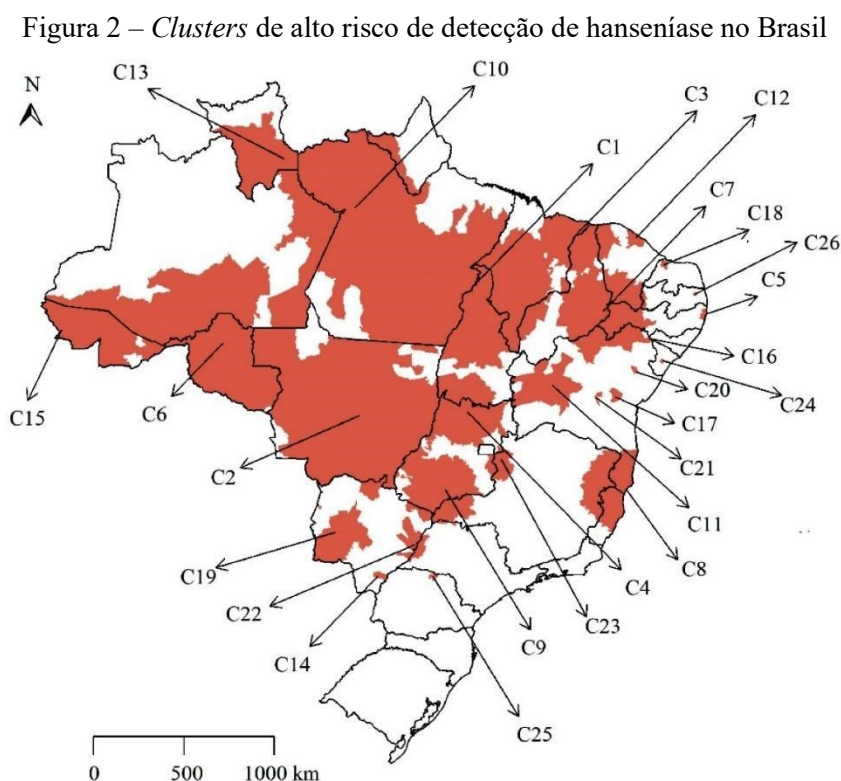
A pandemia da Covid-19 afetou a detecção de casos novos da hanseníase, sendo que entre 2019 e 2021 houve redução de praticamente um terço dos registros globais (World Health Organization, 2024). Entre outras doenças, a hanseníase teve seus atendimentos adaptados durante o período pandêmico, com fornecimento único de medicamento para dois e até três meses, impactando o acompanhamento dos casos (Brasil, 2020). Além disso, as medidas de isolamento, assim como a suspensão de busca ativa pelos serviços impactaram fortemente a detecção precoce dos novos casos (Arquer, *et al.*, 2021). Após esta redução acentuada, houve um aumento de 30% na detecção de casos novos a nível mundial. No Brasil, em 2022, a detecção aumentou 7,2% em relação a 2021, e no último ano o incremento foi de 16% em relação a 2022 (World Health Organization, 2024).

Do total de casos diagnosticados no País em 2023, mais de 80% (18.768) foram diagnosticados como Multibacilar (MB) (World Health Organization, 2024). No período da pandemia, apesar da redução na detecção, houve aumento de casos MB, que são considerados os principais responsáveis pela manutenção da cadeia de transmissão (Silva *et al.*, 2022). Os casos diagnosticados como MB em 2023 foram superiores ao percentual registrado em 2022, indicando que a tendência identificada durante a pandemia permanece (World Health Organization, 2024).

Além disso, durante a Covid-19 houve redução na avaliação do grau de incapacidade física entre os casos diagnosticados (Matos *et al.*, 2021), o que indica importante fragilidade operacional para a vigilância de incapacidades físicas. Entre os casos detectados em 2023, 2.173 apresentaram GIF 2, e 958 casos foram diagnosticados em menores de 15 anos. Estes dados indicam, respectivamente, dificuldades na detecção oportuna dos casos e transmissão recente do bacilo. Destaca-se que estes dois indicadores mantiveram o percentual em relação ao total de casos novos, comparando os anos 2022 e 2023 (World Health Organization, 2024).

Os casos de hanseníase no Brasil são distribuídos de maneira heterogênea, sendo que nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste há maior concentração da doença. Entretanto, em

todos os estados do país há diagnóstico de novos casos (Brasil, 2024b). Apesar de Minas Gerais não estar entre os estados com maior número de casos, estudo que avaliou a existência de *clusters* de alto risco de detecção da hanseníase no Brasil, verificou que entre os 26 *clusters* identificados no país (Figura 2), três englobam partes do estado de Minas Gerais (Rodrigues *et al.*, 2020).



Fonte: Rodrigues *et al.*, 2020, p. 3.

No ano de 2022 em Minas Gerais, assim como no Brasil, os diagnósticos de hanseníase permaneceram sendo realizados com a grande maioria dos casos na forma MB (79,5%). A detecção geral foi de 5,05/100.000 habitantes, bastante inferior à nacional (Brasil, 2024a), entretanto nos últimos anos o número de municípios silenciosos no estado vem aumentando, chamando atenção para dados como a prevalência oculta (Minas Gerais, 2022) e os diagnósticos de casos com GIF2, que em 2022 representou 19% do total de casos diagnosticados (Brasil, 2024a). Ressalta-se que ao avaliar a prevalência oculta da hanseníase em Minas Gerais entre os anos de 2006 e 2020, foi estimado que 21.884,8 casos novos deixaram de ser diagnosticados no período estudado, o que representaria um aumento de 59,1% na prevalência registrada no estado (Kerr, 2022).

Minas Gerais é um estado heterogêneo com relação à hanseníase, apresentando regiões de baixa endemicidade e outras hiperendêmicas (Minas Gerais, 2022). Entre as regiões

hiperendêmicas, destaca-se a microrregião de Almenara/Jacinto, que engloba os municípios que integram este estudo e está inserida na Gerência Regional de Saúde (GRS) de Pedra Azul (Minas Gerais, 2020). A microrregião de Almenara é historicamente hiperendêmica para hanseníase, e os municípios envolvidos neste estudo apresentaram este mesmo caráter de endemicidade, considerando o coeficiente de detecção médio dos anos de 1998 a 2006 (Amaral e Lana, 2008). Esta característica manteve-se na média dos anos de 2013 a 2017, período em que esses municípios se destacaram em comparação ao estado como um todo, que foi caracterizado por alta endemicidade (Minas Gerais, 2019). Assim, embora o último boletim epidemiológico, que abrange o período de 2017 a 2021, tenha mostrado que a GRS de Pedra Azul apresentou uma taxa de detecção alta, deixando de ser classificada como região hiperendêmica, sua importância epidemiológica permanece relevante (Minas Gerais, 2022).

Considerando estes dados, destaca-se a necessidade da efetivação das ações de controle da hanseníase na região. Para orientar estas ações, bem como as metas estabelecidas, tanto a OMS, quanto órgãos competentes a nível nacional e estadual definem, de tempos em tempos, documentos e estratégias norteadoras para o controle da hanseníase. A Estratégia Global da OMS para a Hanseníase 2021–2030 denominada “Rumo à zero hanseníase” está fundamentada em quatro pilares, a saber: implementação de um roteiro zero hanseníase, específico em cada país endêmico; ampliação da prevenção da hanseníase e detecção ativa de casos; tratamento da hanseníase e suas complicações prevenindo incapacidades; e combate ao estigma, garantindo o respeito aos direitos humanos (Organização Mundial da Saúde, 2021).

A nível federal, a atual Estratégia Nacional para Enfrentamento à Hanseníase 2024-2030, tem como missão “Um Brasil sem hanseníase” e como visão “Reduzir a carga da hanseníase no Brasil”. Para alcançar as metas e consequentemente atingir a missão proposta nesta estratégia, um de seus alicerces é a vigilância em saúde (Brasil, 2024b). Em Minas Gerais, no último Plano Estadual de Enfrentamento da Hanseníase foram definidas estratégias de enfrentamento pautadas em cinco eixos, sendo eles: Fortalecimento das ações de vigilância e integração com a APS; Implementação da Rede de Atenção à Pessoa com Hanseníase (RAPH); Fomento à Educação Permanente e Integração Ensino-Serviço; Fortalecimento da Educação em Saúde e Mobilização Social; Gestão e realização de atividades de monitoramento e avaliação (Minas Gerais, 2019).

Ainda que cada um destes documentos, Estratégia Global, Nacional e Plano Estadual de enfrentamento, definam ações específicas, para se adequar à organização da rede de saúde, todos têm o mesmo intuito: alcançar o controle da hanseníase e das complicações a ela associadas. Destaca-se que, a hanseníase se enquadra entre as doenças tropicais negligenciadas

e transmissíveis, e uma das metas das Nações Unidas é acabar com estas doenças buscando alcançar o objetivo 3 do desenvolvimento sustentável da agenda 2030, em que é proposto assegurar saúde e promover o bem-estar para todas as pessoas (Nações Unidas, 2015).

Para o alcance destas metas e objetivos, as ações de controle da hanseníase devem ser realizadas em todas as esferas das redes de atenção à saúde. No Plano Estadual de Enfrentamento da Hanseníase em Minas Gerais está definida a RAPH, sendo composta por pontos de atenção nos três níveis de complexidade. Entre estes níveis deve haver um sistema de referência e contrarreferência, de acordo com as necessidades dos pacientes, entretanto a APS deve ser o local preferencial para o primeiro acesso na rede de atenção à saúde (Minas Gerais, 2019).

Mais recentemente, no Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) da Hanseníase, um dos principais objetivos foi a promoção da descentralização do cuidado em hanseníase para a APS de maneira efetiva (Brasil, 2022b). Sendo compartilhadas entre todos os membros da equipe, como agentes comunitários de saúde, assistente social, farmacêutico, odontólogo, técnico/auxiliar de enfermagem, enfermeiro, médico, e demais profissionais que estejam incorporados à atenção primária, as ações de prevenção, controle e vigilância em hanseníase devem ser realizadas inicialmente na APS (Minas Gerais, 2019). Entre estas ações estão: Educação em saúde, avaliação e acompanhamento de contatos, tratamento até a cura e vigilância epidemiológica (Brasil, 2022b).

A educação em saúde é uma grande aliada para o controle da hanseníase, uma vez que a falta de conhecimento da população a respeito da doença e de seus sinais e sintomas, contribuem para o diagnóstico tardio e favorecem o estigma associado a ela (Lana *et al.*, 2014). As campanhas educativas produzidas pelo MS do Brasil se pautam exclusivamente em informações a respeito de partes do corpo com sinais da doença, melhora clínica e tratamento gratuito. Estes aspectos não têm sido suficientes para transformar a ideia que a sociedade tem de associação entre a hanseníase e a lepra, sendo necessário ações educativas que de fato sejam capazes de apresentar a hanseníase como uma doença comum e que a desvincule do estigma associado (Arantes e Lana, 2022).

Além da educação em saúde, a investigação epidemiológica tem grande importância no controle da hanseníase, uma vez que a descoberta precoce de novos casos contribui para o tratamento oportuno e consequente quebra da cadeia de transmissão da doença. É realizada por meio de atendimento de demanda espontânea, busca ativa de casos novos e vigilância de contatos (Brasil, 2016), sendo que as duas últimas representam um dos pilares da atual Estratégia Nacional para Enfrentamento à Hanseníase (Brasil, 2024b).

A hanseníase ainda revela desafios para sua eliminação, sendo necessário o desenvolvimento e implementação de estratégias que sejam capazes de englobar seus diversos determinantes. Buscando atingir os parâmetros propostos pelo MS é necessário o aumento da oferta de ações de controle da doença (Rodrigues, Arcêncio e Lana, 2021). Para a elaboração e implementação de ações eficazes no controle da hanseníase é essencial o conhecimento sobre seu agente etiológico e os diversos aspectos que influenciam o processo de adoecimento.

3.2 O processo de adoecimento por hanseníase e a vigilância de contatos: aspectos multifatoriais

A hanseníase é uma doença crônica, infectocontagiosa, causada pelo *M. leprae* (Hastings *et al.*, 1988), um bacilo intracelular obrigatório (Cole *et al.*, 2001). Sua transmissão ocorre pelas vias aéreas de uma pessoa bacilífera, ainda não tratada (Brasil, 2022a). Entretanto, além do papel dos doentes na disseminação do bacilo, há evidência de que contatos saudáveis de casos de hanseníase apresentam alta prevalência de bacilo na mucosa nasal, indicando o papel de portadores assintomáticos como um modo de dispersão do *M. leprae*, por vezes negligenciado (Araujo *et al.*, 2016).

As vias aéreas superiores, em especial a mucosa nasal, é considerada a principal porta de entrada e saída do bacilo (Araujo *et al.*, 2016; Hastings *et al.*, 1988). Após a exposição das vias aéreas ao *M. leprae*, e infecção da mucosa, ocorre o desencadeamento de respostas imunológicas, e nos casos em que o bacilo consegue invadir as células do hospedeiro, há a colonização do tecido da mucosa nasal e posteriormente a disseminação sanguínea do bacilo para as células de *Schwann*, local onde seu crescimento é favorecido (Araujo *et al.*, 2016). Por se tratar de uma doença multifatorial (Marcos, Latini e Santana, 2014), fatores imunológicos (Nath, Saini e Valluri, 2015), genéticos (Alter *et al.*, 2011), assim como socioeconômicos (Pescarini *et al.*, 2018) impactam na determinação do seu desenvolvimento.

Em relação à exposição ao *M. leprae*, tanto aspectos individuais, quanto condições coletivas influenciam as chances de contato das pessoas com o bacilo e consequentemente de adoecimento (Leano *et al.*, 2019). Em termos individuais, insegurança e/ou escassez alimentar, baixos níveis de escolaridade (Leano *et al.*, 2019; Pescarini *et al.*, 2018), apresentar condições sanitárias e socioeconômicas ruins (Pescarini *et al.*, 2018) estão associados ao risco de desenvolvimento da hanseníase. Estudo brasileiro, identificou que, se autodeclarar pardo ou preto está relacionado ao aumento do risco de adoecimento. Neste mesmo estudo evidenciou-

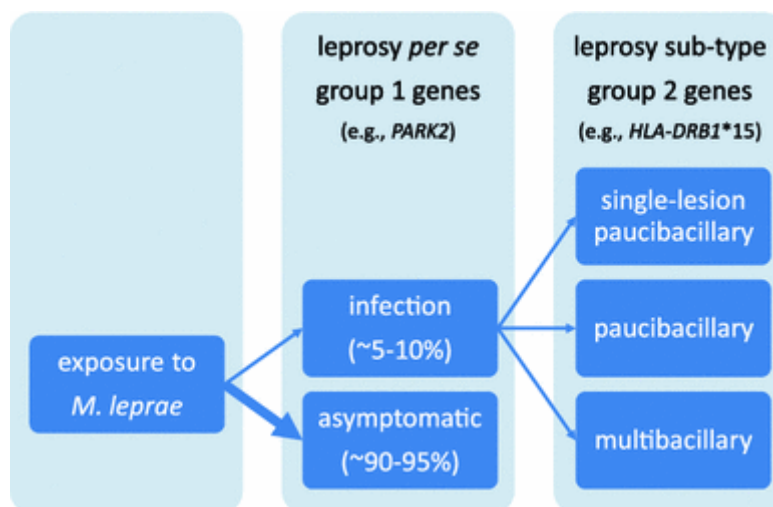
se que à medida que ocorre redução da renda e escolaridade, há um risco crescente de adoecer (Nery *et al.*, 2019).

Além dos fatores individuais, algumas condições relacionadas à exposição a partir do convívio domiciliar estão associadas à ocorrência da hanseníase. Entre elas, morar no mesmo domicílio que um caso da doença com alta carga bacilar (Niitsuma *et al.*, 2021), conviver com o caso índice há mais de cinco anos (Boigny *et al.*, 2019; Leano *et al.*, 2019), residir em uma casa com mais de cinco pessoas (Pescarini *et al.*, 2018) interferem na exposição ao *M. leprae* e no adoecimento.

Para além do convívio domiciliar, o contexto social também interfere no risco de exposição e no adoecimento por hanseníase. Estudo realizado no Brasil identificou que existe associação entre pobreza e a incidência da doença, sendo que os grupos mais carentes da população, com destaque para as pessoas que vivem nas regiões de maior pobreza no país, apresentaram risco até oito vezes maior de desenvolver hanseníase do que os demais (Nery *et al.*, 2019). Maiores níveis de desigualdade (Pescarini *et al.*, 2018) e baixos valores no Índice de Desenvolvimento Humano Municipal (IDHM) também estão associados à maiores taxas de detecção de hanseníase (Gomes *et al.*, 2017; Lana *et al.*, 2009).

Em adição aos aspectos sociais, econômicos e de convívio, a susceptibilidade genética se relaciona ao desenvolvimento da hanseníase, interferindo no risco de adoecimento, assim como na definição da forma clínica (Cambri e Mira, 2018). Este risco genético para que a hanseníase se estabeleça, tem sido dividido em dois estágios, sendo que os genes do grupo 1, como PARK2, LTA, 13q22.1, 20p12.3, estão relacionados a conferir suscetibilidade ou resistência ao desenvolvimento da hanseníase. Quando há susceptibilidade, ocorre a atuação dos genes do grupo 2, por exemplo HLA-DRB1*15 e 10p13, que irão determinar o tipo de resposta imune que se desencadeará no hospedeiro e o consequente subtipo clínico da doença que será manifestado (Alter *et al.*, 2011). O modelo de suscetibilidade genética com participação dos genes do grupo 1 e 2 está ilustrado na figura 3.

Figura 3 – Modelo de suscetibilidade genética à hanseníase em dois estágios.



Fonte: ALTER *et al.*, 2011, p.25.

Uma ampla gama de variantes genéticas de risco para a hanseníase foi identificada (Fava, Dallmann-Sauer e Schurr, 2020). Vários desses genes que determinam a suscetibilidade ou resistência à doença são relacionados ao sistema imunológico (Cambri e Mira, 2018), e revelam vias da resposta imune que são significativas para a defesa do organismo ao *M. leprae* (Fava, Dallmann-Sauer e Schurr, 2020). Os aspectos imunológicos relacionados à hanseníase, são derivados tanto da resposta imune inata quanto adaptativa do hospedeiro (Nath, Saini e Valluri, 2015).

A imunidade inata é a primeira barreira de defesa do organismo contra patógenos. Suas principais células efetoras são os macrófagos, neutrófilos, células dendríticas e células *Natural Killer* (NK) (Cruvinel *et al.*, 2010). Os mecanismos da imunidade inata estão envolvidos tanto em processos inflamatórios da hanseníase, quanto na defesa do organismo com eliminação do *M. leprae* (Froes, Trindade e Sotto, 2022). Entre outras células da imunidade inata que também demonstraram papel no desenvolvimento da hanseníase, como por exemplo as células dendríticas, os macrófagos têm sido foco de pesquisas, pois são os principais hospedeiros do *M. leprae*, além de ser um tipo de célula fundamental na imunidade inata (Mi, Liu e Zhang, 2020).

Os macrófagos, quando parasitados pelo *M. leprae*, atuam na resposta imune tanto como destruidor do bacilo, quanto como apresentador de antígenos (Foss, 1997). Apesar de haver estudos que definem como simplista a definição dicotômica dos fenótipos de macrófagos (Pinheiro *et al.*, 2018), e outros que caracterizam outro fenótipo envolvido na resposta imune ao *M. leprae* (Sousa, de *et al.*, 2018), é consensual a classificação dos macrófagos em relação

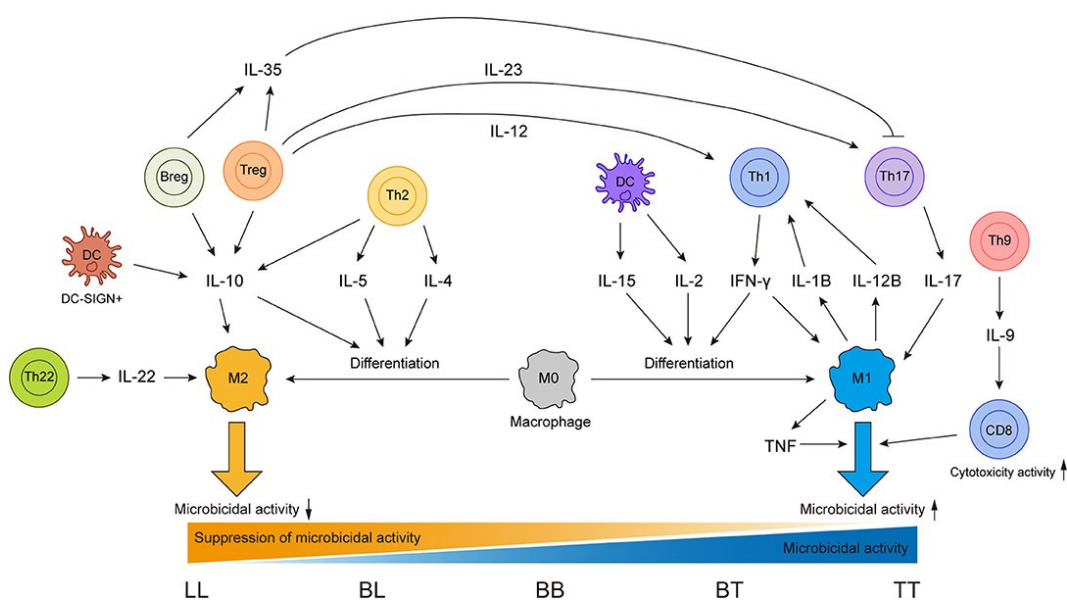
à hanseníase em M1 e M2. Os macrófagos M1 apresentam fenótipo pró-inflamatório, enquanto os macrófagos M2 tem perfil de resposta anti-inflamatório (Pinheiro *et al.*, 2018). Associada à dicotomia M1 e M2 tem-se o perfil da resposta imune adaptativa T helper (Th) 1 e Th2. Estes dois perfis de resposta estão ligados às formas polares da hanseníase (Mi, Liu e Zhang, 2020).

Sendo o *M. leprae* um microrganismo intracelular, quando há uma resposta imune celular eficaz desencadeada por resposta Th1, ainda que a doença se estabeleça, seu desenvolvimento se dará na forma mais restrita e localizada. O linfócito Th1 produz citocinas como interleucina (IL)-2 e interferon (IFN)- γ , que induzem resposta imune celular. A IL-2 além de promover a manutenção de citocinas, estimulam células NK a aumentar a produção de IFN- γ . Esse por sua vez, estimula o aumento da produção de fator de necrose tumoral (TNF) pelo macrófago, e assim a ativação macrofágica (Foss, 1997), preparando os macrófagos para o polo M1, que é microbicida. Neste polo da doença os bacilos raramente são observados (Mi, Liu e Zhang, 2020).

Por outro lado, quando há predomínio de resposta Th2, ocorre a produção de diversas citocinas, como IL-4 e IL-10, que tem como função suprimir a atividade dos macrófagos (Foss, 1997). Neste perfil de resposta há também a atuação de linfócitos B, que além de possuírem função secretora de anticorpos, produzem IL-10 e IL-35 que contribuem para a supressão macrofágica (Mi, Liu e Zhang, 2020). Quando há depressão da imunidade celular, com maior atividade da imunidade humoral desencadeada por respostas Th2, a tendência é que se desenvolva a hanseníase em sua forma mais progressiva, que é o polo mais susceptível da doença e apresenta alta carga bacilar (Foss, 1997; Mi, Liu e Zhang, 2020).

Em síntese, citocinas pró-inflamatórias produzidas por Th1 ativam macrófagos M1. Por outro lado, as citocinas produzidas por Th2, que apresentam características anti-inflamatórias, ativam macrófagos M2 (Pinheiro *et al.*, 2018). Além deste modelo, que explica as duas formas polares da hanseníase, estudos relatam o envolvimento de outros linfócitos na patogênese da doença, entre eles Th9, Th17, Th22 e células T reguladoras (Froes, Trindade e Sotto, 2022). Na figura 4, está ilustrado a participação de diversas células na resposta imune ao *M. leprae*, as citocinas produzidas por elas e o papel de ambas na diferenciação do perfil de macrófagos e consequentemente na imunopatogênese da hanseníase.

Figura 4 – Células do sistema imunológico e citocinas envolvidas na resposta imune ao *M. leprae*



Fonte: Mi, Liu e Zhang, 2020

Quando os fatores de risco sociais e relacionados ao convívio, imunológicos e genéticos convergem, ocorre o adoecimento por hanseníase, que se desenvolve em aproximadamente 5% das pessoas que são expostas ao *M. leprae* (Alter *et al.*, 2011). A partir do adoecimento, surgem os sinais e sintomas que são dermatoneurológicos e estão relacionados à proliferação bacteriana, à resposta imune do indivíduo e à neurite periférica causada por estes dois processos (Hastings *et al.*, 1988).

O período de incubação dos sinais e sintomas da hanseníase é discutível até os dias de hoje, sendo constantemente atualizado por órgãos competentes. Em 1960, definiu-se em média três a cinco anos entre a infecção pelo *M. leprae* e os primeiros sinais e sintomas (Brasil, 1960), posteriormente, considerou-se dois a sete anos (Brasil, 2019). Na atual Estratégia Nacional para Enfrentamento à Hanseníase (2024-2030), o período de incubação foi descrito em consonância à definição da OMS, que estabeleceu o período de incubação da hanseníase entre dois e dez anos (World Health Organization, 2023), seguindo o período estimado no “*International Textbook of Leprosy*”. Essas controvérsias possivelmente se devem à complexidade em estudar o período de incubação, em virtude da dificuldade de realização do diagnóstico precoce e da limitação de cultura do *M. leprae* (Richardus, Ignotti e Smith, 2016).

Os sinais da hanseníase e que definem um caso da doença são: “lesão e/ou área da pele com alteração de sensibilidade térmica e/ou dolorosa e/ou tátil; espessamento de nervo periférico associado a alterações sensitivas e/ou motoras e/ou autonômicas; bem como a

presença do *M. leprae*, confirmada na baciloscopia de esfregaço intradérmico ou na biópsia de pele” (Brasil, 2022b).

O diagnóstico da hanseníase deve ser realizado preferencialmente no nível da APS e permanece essencialmente clínico. Com a realização do diagnóstico, determina-se a classificação da hanseníase. A classificação operacional é realizada com base em critérios clínicos. Preconizada pela OMS, classifica a hanseníase em duas formas, Paucibacilar (PB) e MB. Considera-se um caso de hanseníase PB o indivíduo que tenha até cinco lesões de pele e baciloscopia negativa, e MB o indivíduo que tenha mais de cinco lesões de pele ou mais de um nervo acometido, independentemente do acometimento cutâneo, ou ainda que tenha resultado positivo na baciloscopia. Esta classificação é utilizada nos serviços de saúde para definição do tratamento medicamentoso (Brasil, 2022b).

Além da classificação operacional, existem duas outras utilizadas atualmente, a classificação de Madri e a de Ridley & Jopling¹ (Brasil, 2022b; Ridley e Jopling, 1966). A classificação de Madri, definida em 1953, considera os achados dos exames complementares da hanseníase, como bacteriológicos e imunológicos, entretanto a base desta classificação é clínica. A partir desta definição, a hanseníase é dividida em quatro subtipos, sendo dois polos considerados estáveis e opostos, o virchowiano e o tuberculoide. E dois grupos instáveis, o indeterminado e o dimorfo (Brasil, 2022b).

A hanseníase tuberculoide se apresenta geralmente com lesão única e bem delimitada, e comprometimento nervoso restrito, estando associada a pessoas com forte resposta imune celular do tipo Th1. Por outro lado, na forma virchowiana, tanto o acometimento cutâneo, quanto neurológico são difusos, e há alta presença de bacilos detectáveis na baciloscopia. A esta forma clínica, associa-se a resposta imune do tipo Th2. Na forma dimorfa, tanto os sinais clínicos, quanto os imunológicos são intermediários em relação às duas anteriormente descritas, situando-se entre um polo e outro, o que justifica sua alocação como grupo instável da doença. Por fim, a forma indeterminada, caracteriza-se por ser a forma inicial da doença, com manifestações clínicas discretas, estas não se relacionam diretamente à resposta imune, podendo evoluir para a cura espontânea ou para qualquer uma das três formas anteriormente descritas (Brasil, 2022b).

¹ Ao fazer referência à classificação de Ridley e Jopling (1966), a descrição da classificação da hanseníase será feita de acordo com o estabelecido pelos autores, entretanto os termos dimorfo e virchowiano serão utilizados em substituição aos termos originais, em concordância com a orientação da “terminologia relativa à hanseníase” (Opromolla e Martelli, 2005), que reporta a Lei Federal nº 9.010 de 29 de março de 1995.

Ridley e Jopling, por sua vez, propuseram uma classificação que divide a hanseníase em cinco subtipos. Nesta classificação, também são definidos dois subtipos polares, denominados tuberculoide e virchowiano (Ridley e Jopling, 1966). O polo tuberculoide está relacionado à resposta imune celular bem desenvolvida. O polo virchowiano, por sua vez, se refere a indivíduos que apresentam resposta imune humoral proeminente (Talhari, Talhari e Penna, 2015). Além destes dois polos, foi definido um grupo intermediário, composto por três subtipos, dimorfo-tuberculoide, dimorfo-dimorfo, e dimorfo-virchowiano. Os autores defendem que pode ocorrer um deslocamento entre os polos, dependendo da evolução da hanseníase e da resposta imunológica do indivíduo, que nesse caso oscila entre os perfis Th1 e Th2 sem que nenhum predomine. Esta classificação é amplamente utilizada em centros de referência e pesquisa (Ridley e Jopling, 1966).

A impossibilidade de cultivo do *M. leprae in vitro* dificulta os avanços em estabelecer um teste diagnóstico para hanseníase (Colston e Hilson, 1976). Muitos avanços já ocorreram no desenvolvimento de testes laboratoriais relacionados à hanseníase, entretanto, ainda não se desenvolveu um teste capaz de identificar todos os indivíduos infectados por *M. leprae*, abrangendo todas as formas clínicas (Bahmanyar *et al.*, 2016), além do que há grande heterogeneidade entre os testes desenvolvidos até então (Gurung *et al.*, 2019).

Não obstante, alguns exames são utilizados na prática clínica como complementares ao diagnóstico, auxiliando em sua confirmação, e na classificação da doença em caso de dúvida em relação aos critérios clínicos avaliados. A baciloscopia é um destes exames, realizada a partir de raspado intradérmico, e com resultado expresso em IB de acordo com a escala logarítmica de Ridley, que varia de 0 a 6+, e estima a carga bacilar do caso de hanseníase. O resultado positivo da baciloscopia caracteriza o caso de hanseníase como MB, entretanto o resultado negativo não afasta o diagnóstico diante de sinais clínicos da doença, uma vez que a sensibilidade do teste é baixa e geralmente apresenta resultado negativo em casos PB (Brasil, 2022b).

Outro exame que apoia o diagnóstico da hanseníase é a histopatologia. Esta é preconizada para ser utilizada quando ainda há dúvidas sobre o diagnóstico, mesmo após avaliação clínica e realização da baciloscopia. É realizada pela análise de biópsia de lesões de pele ou de nervos, e sua sensibilidade varia de acordo com a forma clínica da hanseníase. Apesar de ser um exame complexo, principalmente em relação à identificação das formas iniciais da doença, seu uso é considerado importante para confirmar diagnóstico de difícil realização e casos de recidiva, auxiliar na classificação da doença, além de ser útil na avaliação da eficácia dos medicamentos (Brasil, 2022b).

O atual PCDT da hanseníase descreve ainda, outros exames como apoio ao diagnóstico da doença. Um deles é a ultrassonografia de nervos periféricos, que auxilia na identificação do dano neural podendo ser útil na confirmação do espessamento dos nervos e com isso contribuir para o diagnóstico. Outro é o eletroneuromiograma, que identifica de maneira precoce o dano neural, sendo útil para avaliar a extensão do comprometimento dos nervos, auxiliar no diagnóstico diferencial, na avaliação da resposta à terapia medicamentosa e no prognóstico da doença. Além destes, também são descritos no PCDT, o teste rápido *ML Flow* e o teste de biologia molecular qPCR (Brasil, 2022b). Estes dois últimos são preconizados para uso exclusivo na avaliação de contatos, e por isso serão abordados mais a frente neste capítulo, onde são tratadas questões sobre a vigilância de contatos.

Após o diagnóstico da hanseníase e a notificação, o tratamento deve ser iniciado imediatamente. A equipe de saúde deve estar apta a definir corretamente a classificação e indicar o esquema terapêutico adequado. O esquema medicamentoso para tratamento da hanseníase é a poliquimioterapia única (PQT-U), composta por três fármacos, a rifampicina, a clofazimina e a dapsona (Brasil, 2022b). A rifampicina possui ação bactericida para o *M. leprae*, sendo o principal componente bactericida do esquema medicamentoso para tratamento da hanseníase. A dapsona e a clofazimina tem ação bacteriostática, sendo que a clofazimina apresenta uma ação fracamente bactericida contra o bacilo causador da hanseníase, entretanto na terapia combinada seu uso é eficaz (Cambau e Williams, 2019). O esquema terapêutico difere entre os casos PB e MB apenas em relação ao tempo de tratamento, que deve ser interrompido após a administração de seis cartelas para os casos de hanseníase PB e doze cartelas para os casos MB (Brasil, 2022b). O esquema de tratamento com a PQT-U para adultos e crianças está ilustrado no quadro 1.

Quadro 1 – Esquema de tratamento farmacológico para hanseníase com PQT-U

Faixa etária e peso corporal	Apresentação	Posologia	Duração do tratamento ^a	
			MB	PB
Pacientes com peso acima de 50kg	PQT-U Adulto	Dose mensal supervisionada: - Rifampicina 600mg - Clofazimina 300mg - Dapsona 100mg Dose diária autoadministrada: - Clofazimina 50mg diariamente - Dapsona 100mg diariamente	12 meses	6 meses
Crianças ou adultos com peso entre 30 e 50kg	PQT-U Infantil	Dose mensal supervisionada: - Rifampicina 450mg - Clofazimina 150mg - Dapsona 50mg Dose diária autoadministrada: - Clofazimina 50mg em dias alternados - Dapsona 50mg diariamente	12 meses	6 meses
Crianças com peso abaixo de 30kg	Adaptação da PQT-U Infantil ^{b,c}	Dose mensal supervisionada: - Rifampicina 10mg/kg de peso - Clofazimina 6mg/kg de peso - Dapsona 2mg/kg de peso Dose diária autoadministrada: - Clofazimina 1mg/kg de peso/dia - Dapsona 2mg/kg de peso/dia	12 meses	6 meses

Fonte: Brasil, 2022b, p.58.

As cartelas da PQT-U são compostas por uma dose mensal supervisionada que deve ser administrada na presença do profissional de saúde e por doses diárias autoadministradas. Ao concluir o tratamento, o paciente deve ser submetido à avaliação neurológica simplificada e receber alta por cura (Brasil, 2022b).

A realização do diagnóstico precoce é essencial para a quebra da cadeia de transmissão, tratamento oportuno e prevenção de incapacidades físicas (Brasil, 2022b). As incapacidades relacionadas à hanseníase são decorrentes de mecanismos neurogênicos e inflamatórios que se desenvolvem de acordo com a evolução da doença e do tempo entre a infecção e o diagnóstico. Quanto antes o diagnóstico for realizado e o tratamento medicamentoso iniciado, menor será a possibilidade de desenvolver incapacidades e a necessidade de tratar condições que podem permanecer por toda a vida (Brasil, 2008). Estas incapacidades além de comprometerem as atividades de vida diária, impactam na participação social das pessoas acometidas e favorecem o estigma (Brakel *et al.*, 2012).

Uma das ações de controle da hanseníase que favorece o diagnóstico precoce é a vigilância de contatos. Considera-se contato de casos de hanseníase “toda e qualquer pessoa que resida ou tenha residido, conviva ou tenha convivido com o doente de hanseníase, no âmbito domiciliar, nos últimos cinco anos anteriores ao diagnóstico da doença, podendo ser familiar ou não” (Brasil, 2022b). Importante destacar que, ser contato domiciliar aumenta o

risco de desenvolvimento de hanseníase (Pescarini *et al.*, 2018). Entretanto, em regiões de alta endemicidade, a exposição ao bacilo fora do domicílio é constante, de maneira que o convívio domiciliar não se associa diretamente à exposição dos contatos, sendo importante considerar outros ambientes para além do domiciliar (Carvalho *et al.*, 2017).

Os contatos de caso de hanseníase sofrem influência de fatores sociais, individuais e de acesso aos serviços como determinantes para o adoecimento. Fatores como o analfabetismo, o convívio intradomiciliar com caso de hanseníase apresentando alta carga bacilar, a soropositividade ao antígeno PGL-1, presença do bacilo na corrente sanguínea e reação de *Mitsuda* negativa representam risco para desenvolvimento de hanseníase em contatos, sendo que os fatores modificáveis são os principais determinantes (Niitsuma *et al.*, 2021).

Estudo realizado em uma região endêmica do Brasil detectou que 52,1% dos participantes tinham sobreposição de casos na mesma rede de convívio domiciliar, além disso quase 65% dos casos foram diagnosticados após diagnóstico de outros casos próximos. Estes dados reforçam a importância da vigilância de contatos devido à maior probabilidade de adoecimento entre pessoas da mesma rede de convívio, sendo necessário considerá-las como importantes para compreensão da transmissão da hanseníase, assim como para realização de ações oportunas de vigilância e controle (Boigny *et al.*, 2019).

Diante disto, algumas ações de investigação epidemiológica são direcionadas aos contatos de casos de hanseníase tanto para evitar o adoecimento, quanto para favorecer o diagnóstico precoce de novos casos. Estas ações consistem na avaliação dermatológica e neurológica em busca de sinais e sintomas da doença, vacinação com BCG e realização do teste rápido *ML Flow* em todos os contatos, além do teste de biologia molecular qPCR que deve ser realizado quando necessário (Brasil, 2022b).

A imunoprofilaxia com BCG deve ser realizada nos contatos que estiverem sadios, ou seja, não apresentarem nenhum sinal clínico da doença durante a avaliação dermatológica e neurológica. Além disso, os contatos devem ter mais de um ano de idade, e apresentarem apenas uma, ou nenhuma dose da vacina BCG em seu histórico vacinal (Brasil, 2022b). A vacina BCG não é específica para a hanseníase (Brasil, 2016), entretanto causa efeito protetor em relação ao desenvolvimento da hanseníase (Niitsuma *et al.*, 2021), produzindo ainda, efeito protetor adicional nas pessoas com duas cicatrizes (Gomes *et al.*, 2019).

Além da BCG, o teste rápido *ML Flow* também deve ser realizado em todos os contatos de caso de hanseníase que não tenham sido diagnosticados como novo caso da doença durante a avaliação clínica (Brasil, 2022b). O *M. leprae* possui alta concentração de lipídeos em sua parede celular (Diório, 2014), entre eles o PGL-1, que é específico do bacilo e confere a ele

capacidade imunogênica (Barreto, 2014), estimulando a produção de IgM e ativando uma resposta imune humoral não protetora (Stefani, 2008). Após a descoberta da estrutura do PGL-1, foram produzidas moléculas sintéticas que mimetizam o PGL-1 nativo, como por exemplo a *Natural disaccharide octyl* (NDO), que conjugada com a albumina humana constituem a *Natural disaccharide linked to human serum albumin viaoctyl* (NDO-HSA) e induzem a produção de anticorpos (Spencer e Brennan, 2011). O teste rápido *ML Flow* identifica a presença de anticorpos da classe IgM em resposta ao PGL-1 (Bührer-Sékula *et al.*, 2003).

Existem outras partes do *M. leprae* que possuem capacidade imunogênica, e a partir da descoberta delas, mais moléculas foram desenvolvidas. Uma delas, é a *Leprosy IDRI diagnostic 1* (LID-1), criada a partir da fusão de duas proteínas, a ML2331 e a ML0405. Esse conjugado proteico induz a produção de Imunoglobulina G (IgG), e a partir dele desenvolveu-se o teste anti-LID-1 (Duthie *et al.*, 2007). Além disso, posteriormente, foi desenvolvido outro conjugado, pela fusão do NDO (PGL-1 sintético) com o LID-1, formando a *Natural disaccharide octyl - Leprosy IDRI diagnostic 1* (NDO-LID), que se mostrou capaz de detectar anticorpos tanto da classe IgM quanto IgG a partir do teste anti-NDO-LID (Duthie *et al.*, 2014). Os testes sorológicos, que identificam anticorpos formados em resposta a estes antígenos do *M. leprae*, têm sido utilizados com o intuito de identificar pessoas infectadas com o bacilo (Carvalho *et al.*, 2017; Fabri *et al.*, 2015).

Apesar de haver mais de um teste que identifica a presença de anticorpos em resposta ao *M. leprae*, foi desenvolvido um teste rápido a partir do anti-PGL-1 (Bührer-Sékula *et al.*, 2003), e desde 2022, o *ML Flow* foi aprovado para ser utilizado como parte das ações de vigilância no SUS, preconizado para ser utilizado na APS. Na ausência de sinais e sintomas no contato avaliado, o resultado positivo no teste determinará que o indivíduo deverá ser acompanhado anualmente, na própria APS, com vigilância ativa por cinco anos. Já diante do resultado negativo, o contato deverá ser liberado para vigilância passiva, realizando autoexame, e retornando ao serviço apenas em caso de surgimento de algum sinal sugestivo de hanseníase. Em contatos com alterações suspeitas inconclusivas, diante do resultado positivo, deverá ser realizada baciloscopia para confirmação do diagnóstico, e quando o resultado for negativo, estes deverão ser direcionados para a atenção especializada para a realização do qPCR (Brasil, 2022b).

O qPCR também está preconizado para ser utilizado no SUS desde 2022. Este teste avalia a presença de DNA do *M. leprae* em biópsias de pele ou nervo. A orientação é de que seja realizado em contatos com alterações suspeitas de hanseníase, inconclusivas para diagnóstico durante a avaliação clínica. Os contatos encaminhados para a atenção especializada

deverão ser reavaliados clinicamente, e em caso de permanência na dúvida sobre o diagnóstico a avaliação molecular por qPCR deve ser realizada. O resultado positivo no teste estabelece o diagnóstico de hanseníase, e caso o resultado seja negativo, o contato deve ser liberado para vigilância passiva (Brasil, 2022b).

Muitos avanços têm acontecido no que diz respeito à vigilância de contatos e ao controle da hanseníase. Apesar disso, ainda há desafios para a eliminação da doença, sendo necessário o desenvolvimento e implementação de estratégias que sejam capazes de englobar seus diversos determinantes. A eliminação da hanseníase, a interrupção da sua transmissão, a prevenção das incapacidades e o combate ao estigma relacionados ao adoecimento são pilares da estratégia global 2021-2030 “Rumo à zero hanseníase”, da OMS (Organização Mundial da Saúde, 2021). O fortalecimento da oferta de ações de controle da hanseníase (ACH) é fundamental para atingir estes parâmetros (Rodrigues, Arcêncio e Lana, 2021). Além disso, estas ações devem englobar os diversos âmbitos do adoecimento, com práticas individuais e coletivas que sejam capazes de abordar todos os fatores relacionados à hanseníase (Vieira, Martínez-Riera e Lana, 2020).

3.3 Características moleculares do *M. leprae* e técnicas de identificação

O genoma do *M. leprae*, agente etiológico da hanseníase, é considerado pequeno, contendo 3.268.203 pares de base. Além do tamanho reduzido, mais de 50% de seu DNA é composto por genes sem função codificadora e pseudogenes, o que indica um grande processo de deterioração e possivelmente tem relação com o fato de atualmente o *M. leprae* não possuir capacidade de se desenvolver *in vitro*, tampouco de sobreviver fora das células, o que torna mais difícil os avanços com relação a testes diagnósticos e descobertas sobre o bacilo (Cole *et al.*, 2001).

Em 1960, Shepard descreveu uma técnica de contagem de *M. leprae* por microscopia direta, a partir da inoculação de bacilos em camundongos, denominado *Mouse footpad* (MFP) (Shepard, 1960). Este por muitos anos foi o método mais eficaz, considerado padrão ouro para identificação e contagem de *M. leprae* (Shepard e Mcrae, 1968). Além disso, contribuiu sobremaneira para desenvolvimento e melhoria de pesquisas e até os dias atuais é utilizada em pesquisas como padrão de comparação com outras técnicas (Collins *et al.*, 2023).

Algumas décadas após a descoberta de Shepard, foram realizados estudos utilizando-se da técnica de PCR, envolvendo pacientes de hanseníase a partir da avaliação da amplificação do DNA do *M. leprae* em amostras de biópsia de pele (Yoon *et al.*, 1993), bulbos capilares e secreção nasal (Santos *et al.*, 1995). Yoon e colaboradores (1993), concluíram que a PCR

oferecia vantagem em relação à microscopia direta, identificando *M. leprae* inclusive em amostras com IB negativo. A partir daí começou-se a pensar no uso deste tipo de amostra para estudos com contatos domiciliares e população de risco (Santos *et al.*, 1995).

Apesar destes avanços, nesta época ainda não se conhecia todo o genoma do *M. leprae*, que foi completamente sequenciado no ano 2000, e a partir de então sua estrutura molecular foi compreendida (Cole *et al.*, 2001). Descobriu-se que aproximadamente 2% do genoma do bacilo é formado por sequências repetitivas de DNA. Sendo que existem quatro tipos de repetições, e a RLEP apresenta 37 cópias (Cole, Supply e Honoré, 2001).

Desde o sequenciamento do genoma do *M. leprae* muitos avanços ocorreram em pesquisas relacionadas à análise molecular do bacilo. Ensaios de PCR e qPCR foram desenvolvidos para amplificar diferentes alvos com a finalidade de detecção de pequenos números de bacilos, como 18 kDa, Ag 85B, 16S, RLEP (Barbieri *et al.*, 2019; Kang *et al.*, 2003; Manta *et al.*, 2020; Martinez *et al.*, 2006).

Posteriormente, com o desenvolvimento da técnica qPCR baseada na detecção quantitativa de fluorescência, a especificidade, assim como a sensibilidade das reações para quantificação de DNA ou conteúdo de cDNA bacilar aumentaram (Martinez *et al.*, 2006). A qPCR tem sido realizada com diferentes amostras clínicas como *swabs* nasal e oral (Carvalho *et al.*, 2018), raspado intradérmico (Gama *et al.*, 2019), biópsia de pele e de nervos (Azevedo *et al.*, 2017).

Apesar dos inúmeros alvos avaliados para identificação molecular do *M. leprae*, RLEP tem sido até então mais amplamente utilizado, o que pode se relacionar com o alto número de cópias desta sequência no genoma do bacilo (Cole, Supply e Honoré, 2001). Além disso, este marcador também apresenta maior sensibilidade quando comparado a outros (Martinez, A. N. *et al.*, 2011). Sabe-se que as concentrações de DNA possuem correlação com o IB, de maneira que concentrações mais altas de DNA refletem IB mais altos e o contrário também é verdadeiro. Não obstante a importância da detecção do DNA do *M. leprae* em amostras clínicas para auxílio no diagnóstico da hanseníase, técnicas que avaliam a viabilidade do bacilo apresentam grande importância para identificar o processo de infecção e adoecimento por hanseníase (Martinez *et al.*, 2009).

Testes moleculares que avaliam os alvos a partir de ensaios quantitativos de PCR com transcriptase reversa (RT-PCR) são capazes de determinar a viabilidade molecular do *M. leprae*. Há estudos sobre alguns genes em relação à viabilidade do bacilo em casos de hanseníase para avaliação da terapia medicamentosa, entre eles 16S rRNA, *sodA* mRNA (Martinez *et al.*, 2009), *hsp18* mRNA e *esxA* mRNA (Lenz *et al.*, 2022).

Entre os alvos utilizados para avaliação da viabilidade bacilar, o 16S tem sido investigado de forma mais abrangente, sendo testado em diferentes amostras clínicas (Marques *et al.*, 2018), em amostras ambientais (Turankar *et al.*, 2019) e até em estudos que relacionam amostras de casos de hanseníase e seus contatos com amostras ambientais para avaliação da transmissão do bacilo pelo ambiente (Singh, Turankar e Goel, 2020). A sequência do gene 16S rRNA no *M. leprae* apresenta diferenças significativas em relação a outras micobactérias, o que favorece o uso deste gene como alvo para identificação do bacilo (Cox *et al.*, 1991).

Apesar de o 16SrRNA estar sendo utilizado de maneira abrangente para avaliação da viabilidade molecular do *M. leprae*, na última década um grupo avaliou ensaios com os alvos *esxA* mRNA e *hsp18* mRNA como marcadores da viabilidade do *M. leprae* durante o tratamento e concluíram que estes são marcadores confiáveis para determinar a viabilidade do bacilo. Os ensaios foram realizados por RT-PCR em amostras obtidas de patas de camundongos (Davis *et al.*, 2013).

Recentemente, este mesmo grupo avaliou estes marcadores moleculares em raspado dérmico de casos de hanseníase. Correlacionaram os resultados da análise molecular com resultados obtidos pelo método MFP, e observaram correlação significativa entre os resultados obtidos pelas duas técnicas, em relação às amostras de casos de recidiva. Foi observado também redução significativa na viabilidade do bacilo ao longo do tratamento dos casos de hanseníase, e a partir disso os autores concluíram que tanto *hsp18* mRNA, quanto *esxA* mRNA se mostraram bons marcadores de viabilidade em amostras clínicas e que podem ser úteis para monitorar a eficácia do tratamento medicamentoso (Lenz *et al.*, 2022).

Posteriormente ao estudo que avaliou a viabilidade do *M. leprae* em raspado dérmico de casos de hanseníase com os genes *hsp18* mRNA e *esxA* mRNA, foi realizado outro estudo por pesquisadores do mesmo grupo que, além desses dois genes, avaliou também o 16S rRNA. Neste experimento, os três genes foram avaliados por método molecular e a viabilidade identificada por cada um deles foi comparada ao crescimento do bacilo em pata de camundongo pelo ensaio MFP. Verificaram que o 16S rRNA foi identificado pelo método molecular mesmo quando os bacilos estavam comprovadamente mortos, de acordo com os resultados do MFP. A partir disso, foi sugerido que o 16S rRNA é um marcador que apresenta alta estabilidade e que devido a isso deve haver cautela em interpretar sua positividade como viabilidade. Com isso, os autores fortalecem o papel de *hsp18* mRNA e *esxA* mRNA como marcadores de viabilidade e sugerem o uso do 16S rRNA para confirmar a extração do RNA nas amostras a serem analisadas quanto a viabilidade (Collins *et al.*, 2023). É importante ressaltar que as análises

deste estudo foram realizadas a partir de tecidos de patas de camundongo infectadas, não tendo sido avaliados resultados em amostras clínicas.

Os testes de qPCR tiveram grande evolução nos últimos anos. Entretanto para além da descoberta de marcadores que possam identificar a viabilidade do bacilo, com sensibilidade capaz de identificar de maneira eficaz os alvos gênicos em amostras não invasivas, alguns cuidados são necessários tanto para a realização dos testes moleculares de PCR quanto para sua interpretação.

A eficiência da PCR pode variar entre amostras biológicas. Esse fato pode estar ligado a diversos fatores como a coleta do material, presença de inibidores ou estimuladores da reação, contaminação da amostra, erros de pipetagem, entre outros (Ruijter *et al.*, 2021). Em virtude disso, a padronização de protocolos que possam garantir a qualidade das análises desde a extração do ácido nucleico até a realização da PCR é necessária. Além disso, a determinação do correto limiar de fluorescência para cada análise deve ser padronizada, de maneira a evitar a interpretação equivocada dos resultados (Ruiz-Villalba *et al.*, 2021).

Muitas técnicas têm sido desenvolvidas e avaliadas para a identificação do DNA do *M. leprae* assim como de sua viabilidade. Apesar disso, não se identificou, até o momento desta revisão, um ensaio que tenha se mostrado eficaz para o diagnóstico da hanseníase contemplando suas diversas formas clínicas e contribuindo assim para a vigilância epidemiológica da hanseníase.

4 METODOLOGIA

4.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo epidemiológico, observacional, do tipo longitudinal prospectivo. Foi avaliada uma coorte de contatos de casos de hanseníase nos anos de 2014, 2015, 2016, e um *follow-up* no ano de 2024. Os dados obtidos foram analisados quanto à presença e viabilidade molecular do *M. leprae* e a relação da viabilidade com características individuais, de convívio, da resposta imune e o adoecimento destes contatos.

Este estudo foi precedido por uma revisão sistemática de literatura, realizada com o intuito de sintetizar o conhecimento sobre os testes moleculares que avaliam a presença e a viabilidade do *M. leprae* e a relação destes com o processo de infecção e adoecimento de contatos de casos de hanseníase, considerando as diversas técnicas atualmente utilizadas para identificação molecular do bacilo.

4.2 Revisão sistemática

Previamente ao início da revisão sistemática, foi elaborado um protocolo e registrado sob o código CRD42022381295, disponível para acesso na plataforma *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO). O relato da revisão sistemática seguiu as diretrizes *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) (Page *et al.*, 2021).

O objetivo da revisão foi responder à seguinte questão: “Qual a relação entre a presença e/ou a viabilidade molecular do *M. leprae* com o processo de infecção e/ou adoecimento de contatos de casos de hanseníase?”

A estratégia de busca foi definida com base em termos selecionados a partir dos vocabulários controlados *Medical Subject Headings* (MeSH), *Descritores em Ciências da Saúde* (DeCS) e *Emtree*. Também foram incluídos termos livres significativos. Não foram aplicadas restrições de idioma, data/período e formato de publicação. Uma estratégia foi definida para cada uma das bases de dados: *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (MEDLINE) via PubMed, *Cochrane Library*, *Embase*, *Scopus*, *Web of Science* e *Latin American and Caribbean Health Sciences Literature* (LILACS) via portal regional da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) (Apêndice O). Ressalta-se que as estratégias de busca foram

elaboradas por uma bibliotecária estrategista. As buscas foram realizadas em 22 de janeiro de 2024.

Foram incluídos estudos publicados na íntegra, observacionais descritivos e analíticos do tipo transversal, caso-controle e coorte. Foram excluídos estudos experimentais, observacionais analíticos ecológicos, estudos qualitativos, estudos exclusivamente descritivos e revisões ou metanálises.

As referências encontradas foram exportadas para o *software Rayyan QCRI (Qatar Computing Research Institute)*, somadas e em seguida as duplicatas excluídas. Posteriormente foi realizada a seleção dos estudos por leitura de título e resumo, por duas duplas de revisores de maneira independente e com cegamento realizado na plataforma *Rayyan*. Após a finalização da seleção, foi realizado confronto entre as escolhas das duplas e as divergências foram resolvidas por terceiro revisor.

Após esta primeira etapa, as referências selecionadas foram inseridas no *software Mendeley*, onde os revisores tiveram acesso ao texto completo. A seleção por texto completo foi realizada por uma dupla de revisores, por meio de preenchimento em uma planilha criada no *software Microsoft Excel* e alimentada por cada revisor de maneira independente. O confronto foi realizado após a finalização da seleção. A concordância entre a dupla de revisores foi avaliada por meio do teste *Kappa* e observou-se concordância substancial e significativa ($Kappa = 0,651$; $p < 0,0001$). As divergências foram novamente resolvidas por terceiro revisor.

Foram extraídos os seguintes dados dos estudos elegíveis: Autores, Ano de publicação, Periódico, País, Endemicidade, Delineamento do Estudo, Período do estudo, População (contato domiciliar ou social), Amostra (n), Grupo de comparação (se houver), Desfecho avaliado, Outras variáveis incluídas no estudo (sexo, faixa etária, forma clínica do caso, classificação operacional do caso, etc.), Material biológico analisado, Sítio de coleta, Marcador utilizado, Técnica de análise, Medidas de frequência e/ou de efeito avaliadas com registro de intervalo de confiança e valor de p (quando disponibilizados). As informações foram preenchidas em uma tabela padronizada em duas entradas independentes e posteriormente comparadas para a realização da síntese da revisão.

A avaliação da qualidade metodológica dos estudos incluídos foi realizada a partir da *Newcastle-Ottawa Scale (NOS)*, atribuindo pontuações com base em um sistema de estrelas, que variam de zero a nove estrelas para estudos de caso-controle e de coorte, e de zero a sete estrelas para estudos transversais. Os estudos são analisados em relação à seleção, comparabilidade e exposição ou desfecho (Patra *et al.*, 2015; Wells *et al.*, 2023). Os resultados

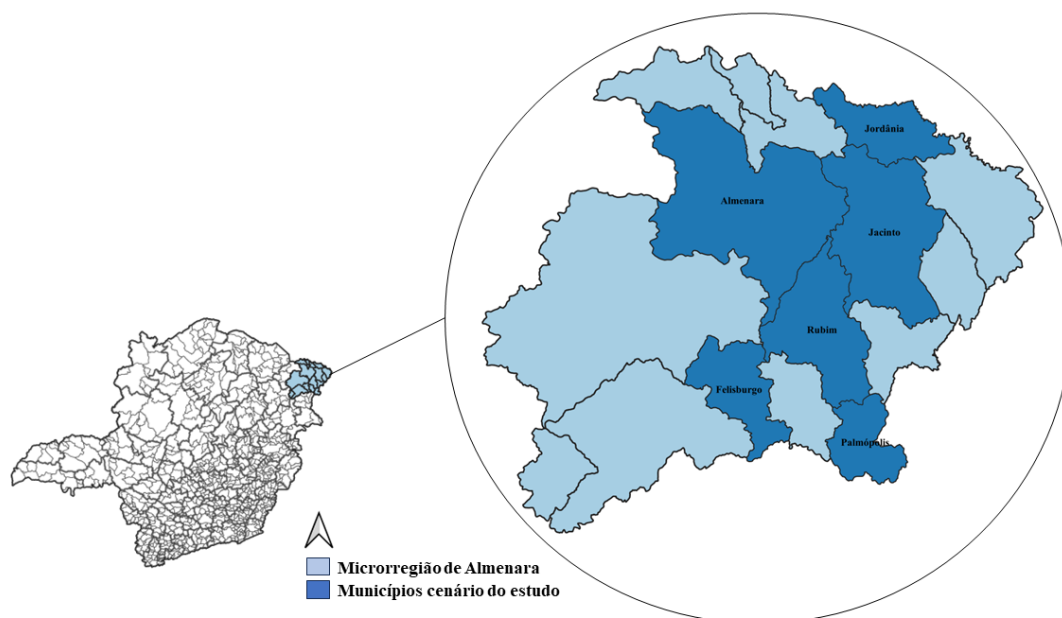
da revisão foram elaborados a partir da agregação dos dados extraídos em categorias, e posterior descrição narrativa de cada categoria formada.

4.3 Cenário do estudo

O estudo foi realizado em seis municípios do estado de Minas Gerais. O estado possui população de 20.539.989 habitantes considerando as estimativas do ano de 2022 e 586.513,983 km² de área territorial (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2024). Composto por 853 municípios, é dividido em 16 macrorregiões e 89 microrregiões de saúde (Minas Gerais, 2023).

Os municípios que compõe o estudo são Almenara, Felisburgo, Jacinto, Jordânia, Palmópolis e Rubim (Figura 5). Estes, estão localizados na microrregião de Almenara/Jacinto (Minas Gerais, 2023) e pertencem à GRS Pedra Azul, que é composta por 25 municípios e possui uma população total de 314.580 pessoas, sendo que os seis municípios do estudo são responsáveis por 27,38% (86.146) da população de toda a região (Minas Gerais, 2020).

Figura 5 – Mapa do estado de Minas Gerais com destaque para a microrregião de Almenara/Jacinto e municípios que compõe este estudo.



Fonte: (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2022) - adaptado para fins deste estudo.

A microrregião de Almenara é historicamente endêmica para hanseníase. Estudo realizado nos 16 municípios da microrregião, com os dados de casos de hanseníase notificados

entre 1998 e 2006, identificou que a média do coeficiente de detecção do período foi de 5,7 casos por 10.000 habitantes, o que reforça o caráter de hiperendemicidade da região (Amaral e Lana, 2008).

Apesar de a microrregião como um todo possuir caráter hiperendêmico, 6 municípios entre os 16 avaliados, se destacaram por apresentar média do coeficiente de detecção igual ou superior ao da microrregião no período de 1998 a 2006, a saber: Almenara (13,6/10.000), Felisburgo (8,2/10.000), Jordânia (5,9/10.000), Palmópolis (5,7/10.000), Rubim (11,0/10.000) e Santa Maria do Salto (18,0/10.000). Em outro resultado deste mesmo estudo, evidenciou-se a existência de dois *clusters* na região, sendo que em um deles o número de casos detectados foi abaixo do esperado e em outro o número de casos foi acima do esperado, o que indica neste último, maior força de transmissão da doença nesta área. Este *cluster*, engloba partes de alguns municípios e o município de Jacinto como um todo. Desta maneira, apesar de Jacinto ter apresentado média do coeficiente de detecção (4,4/10.000) abaixo da média da microrregião, se destacou por estar contido em um *cluster* em que o número de casos foi acima do esperado (Amaral e Lana, 2008).

Estes sete municípios destacados acima (Almenara, Felisburgo, Jacinto, Jordânia, Palmópolis, Rubim e Santa Maria do Salto), resultado da pesquisa de Amaral e Lana (2008), foram também cenário de outro estudo do grupo NEPHANS intitulado “Soropositividade anti PGL-I em contatos domiciliares de casos de hanseníase na microrregião de Almenara”, selecionados por serem os sete municípios com o maior número de casos e de contatos registrados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação, período de 2006 a 2010 na microrregião de Almenara (Carvalho, 2012). Ressalta-se que, entre estes sete municípios, o município de Santa Maria do Salto apresentou redução acentuada no número de casos diagnosticados a partir de 2010 (Carvalho, 2017), e em virtude disso não foi selecionado para compor o cenário deste estudo.

Dados publicados no Plano de Enfrentamento da Hanseníase em Minas Gerais, que considerou a média dos anos de 2013 a 2017, demonstraram que os seis municípios incluídos neste estudo apresentaram caráter hiperendêmico para a hanseníase ao avaliar o coeficiente de detecção - Almenara (181,6/100.000), Felisburgo (54,5/100.000), Jacinto (79,8/100.000), Jordânia (64,6/100.000), Palmópolis (296,6/100.000) e Rubim (116,1/100.000) - sendo mais alto que o do estado como um todo (26,7/100.000), que se caracterizou por muito alta endemicidade no mesmo período (Minas Gerais, 2019). Importante destacar que o município de Jacinto superou a média do estado no período mais recente.

Vale ressaltar que, nestes municípios existe situação de desigualdade de acordo com o índice de Gini que foi de 0,5048 (média dos municípios) (Brasil, 2024c). Outro dado importante a se destacar é o IDHM, que considerando a média dos municípios envolvidos no estudo, de acordo com dados do censo 2010, foi de 0,608 ficando abaixo da média estadual (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2023). Estes dados indicam que a região precisa melhorar seu desenvolvimento com relação à expectativa de vida, educação e renda, bem como com relação à desigualdade. Ressalta-se que estes fatores estão relacionados ao adoecimento por hanseníase (Pescarini *et al.*, 2018).

Tanto os fatores epidemiológicos, quanto o contexto socioeconômico que os municípios de Almenara, Felisburgo, Jacinto, Jordânia, Palmópolis e Rubim apresentam, justificam a escolha deles como cenário para desenvolvimento deste estudo.

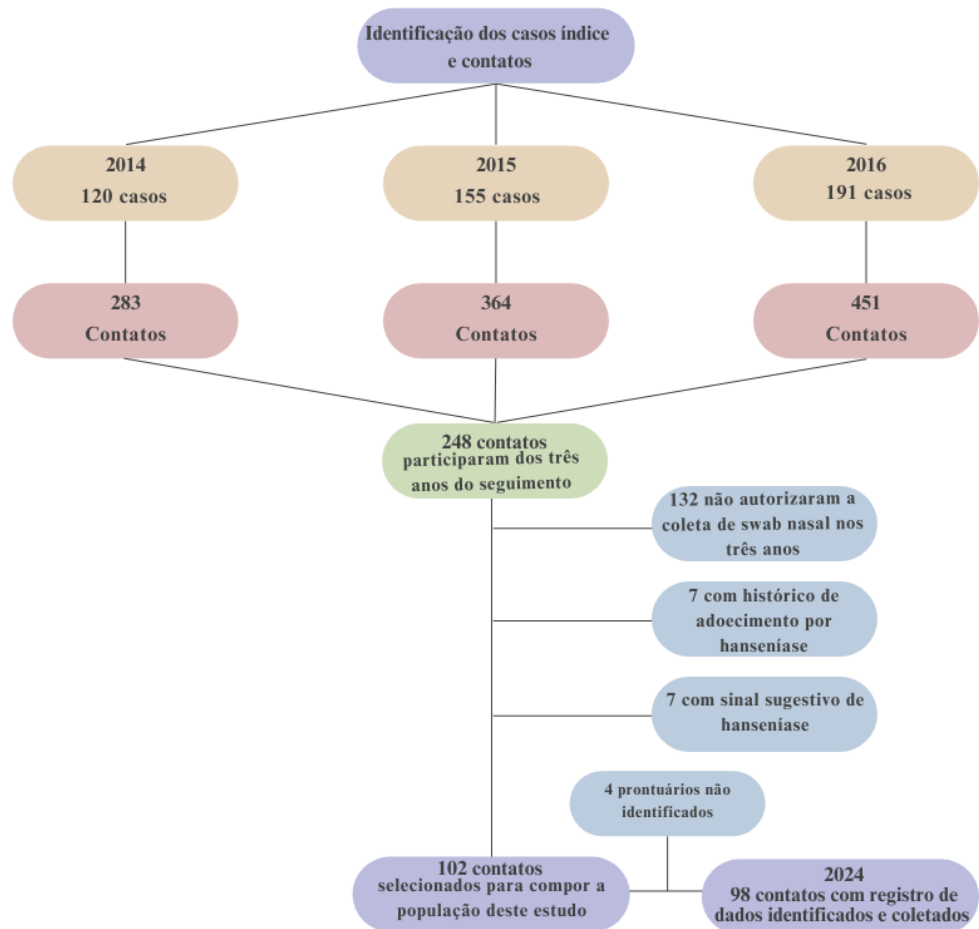
4.4 População do estudo

Os participantes do estudo foram contatos de casos de hanseníase diagnosticados entre 2010 e 2014, residentes nos municípios de Almenara, Felisburgo, Jacinto, Jordânia, Palmópolis e Rubim. Os casos índices foram identificados com base no banco de dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), disponibilizado pela Coordenadoria Estadual de Dermatologia Sanitária da Secretaria de Estado de Saúde (SES) de Minas Gerais no ano de 2014 e atualizado em 2015. Os contatos foram identificados por meio da abordagem ao caso índice.

A população deste estudo foi selecionada a partir do banco obtido nas coletas de dados realizadas nos anos 2014, 2015 e 2016 com os casos índices e seus respectivos contatos. No ano de 2014 participaram do estudo 283 contatos referentes a 120 casos índices. No ano de 2015, 364 contatos referentes a 155 casos índices. Em 2016, 451 contatos referentes a 191 casos índices. Participaram durante os três anos, 248 contatos, e destes, 116 além de participar da entrevista e avaliação clínica, autorizaram a coleta de amostra de *swab* nasal em todos os anos.

Entres estes 116 contatos, 7 tinham histórico de adoecimento por hanseníase e desta maneira foram excluídos deste estudo. Outros 7 foram excluídos por terem apresentado sinal sugestivo de hanseníase identificado durante a avaliação dermatoneurológica realizada no primeiro ano de acompanhamento desta coorte (2014). Desta maneira, foram selecionados para compor a população deste estudo 102 contatos. No ano de 2024, foi realizada nova coleta de dados e neste acompanhamento foram identificadas informações referentes a 98 contatos (Figura 6).

Figura 6 - Composição da amostra de participantes do estudo – 2014-2016 e 2024



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

4.4.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos todos os contatos que residiam com o caso na data do diagnóstico ou até cinco anos antes, compartilhando o domicílio ou terreno, com idade igual ou superior a sete anos, que residiam no mesmo município do caso de hanseníase na época da coleta de dados.

A opção por avaliar a população com idade superior a sete anos deve-se ao longo período de incubação do bacilo, bem como pela facilidade da coleta das amostras biológicas.

4.4.2 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão foram apresentar histórico de adoecimento por hanseníase, apresentar sinal sugestivo de hanseníase durante a avaliação dermatoneurológica no primeiro

ano do seguimento, não ter participado dos três primeiros anos de seguimento do estudo e não ter amostra de *swab* nasal coletada.

4.5 Variáveis do estudo

Com o intuito de atender aos objetivos do estudo, foram elencadas como variáveis dependentes aquelas relacionadas aos testes laboratoriais de presença e viabilidade do *M. leprae* e o desfecho adoecimento. Como variáveis independentes, foram elencadas as características individuais, de convívio e da resposta imune dos contatos.

As variáveis dependentes e independentes estão descritas nos quadros 2 e 3, respectivamente.

Quadro 2 – Variáveis dependentes

Variável	Descrição	Tipo	Categorias
Positividade RLEP	Resultado positivo à qPCR com alvo RLEP	Categórica	Negativo; Positivo
Positividade 16S rRNA	Resultado positivo à RT-qPCR com alvo 16S rRNA	Categórica	Negativo; Positivo
Positividade <i>hsp18</i> mRNA	Resultado positivo à RT-qPCR com alvo <i>hsp18</i> mRNA	Categórica	Negativo; Positivo
Adoecimento	Diagnóstico de hanseníase confirmado	Categórica	Não; Sim

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Quadro 3 – Variáveis independentes

Variável	Descrição	Tipo	Categorias
Idade	Idade em anos de vida	Contínua	-
		Categórica	Até 14 anos; 15-27 anos; 28-49 anos; 50 anos ou mais
Sexo	Sexo	Categórica	Masculino; Feminino
Escolaridade	Nível de escolaridade	Categórica	Fundamental incompleto ou menos; Fundamental completo a médio incompleto; Médio completo ou mais
Tipo de contato	Reside no mesmo domicílio que o caso índice ou no mesmo terreno	Categórica	Intradomiciliar; Peridomiciliar
Continua			

Tempo de convívio antes do diagnóstico	Tempo de convívio do contato com o caso índice antes do diagnóstico	Categórica	Até cinco anos; Mais de cinco anos
Densidade domiciliar	Razão entre o número de residentes e o número de cômodos no domicílio	Categórica	Menos de uma pessoa por cômodo; Uma ou mais pessoas por cômodo
Densidade em dormitórios	Razão entre o número de residentes e o número de dormitórios no domicílio	Categórica	Até uma pessoa por dormitório; De uma a duas pessoas por dormitório; Mais de duas pessoas por dormitório
Compartilha dormitório com o caso índice	Dorme no mesmo cômodo que o caso índice	Categórica	Não; Sim
Parentesco com o caso índice	Grau de parentesco entre o contato domiciliar e o caso índice	Categórica	Consanguíneo de 1º grau; Outros consanguíneos; Cônjuge; Não consanguíneo
Classificação operacional do caso índice	Classificação operacional do caso índice	Categórica	Paucibacilar; Multibacilar
Forma clínica do caso índice	Forma clínica de Madri atribuída ao caso índice	Categórica	Indeterminada; Tuberculóide; Dimorfa; Virchowiana
Grau de incapacidade física do caso índice	Grau de incapacidade física do caso índice no diagnóstico	Categórica	Grau 0; Grau 1; Grau 2
Baciloscopia do caso índice	Resultado da baciloscopia do caso índice	Categórica	Negativa; Positiva
BCG	Número de cicatriz de vacina BCG	Categórica	0;1;2
Resultado sorologia	Soropositividade NDO-HSA	Categórica	Negativo; Positivo
	Soropositividade LID-1		
	Soropositividade NDO-LID		
	Soropositividade a ao menos um antígeno (NDO-HSA, LID-1, NDO-LID)		

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Destaca-se que, para o desfecho “adoecimento” foram avaliadas de maneira descritiva as variáveis independentes listadas no quadro 3, acrescido das variáveis relacionadas ao

resultado dos testes moleculares, que foram consideradas como independentes para este desfecho.

4.6 Coleta de dados

Os dados para este estudo, referente aos três primeiros anos de acompanhamento, foram obtidos a partir do recrutamento dos participantes e das coletas de dados realizadas por integrantes do NEPHANS durante a realização do projeto “Análise do processo de exposição, infecção e adoecimento de contatos domiciliares de casos de hanseníase por meio de marcadores de infecção e de suscetibilidade genética ao *M. leprae*”.

A coleta de dados realizada nos anos 2014, 2015 e 2016, seguiu o mesmo procedimento em todos os anos. Foram realizadas visitas domiciliares, previamente agendadas, mediante autorização dos casos índice em abordar seus contatos e concordância dos contatos em participarem do estudo. No ano de 2024, foi realizada nova coleta de dados com o objetivo de obter dados a respeito dos possíveis diagnósticos de hanseníase entre os contatos, configurando o quarto acompanhamento.

Nos três primeiros anos, os participantes foram submetidos a entrevista a partir de um questionário estruturado (Apêndice A) para preenchimento de características clínicas, dados relacionados ao caso índice, informações epidemiológicas e demográficas. Além da entrevista foi realizada a avaliação dermatoneurológica com o intuito de identificar sinais e sintomas de hanseníase conforme protocolo de avaliação (Apêndice B). Foram coletadas também amostras biológicas de sangue total (Apêndice C) para a realização de testes sorológicos para verificação da presença de anticorpos em resposta ao *M. leprae*, analisados durante estudo anterior do grupo NEPHANS (Carvalho, 2017), bem como amostras provenientes da mucosa nasal por meio de *swabs* para a realização das análises de qPCR para verificação da presença e viabilidade do bacilo (Apêndice D).

Os indivíduos que apresentaram características sugestivas de hanseníase na avaliação dermatoneurológica foram encaminhados ao serviço de saúde de referência no município para esclarecimento diagnóstico, mediante preenchimento de formulário de encaminhamento previamente definido (Apêndice E).

Para a coleta de dados realizada no ano de 2024, inicialmente foi realizado contato com a referência técnica de hanseníase, a coordenação do núcleo de vigilância epidemiológica e a direção da GRS Pedra Azul, para autorização. A partir disso e com o apoio da referência técnica de hanseníase, estabeleceu-se contato com as coordenações da vigilância epidemiológica e/ou

da atenção primária à saúde de cada município a ser visitado para programação da entrada em campo.

Após a fase de planejamento, a coleta de dados foi realizada por mim, autora desta tese e integrante do NEPHANS, e pelo coordenador do núcleo e da pesquisa à qual esta tese está vinculada. Os dados foram obtidos por meio de acesso aos prontuários dos contatos participantes deste estudo. Foram avaliados prontuários físicos e eletrônicos, de acordo com a disponibilidade nas unidades de saúde da APS ao qual os contatos estavam vinculados. Mediante acesso aos prontuários, foram procuradas informações a respeito do adoecimento por hanseníase identificado pelo registro do diagnóstico. No caso de diagnóstico realizado, um formulário pré-estruturado (Apêndice F) foi utilizado para anotar as informações extraídas do prontuário. Foram identificados prontuários de 98 contatos. Um registro de campo foi elaborado com observações a respeito da coleta de dados em cada um dos municípios (Apêndice G).

4.7 Preparo, armazenamento e análise das amostras de *swab* nasal

4.7.1 Preparo e armazenamento das amostras

Durante as coletas, os tubos em que as amostras de *swab* nasal foram acondicionadas, foram identificados com códigos alfanuméricos para cada contato, correspondente ao código preenchido no questionário da entrevista. Imediatamente após a coleta, as amostras nos *swab* foram armazenadas em tubos tipo *ependorf* contendo 500 microlitros (μL) de *RNAlater*® para estabilização e proteção do RNA do bacilo. Ainda nos domicílios, os tubos foram acondicionados em caixas para armazenamento de tubos tipo *ependorf*, em temperatura ambiente, onde permaneceram por até 72 horas, período máximo entre a coleta nos domicílios em cada um dos municípios envolvidos no estudo e o transporte para o município de Almenara, onde havia uma base laboratorial estruturada. Após o transporte para o município de Almenara, as amostras foram armazenadas em *freezer* a -20°C .

Ao final das coletas em cada onda, todas as caixas com as amostras foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo seco para preservação da temperatura, e encaminhadas ao Laboratório da Escola de Enfermagem da UFMG, onde foram armazenadas a -80°C , e permaneceram até o período da análise laboratorial do presente estudo. Posteriormente, as caixas com as amostras foram encaminhadas, novamente acondicionadas em caixas de isopor com gelo seco para preservação da temperatura, ao Instituto Lauro de Souza Lima (ILSL), onde as análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em

Biologia Molecular Aplicada ao Estudo de Micobactérias, por pesquisadores da instituição, integrantes da equipe da Prof.^a Dr.^a Ida Maria Foschiani Dias Baptista, coorientadora desta tese, que coordenou toda a etapa de análise molecular.

4.7.2 Extração, tratamento e transcrição de RNA

4.7.2.1 Extração de RNA das amostras em swab nasal

Para a extração do RNA, foi seguido o protocolo conforme Apêndice H. As amostras foram descongeladas e agitadas em vórtex por 2 minutos, para solubilizar as células do *swab* em solução de RNAlater® utilizado para preservação das amostras durante o tempo de armazenamento. Posteriormente, esgotou-se o material contido nos *swabs* e estes foram descartados, mantendo o conteúdo das amostras nos microtubos. Após centrifugação das amostras por 20 minutos à 13.200 rpm à temperatura de 4°C, o RNAlater® foi retirado.

Em seguida, foi adicionado 800µL de Trizol em cada microtubo. Todo o conteúdo dos microtubos foi transferido para tubos contendo cristais de sílica. Os microtubos com cristais de sílica, contendo as amostras com Trizol foram agitados duas vezes no equipamento *FastPrep* 24 (MP-Biomedicals) na velocidade de 6m/s por 40 segundos. Em seguida os microtubos foram centrifugados por 20 minutos numa velocidade de 13.200 rpm a 4°C; após a centrifugação o sobrenadante foi retirado e colocado em outro microtubo. Os tubos contendo sílica e os demais componentes celulares foram armazenados a -20°C para posterior extração do DNA.

Aos microtubos com o sobrenadante contendo o RNA foi adicionado 800µL de isopropanol e em seguida incubados *overnight* a -20°C para promoção da precipitação do RNA. No dia seguinte, as amostras foram centrifugadas novamente por 20 minutos a 13.200 rpm a 4°C sendo o sobrenadante desprezado. Adicionou-se então 500µL de etanol 70% em cada microtubo para purificação das amostras. Estas foram homogeneizadas cuidadosamente por inversão e centrifugadas por 10 minutos a 13.200 rpm a 4°C. O sobrenadante foi desprezado e os microtubos abertos com o *pellet* formado foram mantidos em gelo, por, em média 10 a 30 minutos para evaporação do etanol. Posteriormente o RNA foi ressuscitado com 100µL de água DEPC e armazenados a -80°C.

4.7.2.2 Tratamento do RNA das amostras

O RNA foi descongelado sob refrigeração e realizada a quantificação da concentração de cada amostra no equipamento Nano Drop 1000™ (*Thermo Scientific*). Todas as amostras

foram padronizadas na concentração de 2000ng/ μ L e volume final de 40 μ L. O tratamento do RNA foi realizado com DNase Turbo™ (AM1907 *Ambion*) conforme descrito no protocolo Apêndice I.

Em cada amostra foi adicionado 5 μ L de *buffer* e 1 μ L de DNase I e em seguida foram incubadas a 37°C por 60 minutos para a remoção de possível DNA contaminante. Após esse período, foi adicionado 6 μ L de inativador de DNase em cada amostra. Os tubos foram centrifugados à 10.000 rpm à 4°C e em seguida o RNA tratado foi transferido para uma placa RNase *free* para transcrição em cDNA.

4.7.2.3 Transcrição do RNA em cDNA

O processo de transcrição da fita de RNA em cDNA, foi realizado conforme protocolo descrito no Apêndice J.

Cada amostra foi submetida a uma mistura contendo 1 μ L de Random *primer*, 1 μ L de dNTP, 7 μ L de água DEPC, e 11 μ L do RNA alvo. Após homogeneizar, as amostras foram mantidas por 5 minutos à temperatura ambiente, e em seguida aquecidas por 5 minutos à 65°C e por fim colocadas no gelo por 1 minuto.

Na sequência foram preparadas, uma mix contendo a *SuperScript*™ III *Reverse Transcriptase* (mix RT) e outra mix sem a enzima transcriptase reversa, *Non-Reverse Transcriptase* (mix NRT). A mix RT foi preparada com 4 μ L de *buffer* da enzima, 1 μ L de DTT, 1 μ L de água DEPC e 1 μ L de *Superscript* III para cada amostra. A solução mix NRT foi composta por 4 μ L de *buffer* da enzima, 1 μ L de DTT, 2 μ L de água DEPC, com volume final e reagentes conforme a mix RT, exceto pela ausência da enzima de transcriptase reversa *Superscript* III.

As mix RT e NRT foram aplicadas na placa com as amostras a serem transcritas, e em seguida incubada a 50°C, por, em média 60 minutos. Na sequência, a placa de transcrição foi inativada incubando a placa a 70°C por 15 minutos. As amostras transcritas em cDNA foram armazenadas a -20°C até o momento da realização da qPCR para os genes 16S rRNA e *hsp18* mRNA.

A Mix NRT foi utilizada como um controle de qualidade da reação de transcrição, garantindo que não havia DNA contaminante nas amostras que foram amplificadas. Na reação de qPCR, as amostras foram amplificadas em duplicata, sendo um conjunto de amostras RT (que passaram por transcrição reversa) e um conjunto NRT (não passaram por transcrição

reversa). Durante a análise, as amostras RT foram comparadas às NRT em relação à amplificação.

4.7.3 Extração de DNA

As amostras em microtubos contendo sílica e os componentes celulares que estavam armazenadas a -20°C, conforme descrito no tópico 4.6.2.1 foram retiradas do *freezer* para o processo de extração do DNA, conforme Apêndice K.

Em cada microtubo foi adicionado 500µL de clorofórmio e todo o conteúdo foi agitado em vórtex para homogeneização. Em seguida, os microtubos foram mantidos em temperatura ambiente por 5 minutos. Na sequência foram centrifugados a 13.200 rpm por 15 minutos em temperatura ambiente.

Após este tempo, o sobrenadante obtido a partir da centrifugação foi transferido para um microtubo novo e 600µL de isopropanol foi adicionado e misturado por inversão. Na sequência os microtubos foram incubados *overnight* a -20°C para precipitação do DNA.

Após a incubação, as amostras foram centrifugadas por 20 minutos, à 13.200 rpm, à temperatura ambiente. O sobrenadante foi desprezado e na sequência foi adicionado ao *pellet* de DNA 500µL de etanol 70% gelado e o microtubo foi centrifugado por 10 minutos à 13.200 rpm, à temperatura ambiente. Todo volume de etanol foi desprezado.

O microtubo com *pellet* foi mantido aberto à temperatura ambiente por um período que variou de 2 a 4 horas para evaporação do etanol. O DNA foi ressuspendido com 300µL de Tris-EDTA (TE) 1x, e armazenado no *freezer* -20°C até a realização das análises qPCR para o gene RLEP.

4.7.4 qPCR RLEP, 16S rRNA e hsp18 mRNA

As amostras de DNA para RLEP e de cDNA para os genes 16S rRNA e *hsp18* mRNA, foram submetidas em duplicata conforme protocolos descritos nos Apêndices L, M e N.

A placa do gene RLEP foi preparada com 10µL de Luna[®] Universal Probe qPCR Master Mix concentração 2X (Uniscience), 2,5µL de cada *primer* RLEP Forward (F) e Reverse (R), 2,5µL de sonda, e 6µL a 10µL da amostra de DNA (a depender da concentração obtida na leitura de cada amostra), resultando em um volume final que variou entre 23,5 µL e 27,5µL para cada amostra. Para o gene 16S rRNA cada amostra foi preparada com 10µL de Luna[®], 1µL de cada *primer* 16S F e R, 1µL de sonda, 6µL de água e 4µL da amostra de cDNA,

resultando em um volume final de 25µL. E para o gene *hsp18* mRNA cada amostra foi preparada com 12µL de Luna[®], 1µL de cada *primer* 18K F e R, 1µL de sonda, 1µL de solução *Bovine Serum Albumin* (BSA) e 6µL da amostra de cDNA, resultando em um volume final de 22µL.

Em cada placa, tanto para RLEP como para 16S rRNA e *hsp18* mRNA foi adicionado um controle positivo e um controle negativo para controle de qualidade da reação.

Na tabela 1, estão descritas as sequências de *primers* e sondas utilizadas, para identificação dos genes RLEP, 16S rRNA e *hsp18* mRNA, específicos para o *M. leprae*.

Tabela 1 - Sequência de *Primers* e Sondas dos genes RLEP, 16S rRNA e *hsp18* mRNA, específicos para o *M. leprae* utilizadas nos ensaios de qPCR, 2024.

Gene	Primer	Sequência de <i>Primers</i>
RLEP	MLRLEP - F	5'- GCA GCA GTA TCG TGT TAG TGA A - 3'
	MLRLEP - R	5'- CGC TAG AAG GTT GCC GTA T - 3'
	MLRLEP sonda	5'- CGC CGA CGG CCG GAT CAT CGA - 3'
16S rRNA	MLRNAr16S - F	5'- GCA TGT CTT GTG GTG GAA AGC - 3'
	MLRNAr16S - R	5'- CAC CCC ACC AAC AAG CTG AT- 3'
	ML16S rRNA sonda	5'- CAT CCT GCA CCG CA - 3'
<i>hsp18</i> mRNA	MLRNA <i>hsp18</i> - F	5'- CGA TCG GGA AAT GCT TGC - 3'
	MLRNA <i>hsp18</i> - R	5'- CGA GAA CCA GCT GAC GAT TG - 3'
	ML <i>hsp18</i> mRNA sonda	5'- 6FAM – ACA CCG CGT GGC CGC TCG - 3'

Fonte: (Davis *et al.*, 2013; Martinez *et al.*, 2009).

Para os três genes a ciclagem foi de 50°C por dois minutos, 95°C por 10 minutos, e 40 ciclos de 95°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto utilizando equipamento *StepOnePlus*TM (*Real Time PCR Systems – Life Technologies*).

O resultado da qPCR foi dado pelo número de ciclos - *Cycle threshold* - (Ct) em que a curva de fluorescência acumulada ultrapassa a linha de corte que pode ser detectada, sendo considerados valores positivos, para os três alvos moleculares analisados, aqueles em que o Ct foi menor ou igual a 37. Este valor foi definido considerando o limite de detecção determinado a partir de diluições seriadas do DNA do *M. leprae* em experimentos anteriores realizados no

Laboratório de Pesquisa em Biologia Molecular Aplicada ao Estudo de Micobactérias no ILSL, em que a diluição mais alta forneceu valor positivo no 37º ciclo. O Valor do Ct, é inversamente proporcional a quantidade de RNA e DNA presente na amostra.

Neste estudo definiu-se como presença do *M. leprae* na mucosa nasal dos participantes, o resultado positivo na qPCR pela identificação da sequência RLEP no DNA do bacilo. E a viabilidade do *M. leprae*, foi definida pelo resultado positivo na qPCR a partir da identificação dos genes 16S rRNA e *hsp18* mRNA no RNA do bacilo a partir da análise do conteúdo cDNA.

4.8 Tratamento e análise dos dados

Todos os dados, incluindo os coletados durante as visitas domiciliares, aqueles identificados em prontuários, assim como os resultados das análises laboratoriais foram agrupados em um banco de dados criado no *software Microsoft Excel* (versão 2016). Para as análises estatísticas foi utilizado o *software SPSS® (Statistical Package for Social Sciences, IBM, Nova Iorque, EUA)* versão 21 para *Windows*.

Realizou-se análise descritiva dos dados para caracterização da população de estudo, com obtenção de frequências absolutas e relativas. Utilizou-se o teste de *Kolmogorov-Smirnov* para avaliação da normalidade dos dados. Foi calculada mediana da variável contínua.

Para verificar a diferença de positividade dos testes entre um ano e outro, foi utilizado o teste *McNemar*. A concordância entre os testes foi verificada a partir do coeficiente *Kappa*. A associação entre a variável dependente e as variáveis independentes categóricas foram verificadas por análises bivariadas utilizando o teste Qui-Quadrado (X^2) ou o teste exato de *Fisher*. Entre a variável dependente e as variáveis independentes contínuas utilizou-se o teste *Mann-Whitney*. A correlação entre os resultados dos testes moleculares e as variáveis relacionadas à resposta imune foi verificada pelo coeficiente *Phi* (ϕ). Em todas as análises considerou-se um nível de significância de 5%.

4.9 Aspectos éticos

O presente estudo faz parte da pesquisa “Susceptibilidade genética de contatos domiciliares de casos de hanseníase e sua relação com os marcadores sorológicos e a presença e viabilidade do *M. leprae*”, que dá continuidade ao estudo “Análise do processo de exposição, infecção e adoecimento de contatos domiciliares de casos de hanseníase por meio de marcadores de infecção e de suscetibilidade genética ao *M. leprae*”, aprovado pelo Comitê de

Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG, por meio de parecer com Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE) número 01910312.5.0000.5149 (Anexo A).

Este estudo atende às determinações da Resolução 466/2012, do Conselho Nacional de Saúde, que estabelece diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Todos os participantes foram convidados a participar voluntariamente da pesquisa, sem nenhum tipo de remuneração e esclarecidos quanto aos objetivos do estudo.

Para garantir o anonimato, foram utilizados códigos alfanuméricos para a identificação dos questionários bem como dos materiais biológicos coletados referentes a cada pessoa.

Todos os participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice P) em duas vias, em que uma ficou com o participante e a outra foi arquivada pelo pesquisador responsável. No caso de indivíduos menores de 18 anos, os pais ou responsáveis autorizaram sua participação e assinaram o TCLE.

4.10 Financiamento e parcerias

A pesquisa “Susceptibilidade genética de contatos domiciliares de casos de hanseníase e sua relação com os marcadores sorológicos e a presença e viabilidade do *M. leprae*”, na qual este estudo se insere recebeu apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) por meio do termo APQ-02660-18.

O presente estudo contou com parceria de integrantes do NEPHANS que coletaram os dados para a pesquisa em questão durante a realização de estudo anterior intitulado “Análise do processo de exposição, infecção e adoecimento de contatos domiciliares de casos de hanseníase por meio de marcadores de infecção e de suscetibilidade genética ao *M. leprae*”.

Além disso, houve parceria com o ILSL mediante acordo firmado com a pesquisadora Dr.^a Ida Maria Foschiani Dias Baptista, coorientadora desta tese. A equipe de alunos da Dr.^a Ida, sob sua orientação e coordenação, forneceu apoio para este estudo realizando as análises moleculares nas amostras de *swab* nasal dos contatos domiciliares que compõe este estudo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

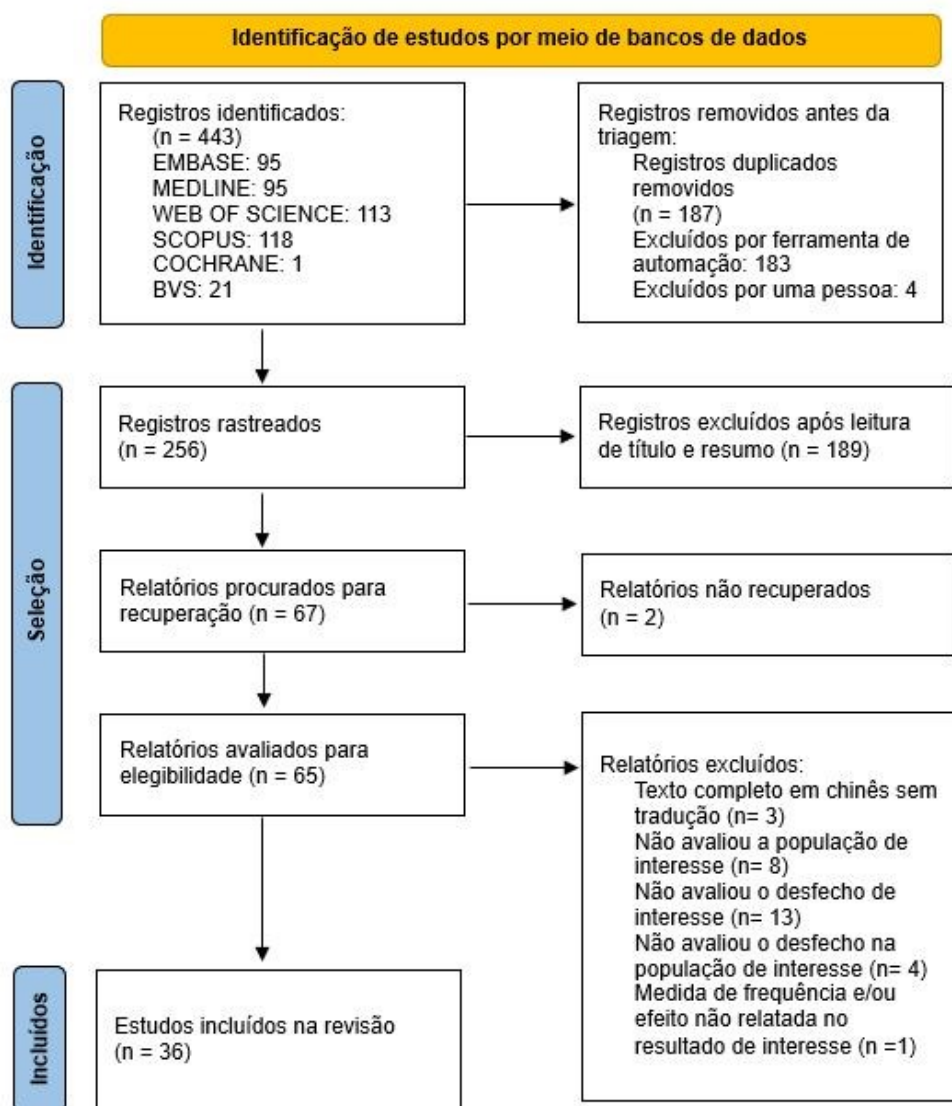
Este capítulo foi dividido em cinco tópicos, nos quais estão apresentados os resultados e a discussão desta tese. No primeiro tópico, consta a revisão sistemática, realizada com o intuito de sintetizar o conhecimento a respeito dos testes moleculares que avaliam a presença e a viabilidade do *M. leprae* em contatos, em relação ao processo de infecção e adoecimento por hanseníase. Ressalta-se que neste tópico, especialmente, está descrita também a conclusão, pois esta foi necessária para fundamentar a definição dos marcadores moleculares analisados em relação às características individuais, de convívio e da resposta imune dos contatos. A revisão sistemática está publicada no periódico *Tropical Medicine and Infectious Disease* (Vidal *et al.*, 2025).

No segundo tópico, está a caracterização dos contatos participantes deste estudo. O terceiro tópico é composto pelos resultados dos ensaios moleculares. No quarto, estão apresentadas as análises da relação entre a viabilidade molecular do *M. leprae* e as características dos contatos. Por fim, no quinto tópico, está um relato a respeito do contato domiciliar que se tornou um caso de hanseníase incidente durante a realização do estudo que originou esta tese.

5.1 Detecção molecular do *M. leprae* e o processo de infecção e adoecimento em contatos de pacientes com hanseníase: uma revisão sistemática

A busca nas bases de dados resultou em 443 estudos. Após a remoção das duplicatas, 256 títulos e resumos foram avaliados. Desses, 65 estudos foram selecionados para a leitura do texto completo, dos quais 29 foram excluídos (Apêndice Q). Ao final do processo de seleção, 36 estudos foram considerados elegíveis para compor esta revisão sistemática (Figura 7).

Figura 7 – Fluxograma PRISMA: Processo de seleção dos estudos elegíveis para a revisão sistemática.



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

Os 36 estudos incluídos foram publicados entre 1997 e 2023, envolvendo oito países: Argentina, Bangladesh, Brasil, China, Colômbia, Etiópia, Índia e Indonésia. A maior parte das publicações (52,8%) foi desenvolvida no Brasil. O idioma mais frequente entre as publicações foi o inglês. Com relação ao delineamento dos estudos, 24 (66,6%) foram estudos transversais, 10 (27,8%) de coorte, 1 (2,8%) caso-controle e 1 (2,8%) *follow-up*.

Entre os tipos de contatos avaliados, 32 estudos (88,9%) avaliaram contatos domiciliares, 3 (8,3%) contatos domiciliares e peridomiciliares, e apenas 1 estudo (2,8%) avaliou contatos sociais, sendo estes escolares. A amostra variou entre 18 e 1.352.

A qualidade metodológica dos estudos foi avaliada com a escala NOS. Nos estudos transversais, a pontuação variou entre duas e seis estrelas (máximo de sete), sendo que 13

(54,2%) receberam quatro estrelas. Nos estudos de coorte, *follow-up* e caso-controle, a pontuação variou entre quatro e oito estrelas (máximo de nove), com a maioria (66,7%) atingindo cinco ou seis estrelas. As principais limitações que impactaram negativamente a pontuação dos estudos incluíram falta de comparabilidade entre os grupos, período de seguimento insuficiente e perdas ao longo do seguimento (Tabela 2).

Tabela 2 – Características gerais dos estudos incluídos na revisão sistemática

Citação	Ano de publicação	Local (País)	Delineamento do Estudo	Amostra - Tipo de Contato (n)	Outros grupos (n)	NOS
Turankar <i>et al</i>	2014	Índia	Transversal	Domiciliar (28)	Casos (n=5)	3
Cardona-Castro <i>et al</i>	2009	Colômbia	<i>Follow-up</i>	Domiciliar (32)	Casos (n=12)	6
Wen <i>et al</i>	2013	China	Transversal	Domiciliar (96)	Casos (n=79), Controle saudável (n=35), Pacientes de tuberculose (n=18).	4
Almeida <i>et al</i>	2004	Brasil	Coorte	Domiciliar (125), e destes 120 foram submetidos à avaliação molecular	.	6
Banerjee <i>et al</i>	2010	Índia	Coorte	Domiciliar (182)	Casos (n=439)	5
Barreto	2011	Brasil	Transversal	Domiciliar (187), e destes 120 foram submetidos à avaliação molecular	Casos (n=46)	4
Lourenço <i>et al</i>	2017	Brasil	Transversal	Domiciliar (101), e destes 87 foram submetidos à avaliação molecular	Casos (n=69)	4
Medina <i>et al</i>	2010	Argentina	Transversal	Domiciliar (26)	.	3

Continua

Citação	Ano de publicação	Local (País)	Delineamento do Estudo	Amostra - Tipo de Contato (n)	Outros grupos (n)	NOS
Romero-Montoya <i>et al</i>	2017	Colômbia	Transversal	Domiciliar (543), e destes 180 participaram da coorte e 113 foram submetidos à avaliação molecular	Casos (n=170), e destes 46 participaram da coorte	5
Silva <i>et al</i>	2017	Brasil	Transversal	Domiciliar (18)	Casos (n=39)	3
Urgesa <i>et al</i>	2021	Etiópia	Transversal	Domiciliar (44)	Casos (n=11), Controle endêmico (n=44)	4
Pinho <i>et al</i>	2015	Brasil	Transversal	Domiciliar e peridomiciliar (808)	Casos (n=200)	5
Martinez <i>et al</i>	2011	Brasil	Transversal	Domiciliar (1288)	Casos (n=334)	4
Tió-Coma <i>et al</i>	2020	Bangladesh	Coorte	Domiciliar (250)	Casos (31)	6
Araujo <i>et al</i>	2016	Brasil	Coorte	Domiciliar (104)	Casos (n=113)	7
Bouth <i>et al</i>	2023	Brasil	Transversal	Domiciliar (78)	Casos tratados (n=23), Escolares (178), Demanda espontânea (6)	4
da Silva <i>et al</i>	2021	Brasil	Transversal	Domiciliar (296)	Casos recém diagnosticados (n=87), casos tratados (n=52), indivíduos saudáveis para controle endêmico (n=31).	4

Continua

Citação	Ano de publicação	Local (País)	Delineamento do Estudo	Amostra - Tipo de Contato (n)	Outros grupos (n)	NOS
Das <i>et al</i>	2020	Índia	Transversal	Domiciliar (61)	Casos (n=61), 6 famílias multicaso (n=16)	5
Araújo <i>et al</i>	2012	Brasil	Transversal	Domiciliar (1352)	Casos (n=444)	5
Sato <i>et al</i>	2022	Brasil	Transversal	Social - escolares (236)	.	6
Silveira <i>et al</i>	2021	Brasil	Caso-controle	Domiciliar (41) e peridomiciliar (40)	Casos (n=22)	5
Pathak <i>et al</i>	2019	Índia	Transversal	Domiciliar (50)	Casos (n=91)	3
Carvalho <i>et al</i>	2018	Brasil	Transversal	Domiciliar (48)	Casos (n=66) e Controle (n=80)	4
Gama <i>et al</i>	2018	Brasil	Transversal	Domiciliar (113)	Casos (n=43), controles negativos (n=8)	4
Gama <i>et al</i>	2019	Brasil	Coorte	Domiciliar (2011:113) (2012: 80) (2016: 44)	Casos (n=38), Controle (n=40)	6
Manta <i>et al</i>	2019	Brasil	Coorte	Domiciliar (980), e destes 955 foram incluídos na coorte e submetidos à avaliação molecular para rastreio	.	7
Arunagiri <i>et al</i>	2017	Índia	Transversal	Domiciliar (100)	Não contatos (n=100)	3
Smith <i>et al</i>	2004	Índia	Coorte	Domiciliar (202), e destes 157 foram submetidos à avaliação molecular	Não contatos (n=2.832)	5

Continua

Citação	Ano de publicação	Local (País)	Delineamento do Estudo	Amostra - Tipo de Contato (n)	Outros grupos (n)	NOS
Cardona-Castro <i>et al</i>	2008	Colômbia	Transversal	Domiciliar (402), e destes 71 foram submetidos à avaliação molecular	.	4
Brito e Cabral <i>et al</i>	2013	Brasil	Transversal	Domiciliar (135)	Caso (n=30)	4
Krismawati <i>et al</i>	2020	Indonésia	Transversal	Domiciliar (107)	.	4
Guerrero <i>et al</i>	2002	Colômbia	Transversal	Domiciliar (70)	.	4
Ramaprasad <i>et al</i>	1997	Índia	Coorte	Domiciliar (134) e destes 106 foram submetidos à avaliação molecular e 73 participaram da coorte	Controle - população indígena (n=89), trabalhadores da saúde (n= 33), casos (n= 48)	4
Job <i>et al</i>	2008	India	Coorte	Domiciliar (93)	Casos (n=20)	5
Reis <i>et al</i>	2014	Brasil	Coorte	Domiciliar (826)	Casos (n=200)	8
Martins <i>et al</i>	2010	Brasil	Transversal	Domiciliar e peridomiciliar (31)	Grupo controle (n=6) sendo 5 negativos pra anti-PGL-1 e 1 positivo	2

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Os dados extraídos a respeito das análises moleculares e desfechos dos estudos avaliados estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3 – Características das análises moleculares e desfechos dos estudos avaliados na revisão sistemática

Citação	Avaliação Molecular - marcador	Material biológico analisado	Técnica de análise	Desfecho e principais resultados
Turankar <i>et al</i>	Presença - RLEP	Raspado dérmico de lóbulos das orelhas	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> entre os contatos foi de 21,43% (6/28). Entre os 5 casos avaliados, todos apresentaram amplificação para RLEP. Os autores realizaram também subtipagem do DNA de <i>M. leprae</i> identificado nas amostras, e a partir disso concluíram que a fonte de infecção foi o caso índice associado, ou que ambos tiveram a mesma fonte primária de infecção.
Cardona-Castro <i>et al</i>	Presença - RLEP	Raspado dérmico de lóbulos das orelhas, lesões e cotovelos e <i>swab</i> nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> entre os contatos foi de (3,12%) 1/32. Este mesmo contato na época da coleta de dados apresentava uma lesão cutânea leve e hipopigmentada (2 x 3 cm), localizada na coxa esquerda, com área anestésica ao redor da lesão. Posteriormente esse contato com DNA do bacilo identificado desenvolveu hanseníase PB. Os autores avaliaram também sorologia anti-PGL-1 e identificaram uma taxa de soroconversão de 28% entre os contatos.
Wen <i>et al</i>	Presença - RLEP	Sangue	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> entre os contatos foi de 6,25% (6/96) entre os contatos próximos saudáveis.
Almeida <i>et al</i>	Presença - RLEP	Sangue e <i>swab</i> nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 4/120 (3,4%) em sangue ou secreção nasal, sendo que 2/119 (1,7%) foram positivos para amostras de sangue e 2/120 (1,7%) foram positivos para <i>swab</i> nasal. Nenhum dos contatos adoeceu durante o acompanhamento.

Continua

Citação	Avaliação Molecular - marcador	Material biológico analisado	Técnica de análise	Desfecho e principais resultados
Banerjee <i>et al</i>	Presença - RLEP	Swab nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 7,14% (13/182), sendo que entre os contatos de casos MB foi de 10,9% (12/110) e entre os contatos de PB foi de 1,3% (1/72). A positividade foi maior entre os adultos em relação às crianças. Os 1,09% (2/182) dos contatos que adoeceram eram de casos MB.
Barreto	Presença - RLEP	Swab nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 22,75% 33/145). Entre os contatos saudáveis 20,5% (26/127) apresentaram resultado positivo. No grupo de contatos domiciliares adoecidos 38,88% (7/18) apresentaram resultado positivo. Entre os 187 contatos participantes 11,8% (22/187) desenvolveram hanseníase, sendo que 16 adoeceram entre o diagnóstico com caso índice e a coleta de dados e 6 foram diagnosticados durante a coleta de dados.
Lourenço <i>et al</i>	Presença - RLEP	Swab nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 16,1% (14/87). A porcentagem de contatos com idade entre 11 a 15 anos que apresentaram resultado positivo na PCR foi significativamente maior do que os indivíduos nesta idade com PCR negativo (85,7% (12/14) vs. 26% (19/73); $P < 0,0001$). Com relação à classificação operacional do caso índice, a porcentagem de positividade da PCR foi de 15,1% (8/53) entre contatos de caso PB e 17,6% (6/34) para contatos de MB, não havendo diferença significativa ($p = 0,05$).
Medina <i>et al</i>	Presença - RLEP	Swab nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 19,23% (5/26) contatos. Destes, 4 eram contatos de casos MB e 1 de caso PB.

Continua

Citação	Avaliação Molecular - marcador	Material biológico analisado	Técnica de análise	Desfecho e principais resultados
Romero-Montoya <i>et al</i>	Presença - RLEP	Swab nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 16% (18/113). Estes 18 contatos pertenciam a 12 grupos familiares, o que indica que dois grupos familiares tinham dois contatos portadores de <i>M. leprae</i> e um grupo tinha três contatos portadores de <i>M. leprae</i> . 2 novos casos de hanseníase (1,76%) foram confirmados entre os contatos após os testes.
Silva <i>et al</i>	Presença - RLEP	Swab nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 72,2% (13/18) relacionado ao ensaio R5/R6, sendo que 100% (n=4) dos contatos de caso PB e 64,29% (n=9) dos contatos de caso MB foram positivos neste ensaio. Para o ensaio LP1/LP2, a positividade foi de 66,6% (12/18), sendo que 100% (n=4) dos contatos de caso PB e 57,14% (n=8) dos contatos de MB apresentaram resultado positivo.
Urgesa <i>et al</i>	Presença - RLEP	Swab nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 11,4% (5/44) (IC95%: 3%, 24%), sendo que todos os contatos com PCR positiva eram contatos de pacientes MB. Não foi observada diferença significativa na positividade do PCR entre os sexos ($p = 0,622$), faixas etárias ($P = 0,609$) e duração do contato com o caso índice ($p = 0,712$).
Pinho <i>et al</i>	Presença - RLEP	Swab nasal e oral	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 8,5% (69/808) das amostras dos contatos. Destas, 5,6% (45/808) eram amostras de swab oral e 4,6% (37/808) eram swab nasal. Entre os 69 contatos que tiveram resultados positivo, 21,7% (15/69) apresentaram positividade em ambas as amostras.

Continua

Citação	Avaliação Molecular - marcador	Material biológico analisado	Técnica de análise	Desfecho e principais resultados
Martinez <i>et al</i>	Presença - RLEP	Swab oral	PCR convencional	A positividade geral ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 6,83% (88/1288). Ao avaliar os contatos dos pacientes PB e MB, 5,08% (15/295) e 7,35% (73/993) apresentaram resultados positivos, respectivamente, não havendo diferença significativa entre os grupos ($X^2= 0,415$; $p=0,7187$).
Tió-Coma <i>et al</i>	Presença - RLEP	Raspado dérmico de lóbulos das orelhas e swab nasal	PCR convencional e qPCR	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> entre os contatos foi de 12,3% (30/250) em amostras de raspado dérmico e 18,0% (45/250) em swab nasal. A porcentagem de contatos que adoeceram durante o acompanhamento foi 1,6% (4/250). Destes, um apresentou PCR positiva em raspado dérmico 5 meses antes e outro em swab nasal 8 meses antes do diagnóstico. Os outros dois apresentaram sorologia anti-PGL-1 positiva 10 e 12 meses antes do diagnóstico, de maneira que todos os novos casos mostraram positividade para diagnósticos associados de 5 a 12 meses antes de desenvolver a doença. Os níveis individuais de anti-PGL-I apresentaram correlação negativa em relação aos valores de Ct RLEP.

Continua

Citação	Avaliação Molecular - marcador	Material biológico analisado	Técnica de análise	Desfecho e principais resultados
Araujo <i>et al</i>	Presença - RLEP	Biópsia de vestíbulo nasal, <i>swab</i> nasal, sangue	qPCR	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 49% (51/104) para <i>swab</i> nasal, 53,8% (56/104) para biópsia de concha nasal e 6,7% (7/104) para amostras de sangue. Entre os 104 contatos 6,7% (7/104) desenvolveram hanseníase durante o acompanhamento de 5 a 7 anos. Identificou-se relação significativa entre os resultados de qPCR para <i>swab</i> nasal e amostras de biópsia de cornetos (OR=2,3; IC95%: 1,0–5,1), assim como entre os resultados de qPCR para amostras de cornetos nasais e sorologia anti-PGL-I (OR=4,2; IC95%: 1,2–14,8; p= 0,046). Observou-se probabilidade clara em desenvolver hanseníase entre os contatos que apresentaram positividade para qPCR em amostras de sangue (razão de verossimilhança positiva (RV+) e Risco relativo (RR): 5,54 (IC95%: 1,30–23,62).
Bouth <i>et al</i>	Presença - RLEP	Raspado dérmico de lóbulos das orelhas	qPCR	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 23,7% (18/78). 2,6% dos contatos foram duplo-positivos (anti-PGL-I+/RLEP qPCR+). Identificou-se adoecimento entre os contatos de casos tratados: 5,3% (3/57); contatos de casos identificados entre escolares: 17,6% (6/34); bem como entre contatos de casos de demanda espontânea: 10% (2/20).
da Silva <i>et al</i>	Presença - RLEP	Raspado dérmico de lóbulos das orelhas	qPCR	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 27,4% (81/296). A sensibilidade da qPCR para detecção de DNA foi de 84%, especificidade de 75% e acurácia de 77%. 15,5% (46/296) dos contatos foram positivos tanto para RLEP quanto para sorologia anti-PGL-1.

Continua

Citação	Avaliação Molecular - marcador	Material biológico analisado	Técnica de análise	Desfecho e principais resultados
Das <i>et al</i>	Presença - RLEP	Raspado dérmico de lóbulos das orelhas	qPCR	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 78,7% (48/61). Contatos de casos BL e LL apresentaram maior positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> com relação ao tuberculoide (OR= 6,6; IC95%: 1,6–27,6; p= 0,0090). Da mesma maneira os contatos de casos MB (OR: 4,88; IC95%: 1,02–23,37; p= 0,04) e com IB positivo (OR: 7,07; IC95%: 1,41–35,41; p= 0,0173) apresentaram maior positividade molecular. Ser contato genético do caso índice também aumentou as chances de positividade quando o caso era LL ou BL (OR: 9,23; IC95%: 1,01–83,94; p= 0,04) e apresentava IB positivo (OR: 6,93; IC95%: 0,76–63,04; p= 0,08).
Araújo <i>et al</i>	Presença - RLEP	Swab nasal	qPCR	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 4,7% (63/1352), sendo 3,3% (10/303) para contatos de casos PB e 5,1% (53/1.049) para contatos de casos MB. Com relação à classificação da forma clínica do caso índice, a positividade dos contatos em relação ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de: 0% (0/9) contatos de casos na forma clínica indeterminada, 3,7% (4/107) TT, 3,9% (16/412) BT, 5,7% (14/244) BB, 7% (17/241) BL, 3,6% (12/339) LL. Houve associação significativa entre os resultados da PCR utilizando <i>swabs</i> nasais e os resultados da sorologia anti-PGL-I (p < 0,0034).

Continua

Citação	Avaliação Molecular - marcador	Material biológico analisado	Técnica de análise	Desfecho e principais resultados
Sato <i>et al</i>	Presença - RLEP	Swab nasal	qPCR	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> entre os contatos sociais foi de 14% (33/236), variando de 5,1% a 50% entre as escolas. Identificou-se maior prevalência de contatos sociais com PCR positivo entre aqueles que viviam na região norte da cidade (42,4%), com idade entre 10 e 14 anos (72,7%) e pertencentes às classes socioeconômicas C, D ou E em relação à classe econômica mais alta (66,7%). Na análise bivariada, houve diferença estatisticamente significativa entre as variáveis região de residência em que viver nas regiões norte, sul e leste apresentou maior chance de infecção pelo <i>M. leprae</i> (RP: 0,40; IC 95%: 0,18-0,91; p=0,039) e condição de residência em que viver num imóvel alugado ou doado apresentou maior chance de infecção pelo <i>M. leprae</i> (RP: 2,16; IC 95%: 1,16-4,04; p= 0,015).
Silveira <i>et al</i>	Presença - RLEP e 16S rRNA	Saliva	PCR convencional	No grupo de contatos domiciliares isoladamente, a positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 4,9% (2/41) para RLEP e 2,4% (1/41) para 16S rRNA. Em relação aos contatos peridomiciliares, houve positividade de 12,5% (5/40) para RLEP e 2,5% (1/40) para 16S rRNA. Considerando os dois grupos como um único grupo de contatos, a positividade foi de 8.6% (7/81) para RLEP e 2.5% (2/81) para 16S.
Pathak <i>et al</i>	Presença - RLEP, 16SrRNA e <i>sodA</i>	Sangue, swab nasal, raspado dérmico de lóbulos das orelhas, saliva	PCR convencional	Nas análises de PCR com genes individuais a positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 10% (5/50) para RLEP e 4% (2/50) para 16S. O alvo <i>sodA</i> não apresentou positividade. Já na M-PCR a porcentagem de positivos foi 40% (20/50).

Continua

Citação	Avaliação Molecular - marcador	Material biológico analisado	Técnica de análise	Desfecho e principais resultados
Carvalho <i>et al</i>	Presença - RLEP e 85B	Swab nasal e raspado de palato	qPCR	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 31% (15/48) na mucosa do palato e 38% (18/48) na mucosa nasal para RLEP, não havendo diferença significativa ($p= 0.6674$). Para o alvo 85B a positividade foi de 13% (6/48) na mucosa de palato e 19% (9/48) na mucosa nasal, também sem diferença de positividade entre os sítios de coleta ($p= 0.5740$).
Gama <i>et al</i>	Presença - 16S rRNA	Raspado dérmico de lóbulos das orelhas e sangue	qPCR	A positividade geral ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 23,89% (27/113), sendo que entre os contatos de caso PB a positividade foi de 19,23% e entre os contatos de MB foi de 27,87%. Ao observar os resultados separados, nas amostras de sangue a positividade foi de 9,73% (11/113), sendo 7,69% entre os contatos PB e 11,48% entre os contatos MB. Para as amostras de raspado dérmico a positividade foi de 15,93% (18/113), sendo 13,46% entre contatos de casos PB e 18,03% entre contatos de casos MB. Após 1 ano de acompanhamento, 2,65% (3/113) dos contatos foram diagnosticados com hanseníase.
Gama <i>et al</i>	Presença - 16s rRNA	Raspado dérmico de lóbulos das orelhas e cotovelos	qPCR	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 16,81% (19/113) em 2011, 7,04% (5/71) em 2012, e 0% (0/46) em 2016. Para os contatos de casos PB e positividade foi de 11,5% (7/52) em 2011, 3,5% (1/29) em 2012 e 0% (0/25) em 2016. Para os contatos de casos MB, foi de 19,7% (12/61) em 2011, 9,5% (4/42) em 2012 e 0% (0/21) em 2016. Foi observada redução na frequência de indivíduos positivos durante o período de estudo. 4 contatos adoeceram durante o seguimento, sendo 3 em 2012 e 1 em 2017, mas não foi verificada a relação entre os resultados dos testes positivos referentes aos contatos que adoeceram.

Continua

Citação	Avaliação Molecular - marcador	Material biológico analisado	Técnica de análise	Desfecho e principais resultados
Manta <i>et al</i>	Presença - 16S rRNA	Raspado dérmico de lóbulos das orelhas	qPCR	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 9% (86/955). E o adoecimento entre eles foi de 0,5% (5/955). Entre os contatos que adoeceram 20% apresentaram resultado positivo para qPCR, e entre os que não adoeceram esta positividade foi de 9%. Observou-se um RR de 2,52 (IC95%: 0,28–22,35), referente à predição do adoecimento por hanseníase, entretanto esse resultado não apresentou significância estatística.
Arunagiri <i>et al</i>	Presença - <i>pra</i>	Swab nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 13% (13/100).
Smith <i>et al</i>	Presença - <i>pra</i>	Swab nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 0,6% (1/157). Não houve associação significativa entre a positividade ao DNA de <i>M. leprae</i> e ser contato domiciliar.
Cardona-Castro <i>et al</i>	Presença - 12-5	Swab nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 31% (22/71). Entre os contatos que foram positivos na PCR, 72,7% (16/22) também foram positivas para anti-PGL1.
Brito e Cabral <i>et al</i>	Presença - 36 kDa	Swab nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 26,7% (12/135). Destes, 3 eram contatos de caso PB e 9 de caso MB. Entre os 12 contatos positivos para DNA de <i>M. leprae</i> , 5 foram positivos para IgM anti-PGL1 sérico, 7 foram positivos para anticorpos anti-PGL1 salivar e 1 foi positivo para todos os testes, com exceção do IgM anti-PGL1 salivar.

Continua

Citação	Avaliação Molecular - marcador	Material biológico analisado	Técnica de análise	Desfecho e principais resultados
Krismawati <i>et al</i>	Presença - LP1 (5'-TGC ATGTCATGGCCTTG AGG-3') e LP2 (5'-CAC CGATACCAGCGGCA GAA-3')	Swab nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 19,62% (21/107). Os contatos que conviviam há mais de 1 ano com o paciente de hanseníase tiveram risco 12 vezes maior de contrair <i>M. leprae</i> do que aqueles que viviam longe do paciente (OR= 12.45, IC95%: 1.595-97.20; p=0.002).
Guerrero <i>et al</i>	Presença - LSR/A15	Swab nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 12,8% (9/70). Os cônjuges apresentaram maior chance de infecção do que entre os demais coabitantes, independente de parentesco (OR=3,87, IC95%: 1.21-12.3).
Ramaprasad <i>et al</i>	Presença - S13/S62	Swab nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 2% (2/106) na primeira abordagem, e no seguimento a positividade passou para 4,1% (3/73), sendo que o contato que era positivo e participou do seguimento passou a apresentar resultado negativo na PCR e outros 3 passaram a apresentar resultado positivo.
Job <i>et al</i>	Presença - 18kDa	Raspado dérmico do antebraço e punho e swab nasal	PCR convencional	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 17,2% (16/93) em amostras de raspado dérmico antes do tratamento do caso, e 1,07% (1/93) após um mês de tratamento do caso. Em amostras de swab nasal a positividade foi de 4,3% (4/93) antes do tratamento do caso e 6,45% (6/93) um mês após tratamento do caso índice. Ressalta-se que destes 6, dois foram positivos nos dois momentos avaliados. Após dois meses de tratamento do caso índice, não houve positividade em nenhum dos contatos testados em nenhum tipo de amostra.

Continua

Citação	Avaliação Molecular - marcador	Material biológico analisado	Técnica de análise	Desfecho e principais resultados
Reis <i>et al</i>	Presença - ML0024	Sangue	qPCR	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 1,2% (10/826), sendo 1,1% (2/182) em contatos de pacientes PB e 1,2% (8/644) em contatos de pacientes MB. Todos os contatos domiciliares com ML0024 positivo qPCR (n=10) também apresentaram testes de <i>Mitsuda</i> negativos ou fracamente positivos (p=0,0131) e 40% (4/10) foram positivos para anti-PGL-1 (p=0,1283). Os contatos com presença de DNA de <i>M. leprae</i> apresentaram maior chance de desenvolver hanseníase (OR: 14,78, IC95%: 3,6–60,8; p<0,0001) e RV+ de 13,19 (IC95%: 3,6–48,1; p <0,0001). Em um acompanhamento de 7 anos, 3,1% (26/826) dos contatos desenvolveram hanseníase. Entre esses 26 contatos, 11,5% (3/26) apresentaram resultado positivo na qPCR.
Martins <i>et al</i>	Presença - Não mencionado	Biópsia de mucosa nasal	qPCR	A positividade ao DNA do <i>M. leprae</i> foi de 19,35% (6/31). Houve adoecimento por hanseníase em 3,22% (1/31) contato identificado no ano posterior à avaliação molecular. Todos os 6 contatos positivos na PCR apresentaram resultado positivo na sorologia anti-PGL-1 sendo que cinco deles apresentaram níveis séricos positivos 2+ e um apresentou nível sérico 4+.

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Estes dados foram agrupados e apresentados em três categorias.

Categoria 1- Positividade de *M. leprae* em contatos

Todos os 36 estudos apresentaram resultados referentes à presença de *M. leprae* entre os contatos.

A maioria dos estudos (n= 23 - 63,9%) avaliou a presença do bacilo a partir do marcador RLEP (Almeida *et al.*, 2004; Araújo *et al.*, 2012; Araujo *et al.*, 2016; Banerjee *et al.*, 2010; Barreto, 2011; Bouth *et al.*, 2023; Cardona-Castro, Beltrán-Alzate e Romero-Montoya, 2009; Carvalho *et al.*, 2018; Das *et al.*, 2020; Lourenço *et al.*, 2017; Martinez, T. S. *et al.*, 2011; Medina *et al.*, 2010; Pathak *et al.*, 2019; Pinho *et al.*, 2015; Romero-Montoya, Beltran-Alzate e Cardona-Castro, 2017; Sato *et al.*, 2022; Silva *et al.*, 2017; Silva, Da *et al.*, 2021; Silveira *et al.*, 2021; Tió-Coma *et al.*, 2020; Turankar *et al.*, 2014; Urgesa *et al.*, 2021; Wen *et al.*, 2013). Na sequência, cinco estudos (13,9%) identificaram o alvo 16S rRNA (Gama *et al.*, 2018, 2019; Manta *et al.*, 2019; Pathak *et al.*, 2019; Silveira *et al.*, 2021).

Outros alvos também foram avaliados, porém com menor frequência que os anteriormente citados, sendo eles o gene *pra* (Arunagiri *et al.*, 2017; Smith *et al.*, 2004), a sequência 12-5 (Cardona-Castro, Beltrán-Alzate e Manrique-Hernández, 2008), 36kDa (Cabral *et al.*, 2013), a sequência LP1 (5'-TGCATGTCATGGCCTTGAGG-3') e LP2 (5'-CACCGATACCAGCGGCAGAA-3') (Krismawati *et al.*, 2020), LSR/A15 (Guerrero *et al.*, 2002), S13/S62 (Ramaprasad *et al.*, 1997), 18kDa (Job *et al.*, 2008), ML0024 (Reis *et al.*, 2014), *sodA* (Pathak *et al.*, 2019) e 85B (Carvalho *et al.*, 2018). Um dos estudos não informou qual o alvo molecular utilizado para a investigação (Martins *et al.*, 2010). Ressalta-se que três estudos avaliaram mais de um alvo molecular em sua investigação (Carvalho *et al.*, 2018; Pathak *et al.*, 2019; Silveira *et al.*, 2021).

No quadro 4, os dados extraídos sobre a positividade ao DNA do *M. leprae* estão resumidos de acordo com o marcador molecular avaliado, a técnica de análise e o material biológico analisado. Estes dados estão descritos de maneira mais detalhada nas subcategorias, após o quadro.

Quadro 4 – Positividade ao DNA do *M. leprae* entre os estudos incluídos na revisão sistemática

Marcador molecular	Técnica de análise	Material biológico analisado	Positividade ao DNA do <i>M. leprae</i>	Referência
RLEP	PCR	Raspado dérmico	3,12% a 21,43%	Cardona-Castro, Beltrán-Alzate e Romero-Montoya, 2009, Tió-Coma et al., 2020, Turankar et al., 2014.
		Sangue	1,7% a 6,25%	Almeida et al., 2004, Wen et al., 2013.
		<i>Swab</i> Nasal	1,7% a 72,2%	Almeida et al., 2004, Banerjee et al., 2010; Barreto, 2011, Cardona-Castro, Beltrán-Alzate e Romero-Montoya, 2009, Lourenço et al., 2017, Medina et al., 2010, Pathak et al., 2019, Pinho et al., 2015, Romero-Montoya, Beltran-Alzate e Cardona-Castro, 2017, Silva et al., 2017, Tió-Coma et al., 2020, Urgesa et al., 2021.
		<i>Swab</i> Oral	5,6% a 6,83%	Martinez, T. S. et al., 2011, Pinho et al., 2015.
		Saliva	4,9% em contatos domiciliares e 12,5% peridomiciliares	Silveira et al., 2021.
		qPCR	Biópsia nasal	53,8%
	Raspado dérmico		23,7% a 78,7%	Bouth et al., 2023, Das et al., 2020, Silva, Da et al., 2021.
	<i>Swab</i> Nasal		4,7% a 49%	Araújo et al., 2012, Araujo et al., 2016, Carvalho et al., 2018, Sato et al., 2022.
	Sangue		6,7%	Araujo et al., 2016.
	Raspado de palato		31%	Carvalho et al., 2018.
Continua				

16S	PCR	Saliva	2,4% em contatos domiciliares e 2,5% peridomiciliares	Silveira et al., 2021.
		Swab Nasal	4%	Pathak et al., 2019.
	qPCR	Raspado dérmico	9% a 16,81%	Gama et al., 2018, 2019; Manta et al., 2019.
		Sangue	9,73%	Gama et al., 2018.
Alvos distintos	PCR	Swab nasal	0% a 31%	Arunagiri et al., 2017, Cabral et al., 2013, Cardona-Castro, Beltrán-Alzate e Manrique-Hernández, 2008, Guerrero et al., 2002, Job et al., 2008, Krismawati et al., 2020, Pathak et al., 2019, Ramaprasad et al., 1997, Smith et al., 2004.
		Raspado dérmico	17,2	Job et al., 2008.
	qPCR	Swab nasal	19%	Carvalho et al., 2018.
		Raspado de palato	13%	Carvalho et al., 2018.
		Sangue	1,2%	Reis et al., 2014.
		Biópsia nasal	19,35%	Martins et al., 2010.

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

1.1 Positividade de *M. leprae* a partir do alvo RLEP

A prevalência de positividade ao DNA do *M. leprae* a partir do alvo RLEP variou entre 1,7% (Almeida *et al.*, 2004) a 72,2% (Silva *et al.*, 2017) quando a técnica realizada foi PCR convencional em amostras de *swab* nasal. Em *swab* oral a variação encontrada foi de 5,6% (Pinho *et al.*, 2015) a 6,83% (Martinez, T. S. *et al.*, 2011). Em sangue, de 1,7% (Almeida *et al.*, 2004) a 6,25% (Wen *et al.*, 2013), e em raspado dérmico de 3,12% (Cardona-Castro, Beltrán-Alzate e Romero-Montoya, 2009) a 21,43% (Turankar *et al.*, 2014).

Quando a técnica qPCR foi performeda, a positividade para amostras de *swab* nasal variou de 4,7% (Araújo *et al.*, 2012) a 49% (Araujo *et al.*, 2016), e em raspado dérmico de 23,7% (Bouth *et al.*, 2023) a 78,7% (Das *et al.*, 2020). Em amostra de biópsia nasal a positividade identificada foi de 53,8%, em sangue 6,7% (Araujo *et al.*, 2016) e 31% em amostras de raspado de palato (Carvalho *et al.*, 2018).

Entre os estudos que testaram mais de um tipo de amostra para RLEP, o percentual de positividade observado não diferiu muito entre sangue (1,7%) e *swab* nasal (1,7%) (Almeida *et al.*, 2004); entre *swab* oral (5,6%) e *swab* nasal (4,6%) (Pinho *et al.*, 2015); assim como entre raspado dérmico de lóbulos das orelhas (12,3%) e *swab* nasal (18,0%) (Tió-Coma *et al.*, 2020). Destaca-se entre estes, o estudo que avaliou três tipos de amostra, e observou pequena diferença entre *swab* nasal (49%) e biópsia nasal (53,8%), porém estes resultados divergiram mais de 40% da positividade encontrada nas amostras de sangue (6,7%) (Araujo *et al.*, 2016).

1.2 Positividade de *M. leprae* a partir do alvo 16S

Três estudos avaliaram a presença do *M. leprae* a partir do alvo 16S rRNA (Gama *et al.*, 2018, 2019; Manta *et al.*, 2019). Todos utilizaram a técnica qPCR e avaliaram amostras de raspado dérmico. Um deles (Gama *et al.*, 2018) avaliou também amostra de sangue. A prevalência de positividade observada foi de 9,73% em sangue (Gama *et al.*, 2018), e variou entre 9% (Manta *et al.*, 2019) e 16,81% (Gama *et al.*, 2019) em raspado dérmico.

Um dos estudos, avaliou a presença molecular do bacilo em três anos distintos. A positividade encontrada foi decrescente passando de 16,81% para 7,04% no ano subsequente. E quatro anos depois, observou-se 0% de resultados positivos. Importante ressaltar que o número de contatos acompanhados também reduziu ao longo do acompanhamento (Gama *et al.*, 2019).

1.3 Positividade de *M. leprae* a partir de alvos moleculares distintos

Entre os estudos que avaliaram outros alvos, com menor frequência que os anteriormente descritos, oito realizaram PCR convencional e entre estes a prevalência de positividade ao *M. leprae* variou de 0,6% com avaliação do gene *pra* (Smith *et al.*, 2004) a 31% com a sequência 12-5 (Cardona-Castro, Beltrán-Alzate e Manrique-Hernández, 2008).

Entre estes, apenas dois estudos acompanharam os contatos com mais de uma avaliação molecular. Um deles, avaliou três meses subsequentes acompanhando o tratamento do caso índice, e identificou redução da presença do bacilo entre os contatos tanto em *swab* nasal quanto em raspado, sendo que os resultados apontaram 0% de DNA bacilar entre contatos após dois meses de tratamento do caso (Job *et al.*, 2008). Outro estudo que fez uma avaliação inicial e a segunda após um ano, identificou aumento de prevalência de positividade entre os contatos em mucosa nasal. Entretanto houve perdas no seguimento e apesar do aumento na porcentagem de resultados positivos, essa positividade não se manteve entre os mesmos indivíduos, indicando que a positividade é transitória (Ramaprasad *et al.*, 1997).

Em outros dois estudos em que se realizou a técnica de qPCR a prevalência de positividade variou de 1,2% para o alvo ML0024 em amostras de sangue (Reis *et al.*, 2014) a 19,35% em biópsia nasal, sem especificação do marcador utilizado (Martins *et al.*, 2010).

1.4 Positividade de *M. leprae* a partir de mais de um alvo molecular

Três estudos avaliaram a prevalência de positividade ao DNA do *M. leprae* utilizando mais de um alvo molecular. Em todos eles, o alvo RLEP foi avaliado e a positividade deste foi mais alta que dos demais alvos (Carvalho *et al.*, 2018; Pathak *et al.*, 2019; Silveira *et al.*, 2021).

Um estudo avaliou a saliva de contatos domiciliares e peridomiciliares em relação aos alvos RLEP e 16S, e a positividade encontrada entre os contatos peridomiciliares foi maior do que aquela encontrada entre os que viviam no mesmo domicílio que o caso de hanseníase para os dois alvos (Silveira *et al.*, 2021).

Os outros dois estudos avaliaram apenas contatos domiciliares. Um deles avaliou a diferença de positividade entre *swab* nasal e raspado de palato, e não identificou diferença significativa entre os dois sítios de coleta para os alvos RLEP e 85B, indicando que tanto a mucosa nasal quanto a cavidade oral são locais igualmente colonizados pelo bacilo (Carvalho *et al.*, 2018).

Outro avaliou os alvos RLEP, 16S e *sodA* em quatro sítios de coleta, sendo sangue, *swab* nasal, raspado dérmico de lóbulos das orelhas e saliva. Identificaram positividade apenas em *swab* nasal, e entre os alvos moleculares a maior positividade foi de RLEP (10%), seguido do 16S (4%) e o *sodA* não apresentou positividade. Ao avaliarem os três alvos em uma única reação a partir de um multiplex PCR, a positividade aumentou consideravelmente (40%) (Pathak *et al.*, 2019).

Categoria 2- Presença do *M. leprae* e fatores associados

Alguns estudos verificaram associação entre a prevalência de positividade ao *M. leprae* com fatores relacionados ao caso índice (Das *et al.*, 2020), às características de moradia, de convívio e epidemiológicas (Guerrero *et al.*, 2002; Krismawati *et al.*, 2020; Sato *et al.*, 2022), bem como sorologia positiva anti-PGL-1 (Araújo *et al.*, 2012; Araujo *et al.*, 2016; Tió-Coma *et al.*, 2020).

Identificou-se que pessoas que são contatos de casos classificados como BL e LL apresentam mais chance de ter *M. leprae* presente em relação aos contatos de casos TT (OR: 6,6; IC95%: 1,6–27,6; p= 0,0090). Da mesma maneira os contatos de casos MB (OR: 4,88;

IC95%: 1,02–23,37; $p=0,04$) e com IB positivo (OR: 7,07; IC95%: 1,41–35,41; $p=0,0173$) apresentaram maior positividade molecular. Além disso, ser contato genético do caso índice aumentou ainda mais as chances de positividade quando o caso era LL ou BL (OR: 9,23; IC95%: 1,01–83,94; $p=0,04$) e apresentava IB positivo (OR: 6,93; IC95%: 0,76–63,04; $p=0,08$) (Das *et al.*, 2020).

Ao avaliar os aspectos relacionados ao convívio com o caso índice e condições de moradia e socioeconômicas, foram encontradas relações indicando que pessoas que convivem há mais de um ano com o caso índice apresentam maior chance de apresentar o bacilo em seu organismo (OR: 12,45; IC95%: 1,595–97,20; $p=0,002$) (Krismawati *et al.*, 2020). Outra relação encontrada foi que os cônjuges têm maior chance de infecção em relação aos demais contatos domiciliares, independente do grau de parentesco (OR: 3,87; IC95%: 1,21–12,3) (Guerrero *et al.*, 2002).

Em relação às condições de moradia, estudo realizado com contatos sociais, identificou que viver em regiões com situação socioeconômica precária (Razão de prevalência (RP): 0,40; IC 95%: 0,18–0,91; $p=0,039$) e morar em imóvel alugado ou doado (RP: 2,16; IC 95%: 1,16–4,04; $p=0,015$) acarreta maior chance de infecção pelo *M. leprae* (Sato *et al.*, 2022).

Com relação à associação com a sorologia, um estudo identificou que aqueles indivíduos que apresentavam o *M. leprae* em amostras de biópsia nasal também tiveram resposta imunológica em relação ao bacilo identificada a partir da sorologia anti-PGL-1 em relação aos demais (OR: 4,2; IC95%: 1,2–14,8; $p=0,046$) (Araújo *et al.*, 2016). Esta mesma associação foi verificada em estudo que avaliou a detecção de DNA de *M. leprae* em *swabs* nasais ($p < 0,0034$) (Araújo *et al.*, 2012). Além disso, a correlação negativa identificada entre os valores de Ct de RLEP e os níveis séricos de anti-PGL-1 em amostras de *swab* nasal e de raspado dérmico de lóbulos de orelha corroboram esta relação existente entre a presença do DNA do bacilo e a expressão de anticorpos (Tió-Coma *et al.*, 2020).

Categoria 3- Presença do *M. leprae* e adoecimento entre contatos

Três estudos apresentaram análises de associação entre a identificação do *M. leprae* nos testes moleculares e o adoecimento de contatos. Um deles avaliou a presença do bacilo no sangue e identificou que a positividade indica mais de 14 vezes a chance de adoecimento em relação àqueles que não apresentaram positividade na avaliação molecular (OR= 14,78; IC 95%: 3,6–60,8; $p < 0,0001$), além de $RV+ = 13,19$ (IC 95%: 3,6–48,1; $p < 0,0001$) (Reis *et al.*, 2014). Outro estudo verificou associação entre o desenvolvimento de hanseníase e os resultados

positivos em amostras de sangue com RR e RV+ = 5,54 (IC 95%: 1,30–23,62) (Araujo *et al.*, 2016). O terceiro estudo, investigou a associação entre a positividade de *M. leprae* presente em raspado dérmico de lóbulos das orelhas e o adoecimento, porém o RR de 2,52 (IC 95%: 0,28–22,35) não foi estatisticamente significativo (Manta *et al.*, 2019).

Além destes três, outros dez estudos (Almeida *et al.*, 2004; Banerjee *et al.*, 2010; Barreto, 2011; Bouth *et al.*, 2023; Cardona-Castro, Beltrán-Alzate e Romero-Montoya, 2009; Gama *et al.*, 2018, 2019; Martins *et al.*, 2010; Romero-Montoya, Beltran-Alzate e Cardona-Castro, 2017; Tió-Coma *et al.*, 2020) identificaram a ocorrência ou não de adoecimento entre os contatos, entretanto não estabelecem relação direta com a positividade verificada nos testes moleculares.

Entre os treze estudos a maior porcentagem de adoecimento identificada entre os contatos foi de 11,8% em um estudo transversal (Barreto, 2011) e a menor de 0% entre os contatos avaliados durante acompanhamento de um ano (Almeida *et al.*, 2004).

Discussão e conclusão da revisão

Os resultados obtidos demonstraram que, entre os 36 estudos incluídos nesta revisão sistemática, foram avaliados doze marcadores moleculares, sendo que em 63,9% deles avaliou-se o marcador RLEP. Além disso, este também apresentou as maiores porcentagens de positividade identificadas. A alta proporção de estudos utilizando este marcador pode se relacionar com a quantidade de cópias da sequência no genoma do bacilo (Cole, Supply e Honoré, 2001), tornando-o um alvo amplamente utilizado.

Apesar de inúmeros estudos definirem que tanto a sensibilidade quanto a especificidade de qPCR é superior à da PCR convencional (Martinez *et al.*, 2006; Sarath, Joseph e Jamir, 2023), nesta revisão não se observou esta diferença, visto que, entre os estudos incluídos houve ampla variação de positividade ao DNA do *M. leprae* identificadas tanto em estudos que utilizaram a PCR, quanto naqueles que utilizaram qPCR. Entretanto, a técnica qPCR possibilita a quantificação direta do conteúdo de DNA nas amostras clínicas, melhorando consideravelmente o tempo para obtenção do resultado (Martinez *et al.*, 2014). Entre os estudos avaliados na revisão, nos últimos anos a qPCR tem sido mais utilizada em detrimento da PCR convencional.

Houve grande variabilidade também em relação ao material biológico analisado, independentemente da técnica utilizada. A eficiência da PCR pode estar ligada a inúmeros fatores para além do tipo de amostra, como aqueles relacionados à técnica de coleta do material,

contaminação das amostras, falhas de pipetagem (Ruijter *et al.*, 2021), determinação correta do limiar de fluorescência (Ruiz-Villalba *et al.*, 2021), entre outros que afetam o resultado da avaliação molecular.

Fatores como ser contato de caso classificado nas formas mais graves da hanseníase, residir a mais tempo com o caso e ser cônjuge do mesmo, aumentaram a chance de o contato apresentar DNA do bacilo. Sabe-se que as pessoas que desenvolvem as formas mais graves da doença apresentam maior quantidade de bacilo em seu organismo (Brasil, 2022b), além disso as condições de convívio interferem na chance de infecção pelo *M. leprae* em virtude da exposição. Para contatos sociais, foi observado relação entre a presença de DNA bacilar e situação de habitação que refletem condição socioeconômica precária. É consistente a relação existente entre a hanseníase e condições de vida e econômicas desfavoráveis (Nery *et al.*, 2019; Pescarini *et al.*, 2018), bem como residir em áreas de maior pobreza (Nery *et al.*, 2019).

A hanseníase é uma doença historicamente vinculada ao contexto social do indivíduo, que envolve tanto aspectos individuais quanto coletivos (Leano *et al.*, 2019). Fatores como baixa escolaridade, insegurança alimentar (Leano *et al.*, 2019; Pescarini *et al.*, 2018), ser pardo ou preto (Nery *et al.*, 2019), conviver há mais de cinco anos com um caso, morar na mesma casa que o caso índice e apresentar sobreposição de casos na família (Boigny *et al.*, 2019), assim como conviver com caso índice com alta carga bacilar (Niitsuma *et al.*, 2021), favorecem o adoecimento por hanseníase, e reforçam os achados de estudos incluídos nesta revisão que evidenciam a relação entre fatores socioeconômicos desfavoráveis e a identificação de DNA do *M. leprae* entre os contatos.

Foram estabelecidas também, relações entre a presença do DNA do *M. leprae* e a sorologia anti-PGL-1. Sabe-se que os testes sorológicos são úteis na identificação de indivíduos infectados tanto em áreas endêmicas (Carvalho *et al.*, 2017; Fabri *et al.*, 2015) quanto não endêmicas (Vidal *et al.*, 2019), podendo ser utilizados na triagem e identificação de pessoas com alto risco de adoecimento (Frade *et al.*, 2017). Contatos que além de apresentarem DNA do *M. leprae*, já expressam anticorpos em relação ao mesmo, tem maior indício de infecção estabelecida e limitação da resposta imune celular. Os aspectos imunológicos da pessoa infectada pelo *M. leprae* possuem papel importante no desenvolvimento do adoecimento por hanseníase, na manifestação de sinais clínicos (Nath, Saini e Valluri, 2015), e são considerados para a classificação da doença (Brasil, 1960; Ridley e Jopling, 1966).

O tempo entre a infecção e o diagnóstico favorece a proliferação bacteriana, e está relacionada à resposta imune do indivíduo, podendo acarretar o desenvolvimento de mecanismos neurogênicos e inflamatórios que causarão deformidades e incapacidades físicas.

O diagnóstico tardio favorece a manutenção das percepções negativas relacionadas à hanseníase, o que favorece a perpetuação do estigma (Lana *et al.*, 2014).

Entre os estudos incluídos na revisão, 25 (69,5%) concluíram que a identificação molecular do DNA do *M. leprae* indica infecção nestes indivíduos. Nos estudos que não atrelaram a presença do bacilo à infecção, os resultados apontaram que a identificação molecular permite concluir sobre a colonização dos contatos, e o papel destes na exposição e transporte do bacilo.

Apesar da alta porcentagem (69,5%) de artigos incluídos na revisão que concluíram a respeito da presença de infecção nos indivíduos com DNA do bacilo em seu organismo, é importante ressaltar que alguns deles avaliaram amostras provenientes de vias aéreas superiores, por meio de *swabs* nasal e oral. Estes locais são considerados a principal porta de entrada do bacilo no organismo (Araujo *et al.*, 2016), indicando portadores do bacilo (Marques *et al.*, 2018), podendo ser vinculado ao processo de colonização em que há presença do agente infeccioso sem manifestação clínica ou resposta imunológica.

Entretanto, entre os estudos que avaliaram amostras de sangue, biópsias ou raspados dérmicos, a possibilidade de infecção pode ser considerada, uma vez que os bacilos obtiveram “sucesso” no processo de colonização, superando as barreiras imunológicas (Araujo *et al.*, 2016). Acreditamos ser possível concluir sobre infecção naqueles estudos que atrelam a conclusão sobre a infecção à presença de sinais clínicos sugestivos de hanseníase ou de anticorpos anti-PGL-1, uma vez que nestes casos já existe resposta imunológica presente.

Em relação à categoria “adoecimento dos contatos”, foram apresentados resultados em 13 estudos, porém apenas três deles estabeleceram uma relação com a positividade ao DNA do *M. leprae*. Um deles avaliou amostras de raspado dérmico de lóbulo de orelha e não apresentou significância estatística. Outros dois avaliaram amostras de sangue.

Um destes estudos estabeleceu que o bacilo é identificado no sangue daqueles indivíduos que tiveram o processo de infecção nasal bem-sucedido, dando sequência assim a uma infecção produtiva e disseminando para locais onde seu crescimento é favorecido (Araujo *et al.*, 2016). A associação significativa entre a identificação do DNA do bacilo e o adoecimento, observada nos estudos que avaliaram amostras de sangue em detrimento do estudo que avaliou amostras de raspados de lóbulos de orelha pode estar relacionada à técnica de coleta do material, uma vez que a coleta de sangue não requer treinamento especializado, tornando-se menos um fator a interferir no resultado das análises (Ruijter *et al.*, 2021).

É importante ressaltar que a maior parte dos estudos incluídos nesta revisão apresentaram desenho transversal, o que pode ter inviabilizado relacionar a presença do DNA

do *M. leprae* ao surgimento de sinais clínicos, resposta imunológica, assim como o desenvolvimento da doença.

Considerando a definição de infecção como a “penetração, multiplicação e / ou desenvolvimento de um agente infeccioso em determinado hospedeiro” que pode ainda ser definida como infecção subclínica quando não causa manifestações clínicas (Fundação Oswaldo Cruz, 2024), os dados obtidos nesta revisão sistemática, possibilitam definir que a identificação de DNA do *M. leprae* em amostras biológicas de contatos de hanseníase por si só não se relaciona diretamente com a infecção pelo bacilo. Para isto, devem ser considerados fatores como a presença de resposta imunológica, assim como a viabilidade molecular destes bacilos.

Da mesma maneira, não é possível estabelecer esta relação a respeito do adoecimento. Apesar de dois estudos terem identificado associação significativa entre a presença do DNA do bacilo no sangue e maior chance de adoecimento, considerando que cada um deles avaliou um marcador molecular distinto, estes dados não possibilitam a definição de uma evidência.

A detecção do DNA do *M. leprae* em amostras clínicas é importante e está recomendada entre as ações de vigilância do SUS desde 2022, entretanto seu uso ainda é restrito na atenção especializada em biópsias de pele de contatos já suspeitos da doença, com alterações inconclusivas (Brasil, 2022b).

Entretanto, para além da identificação do DNA do bacilo, detectar o RNA do *M. leprae* por meio de RT-PCR, permite a avaliação da viabilidade do bacilo já determinada tanto em estudos com casos de hanseníase (Beissner *et al.*, 2019; Martinez *et al.*, 2009), quanto em modelos animais (Collins *et al.*, 2023), e até em estudo envolvendo amostras ambientais (Singh, Turankar e Goel, 2020), sendo sugerida para avaliação da carga bacteriana (Beissner *et al.*, 2019), na identificação do processo de infecção e adoecimento investigando casos (Martinez *et al.*, 2009), bem como no papel do ambiente na transmissão do bacilo para casos e contatos (Singh, Turankar e Goel, 2020). Acredita-se ser importante avaliar a viabilidade molecular do *M. leprae* entre contatos de hanseníase, inclusive aqueles sem alterações sugestivas da doença, para verificar sua aplicabilidade como ferramenta diagnóstica precoce.

Ressalta-se que, embora a estratégia de busca tenha sido elaborada para recuperar uma ampla gama de artigos, nenhum dos estudos identificados avaliou a viabilidade do *M. leprae* entre contatos, o que é uma limitação desta revisão. Outra limitação refere-se ao baixo número de estudos longitudinais identificados, o que evidencia a dificuldade de acompanhamento dos contatos dos casos de hanseníase, dificultando o avanço do conhecimento sobre o processo de infecção e adoecimento pela hanseníase. Nesse contexto, destacam-se também as fragilidades

dos serviços de saúde, especialmente da Atenção Primária à Saúde, na execução das ações de controle da hanseníase (Corrêa *et al.*, 2022), que envolvem o monitoramento e a vigilância dos contatos.

Os resultados da revisão sistemática evidenciaram que há grande diversidade de marcadores moleculares já testados em relação à identificação do DNA de *M. leprae* em contatos, entretanto em nenhum dos estudos recuperados na busca foi avaliada a viabilidade molecular do bacilo entre os contatos em relação ao processo de infecção e adoecimento. Os dados possibilitaram concluir que a detecção do DNA do *M. leprae per se* não fornece evidências suficientes para atrelar a positividade molecular ao desenvolvimento de infecção e ao adoecimento entre contatos de hanseníase.

5.2 Caracterização dos contatos participantes deste estudo

Foram incluídos no estudo 102 contatos de casos de hanseníase. A idade dos participantes variou de 7 a 83 anos, com mediana de 26 anos. Destaca-se que 27 participantes (26,5%) eram menores de 15 anos. A maioria dos contatos foi do sexo feminino (60,8%) e tinham baixo grau de escolaridade, não tendo concluído o ensino fundamental (60,8%), conforme apresentado na tabela 4.

Tabela 4 - Caracterização dos dados sociodemográficos dos participantes do estudo, 2014 (n=102).

Variável	Contatos	
	n	%
Idade		
Até 14 anos	27	26,5
15 a 27 anos	25	24,5
28 a 49 anos	25	24,5
50 anos ou mais	25	24,5
Sexo		
Masculino	40	39,2
Feminino	62	60,8
Escolaridade		
Fundamental incompleto ou menos	62	60,8
Fundamental completo a médio incompleto	14	13,7
Médio completo ou mais	25	24,5
Não informada	1	1,0

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Em relação às características de convívio, a maioria dos participantes eram contato intradomiciliar (84,3%) e convivia com o caso índice há mais de cinco anos antes do diagnóstico (87,3%). As moradias de 80 (78,4%) destes contatos apresentavam densidade de menos que uma pessoa por cômodo, entretanto 19,6% deles compartilhavam o dormitório com mais de duas pessoas e 25,5% informaram compartilhar dormitório com o caso índice (Tabela 5).

Tabela 5 - Características de convívio dos contatos, 2014 (n=102).

Variável	Contatos	
	n	%
Tipo de contato		
Intradomiciliar	86	84,3
Peridomiciliar	13	12,8
Não informado	3	2,9
Tempo de convívio antes do diagnóstico		
Até cinco anos	13	12,7
Mais de cinco anos	89	87,3
Densidade domiciliar		
< 1 pessoa/cômodo	80	78,4
≥ 1 pessoa/cômodo	22	21,6
Densidade em dormitórios		
Até 1 pessoa/dormitório	31	30,4
De 1 a 2 pessoas/dormitório	51	50,0
> 2 pessoas/dormitório	20	19,6
Compartilha quarto com o caso índice		
Não	73	71,6
Sim	26	25,5
Não informado	3	2,9

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

O grau de parentesco predominante com o caso índice foi consanguíneo de primeiro grau (54,9%). Em relação às classificações do caso índice, houve predomínio de contatos em que os casos índices foram classificados como MB na classificação operacional (75,5%) e com forma clínica Dimorfa (41,2%). Destaca-se que 60,8% dos casos índice referentes aos contatos participantes do estudo já apresentavam algum grau de incapacidade física instalado quando foram diagnosticados, e 47,1% apresentaram baciloscopia positiva. Os dados relacionados ao caso índice dos participantes do estudo estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6 - Características relacionadas ao caso índice, 2014 (n=102).

Variável	Contatos	
	n	%
Parentesco com o caso índice		
Consanguíneo de 1º grau	56	54,9
Outros consanguíneos	22	21,6
Cônjuge	19	18,6
Não consanguíneo	5	4,9
Classificação Operacional do caso índice		
Paucibacilar	25	24,5
Multibacilar	77	75,5
Forma clínica de Madri do caso índice		
Indeterminada	15	14,7
Tuberculoide	11	10,8
Dimorfa	42	41,2
Virchowiana	25	24,5
Não informado	9	8,8
Grau de incapacidade física do caso índice no diagnóstico		
Grau 0	38	37,2
Grau 1	51	50,0
Grau 2	11	10,8
Não informado	2	2,0
Baciloscopia do caso índice		
Negativa	29	28,4
Positiva	48	47,1
Não informado/realizada	25	24,5

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Entre as características que se relacionam à resposta imunológica dos contatos, foram avaliados dados referentes à presença de anticorpos em resposta ao *M. leprae* identificado por meio de testes sorológicos e a presença de cicatriz BCG.

Em relação aos testes sorológicos, a prevalência de positividade variou de 14,7% para LID-1 a 34,3% identificado por NDO-HSA. Entretanto, considerando que independentemente do antígeno utilizado, a presença de anticorpos em relação ao bacilo indica resposta imunológica do tipo humoral, nesta tese, será considerado para avaliar a relação com os marcadores moleculares, a presença de anticorpos a qualquer um dos três antígenos avaliados

(NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID). Observando este resultado, 43 (42,1%) dos contatos domiciliares tiveram resultado positivo na análise sorológica. Ao verificar a presença de cicatriz BCG entre os contatos, identificou-se que 45,1% dos contatos avaliados (46/102) apresentavam apenas uma ou nenhuma cicatriz vacinal (Tabela 7).

Tabela 7 - Características relacionadas à resposta imunológica dos participantes do estudo, 2014 (n=102).

Variável	Contatos	
	n	%
Resultado sorologia NDO-HSA		
Negativo	61	59,8
Positivo	35	34,3
Sem informação	6	5,9
Resultado sorologia LID-1		
Negativo	81	79,4
Positivo	15	14,7
Sem informação	6	5,9
Resultado sorologia NDO-LID		
Negativo	73	71,6
Positivo	23	22,5
Sem informação	6	5,9
Resultado sorologia a ao menos um antígeno (NDO-HSA, LID-1, NDO-LID)		
Negativo	53	52,0
Positivo	43	42,1
Sem informação	6	5,9
Cicatriz de BCG		
0	9	8,8
1	37	36,3
2	56	54,9

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

A partir da caracterização dos participantes deste estudo, verificou-se que, alguns fatores de risco para o adoecimento por hanseníase destacam-se entre a população deste estudo, por representarem a grande maioria dos contatos, sendo eles: apresentar baixo nível de escolaridade, ser contato intradomiciliar, conviver há mais de cinco anos com o caso índice,

apresentar parentesco consanguíneo, ser contato de caso MB, classificados com as formas clínicas dimorfa e virchowiana, e que no diagnóstico apresentaram GIF e baciloscopia positiva. Outro resultado que chama a atenção é o fato de que mais de 40% dos contatos apresentavam anticorpos em resposta ao *M. leprae*.

Ser contato de um caso de hanseníase já representa maior risco de adoecimento por hanseníase, associado a estas características destacadas acima, relacionadas à privação, como a questão da escolaridade (Nery *et al.*, 2019), à maior exposição ao bacilo em virtude do convívio intradomiciliar por muitos anos, com caso que apresenta características que expressam alto índice bacilar, assim como a expressão de resposta imune humoral evidenciada pela formação de anticorpos (Niitsuma *et al.*, 2021), indicam que os participantes deste estudo são, em sua maioria, expostos a diversos fatores de risco para o desenvolvimento de hanseníase.

É importante ressaltar que algumas informações obtidas durante a coleta de dados evidenciam possíveis dificuldades operacionais nos registros, como as divergências observadas entre o número de contatos de casos MB, em relação ao número de contatos de casos classificados como dimorfo e virchowiano. Contudo, foram consideradas as informações fornecidas pelos casos índice no momento da coleta de dados.

5.3 Ensaios moleculares para identificação da presença e viabilidade do *M. leprae*

Por qPCR foi possível verificar a prevalência de positividade de marcadores moleculares do *M. leprae* entre os contatos. Foram realizados ensaios utilizando o DNA com a finalidade de identificar a sequência RLEP, e o RNA para os genes 16S rRNA e *hsp18* mRNA, a partir daqui denominados 16S e *hsp18*. O resultado de cada um dos testes está apresentado na tabela 8.

Tabela 8 - Ensaio moleculares por qPCR e RT-qPCR, 2014-2016 (n=102).

Teste	Resultado	2014		2015		2016	
		n	%	n	%	n	%
RLEP	Negativo	7	6,9	12	11,8	12	11,8
	Positivo	95	93,1	90	88,2	90	88,2
16S	Negativo	21	20,6	28	27,5	29	28,4
	Positivo	81	79,4	74	72,5	73	71,6
<i>hsp18</i>	Negativo	62	60,8	68	66,7	68	66,7
	Positivo	40	39,2	34	33,3	34	33,3

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Ao avaliar os dados de RLEP, identificou-se a presença do DNA do *M. leprae* na mucosa nasal de 93,1% dos contatos no primeiro ano do seguimento. Nos dois anos subsequentes houve uma pequena redução, mas ainda assim a positividade se manteve em 90/102 contatos. O RLEP é o marcador molecular utilizado para identificação do *M. leprae* que apresenta maior sensibilidade (Manta *et al.*, 2019; Martinez, A. N. *et al.*, 2011), o que possivelmente está ligado ao fato de haver 37 cópias da sequência no genoma do bacilo (Cole, Supply e Honoré, 2001).

Outros estudos que avaliaram a presença de DNA do *M. leprae* em amostras de *swab* nasal para o alvo RLEP identificaram prevalência que variou de 4,7% a 16,1% (Araújo *et al.*, 2012; Lourenço *et al.*, 2017; Pinho *et al.*, 2015; Romero-Montoya, Beltran-Alzate e Cardona-Castro, 2017), utilizando a técnica de PCR. Em contrapartida, estudos que assim como este utilizou a qPCR como técnica, obtiveram maior porcentagem de resultado positivo, variando de 18% (Tió-Coma *et al.*, 2020) a até 49% (Araujo *et al.*, 2016).

Nos ensaios em que foram avaliados os alvos gênicos no RNA do bacilo, verificando sua viabilidade no genoma das amostras de *swab*, a prevalência de positividade foi menor. O gene 16S foi identificado em 79,4% das amostras no primeiro ano do seguimento havendo redução ao longo do período do estudo. Em relação ao *hsp18*, a positividade encontrada reduziu em mais de 50% em relação ao RLEP, tendo sido identificada em 39,2% das amostras no ano 2014 e em 33,3% nos anos seguintes. Isso é esperado uma vez que o alvo RLEP define a presença de DNA do *M. leprae* na amostra, mas não distingue a viabilidade do bacilo, assim

como, é possível a partir do conteúdo cDNA identificar os alvos 16S (Martinez *et al.*, 2009) e *hsp18* (Lenz *et al.*, 2022).

Do mesmo modo que os resultados deste estudo, outro que avaliou tanto a presença quanto a viabilidade do bacilo em casos de hanseníase identificou menor prevalência para o 16S em comparação ao RLEP (Beissner *et al.*, 2019). Em contatos, estudos que avaliaram o marcador 16S no DNA a partir de técnica qPCR, identificaram prevalência que variou de 9% a 19,3% em amostras de raspado dérmico do lóbulo da orelha (Gama *et al.*, 2018, 2019; Manta *et al.*, 2019), e ao compará-lo com o marcador RLEP a positividade também foi inferior (Pathak *et al.*, 2019).

Os resultados deste estudo indicam uma prevalência ainda maior, tanto para a avaliação da presença do DNA bacilar a partir do RLEP quanto para a avaliação da viabilidade a partir do alvo 16S. Dada a historicidade de alta endemicidade na região em que o estudo foi realizado, apesar de a presença de *M. leprae* na mucosa nasal não ser um indicativo direto de infecção, assim como de adoecimento dos contatos, deve-se considerar o papel destes enquanto portadores assintomáticos na disseminação do *M. leprae* e manutenção da transmissão da endemia (Araujo *et al.*, 2016).

Além da alta endemicidade da região, outro ponto importante a ser destacado é que foram avaliadas amostras de *swab* nasal. O nariz é a principal porta de entrada e saída do bacilo no organismo, sendo assim nem toda exposição resultará em infecção, tampouco em adoecimento (Araujo *et al.*, 2016). Desta maneira espera-se maior prevalência de positividade na mucosa nasal em relação às amostras de lóbulo da orelha, raspado de lesões e amostras de sangue.

A positividade identificada neste estudo, no gene *hsp18* foi bastante inferior aos demais marcadores avaliados. Um estudo realizado com amostras obtidas de pata de camundongo, comparou a permanência da viabilidade molecular identificada por meio do 16S e do *hsp18* em conteúdo cDNA, e identificou que 16S continuou sendo detectado em todas as amostras 12 meses após a infecção. Ao contrário, *hsp18* foi detectado em apenas 50% das amostras 3 meses após a infecção, e no período de 12 meses, apenas uma amostra permaneceu com níveis detectáveis deste gene. A partir destes resultados foi sugerido que o 16S apresenta estabilidade de longo prazo, continuando a ser detectado mesmo após a morte bacilar, de maneira que a identificação deste pode acarretar equívoco ao avaliar a viabilidade do *M. leprae*. Desta maneira, os autores propõem o uso do *hsp18* como marcador ideal para avaliação da viabilidade do *M. leprae* (Collins *et al.*, 2023). Cabe ressaltar que este estudo avaliou a viabilidade molecular do 16S e do *hsp18* somente em patas de camundongo.

Com base nas descobertas da revisão sistemática realizada, optou-se por analisar as características individuais, de convívio e da resposta imune dos contatos em relação à viabilidade molecular do bacilo. Considerando que o 16S é o marcador de viabilidade, até então, mais amplamente avaliado em relação à hanseníase, e tendo em vista a recente descoberta que propõe o *hsp18* como ideal para avaliação da viabilidade, neste estudo tanto o 16S quanto o *hsp18* serão analisados em relação às características dos contatos de casos de hanseníase.

A esta escolha está atrelado o fato de que a mucosa nasal é a principal porta de entrada do *M. leprae* no organismo e que a presença do DNA neste sítio, identificado pelo marcador RLEP, pode indicar apenas colonização.

Diante da definição de avaliar os dois marcadores de viabilidade, foi verificada a diferença de positividade entre um ano e outro do seguimento, em relação aos resultados de ambos os testes (tabelas 9 e 10).

Tabela 9 – Diferença de positividade 16S entre 2014 e 2015, 2014 e 2016, 2015 e 2016

16S			2014		Total (n)	Valor- p*
			Negativo	Positivo		
2015	Negativo	n	9	19	28	0,281
	Positivo	n	12	62	74	
	Total	n	21	81	102	
			2014			
			Negativo	Positivo		
2016	Negativo	n	11	18	29	0,185
	Positivo	n	10	63	73	
	Total	n	21	81	102	
			2015			
			Negativo	Positivo		
2016	Negativo	n	16	13	29	0,999
	Positivo	n	12	61	73	
	Total	n	28	74	102	

*teste de McNemar

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Ao comparar a prevalência de positividade do gene 16S nos contatos entre um ano e outro, foi possível identificar que não houve diferença significativa entre 2014 e 2015 ($p=$

0,281), entre 2014 e 2016 ($p= 0,185$), tampouco entre 2015 e 2016 ($p= 0,999$). Estes dados estão detalhados na tabela 9, acima.

Tabela 10 – Diferença de positividade *hsp18* entre 2014 e 2015, 2014 e 2016, 2015 e 2016

<i>hsp18</i>			2014		Total (n)	Valor- p*
			Negativo	Positivo		
2015	Negativo	n	45	23	68	0,430
	Positivo	n	17	17	34	
	Total	n	62	40	102	
			2014			
			Negativo	Positivo		
2016	Negativo	n	46	22	68	0,418
	Positivo	n	16	18	34	
	Total	n	62	40	102	
			2015			
			Negativo	Positivo		
2016	Negativo	n	53	15	68	0,999
	Positivo	n	15	19	34	
	Total	n	68	34	102	

*teste de *McNemar*

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

A partir dos resultados apresentados na tabela 10, em relação ao *hsp18*, assim como o observado para os resultados do gene 16S, não houve diferença significativa entre 2014 e 2015 ($p= 0,430$), entre 2014 e 2016 ($p= 0,418$), e entre 2015 e 2016 ($p= 0,999$). Estes dados, apresentados nas tabelas 9 e 10, indicam que, apesar de haver alguma diferença entre um ano e outro na avaliação de cada contato, ao longo do seguimento não houve uma mudança significativa na identificação da viabilidade do *M. leprae* nos *swabs* dos contatos. Assim como os resultados deste estudo, anteriormente já foi evidenciada a ampla e contínua exposição dos contatos ao bacilo em locais endêmicos (Lavania *et al.*, 2013).

Diante disso, optou-se por avaliar o resultado da prevalência de positividade a cada um dos marcadores moleculares, considerando como positivos aqueles indivíduos que apresentaram o bacilo viável em sua mucosa nasal em algum momento, ao longo dos três primeiros anos do seguimento realizado neste estudo. Estes resultados estão apresentados na tabela 11.

Tabela 11 - Prevalência de positividade 16S e *hsp18* ao longo do seguimento, 2014 a 2016 (n=102).

Teste	Resultado	n	%
16S	Negativo	8	7,8
	Positivo	94	92,2
<i>hsp18</i>	Negativo	36	35,3
	Positivo	66	64,7

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Com base neste resultado, observa-se que 92,2% dos contatos estiveram com o bacilo viável em sua mucosa nasal em ao menos algum momento ao longo do seguimento considerando o 16S, e 64,7% ao avaliar os dados de *hsp18*. É sugerido que em pessoas que apresentam bacilo em *swab* nasal, ocorre excreção nasal de *M. leprae*, e que estas possuem maior potencial de transmissão (Bakker *et al.*, 2006). Além disso, outro estudo identificou que o *M. leprae* difundido entre contatos, os torna um grupo que contribui para o risco de infecção pois contribuem com a dispersão do bacilo (Araujo *et al.*, 2016). Os dados destes dois estudos, associados ao resultado desta tese, corrobora a possibilidade de alta transmissão do bacilo na região estudada, evidenciando a importância epidemiológica dos contatos na cadeia de transmissão do *M. leprae*.

Com o intuito de verificar a permanência do bacilo viável entre esses contatos, avaliou-se também a prevalência de positividade a cada um dos marcadores moleculares, considerando aqueles contatos que apresentaram resultado positivo em todos os três anos do seguimento (tabela 12).

Tabela 12 - Prevalência de positividade 16S e *hsp18* em todos os anos do seguimento, 2014 a 2016 (n=102).

Teste	Resultado	n	%
16S	Negativo	50	49,0
	Positivo	52	51,0
<i>hsp18</i>	Negativo	90	88,2
	Positivo	12	11,8

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Ao avaliar o resultado apresentado na tabela 12, identifica-se que, em relação ao 16S, 51% dos contatos permaneceram com o bacilo viável na mucosa nasal durante os três anos do seguimento. Os resultados de *hsp18*, por sua vez, apresentam permanência de positividade do bacilo na mucosa nasal de 11,8% dos contatos. Apesar da diferença observada entre um marcador e outro, ambos os resultados indicam constância da viabilidade do bacilo no organismo destes contatos, em maior ou menor proporção. Esta continuidade na exposição ao bacilo viável permite sugerir maior risco para infecção entre estes contatos (Araújo *et al.*, 2012; Araujo *et al.*, 2016).

5.4 Relações entre a viabilidade molecular do *M. leprae* e as características individuais, de convívio e da resposta imune dos contatos

Com o intuito de verificar os fatores que podem se relacionar com a viabilidade molecular do *M. leprae* entre os contatos, foi realizada análise bivariada entre as características individuais, de convívio e relacionadas ao caso índice destes. Os resultados obtidos, considerando os contatos que estiveram com bacilo viável na mucosa nasal em qualquer um dos três anos iniciais do seguimento deste estudo, estão apresentados na tabela 13.

Variáveis	16S		Valor de <i>P</i>	<i>hsp18</i>		Valor de <i>P</i>
	Não n (%)	Sim n (%)		Não n (%)	Sim n (%)	
Parentesco com o caso índice						
Consanguíneo de primeiro grau	3(5,4)	53(94,6)	0,228**	17(30,4)	39(69,6)	0,385**
Outros consanguíneos	4(18,2)	18(81,8)		10(45,5)	12(54,5)	
Cônjuge	1(5,3)	18(94,7)		6(31,6)	13(68,4)	
Não consanguíneo	0(0,0)	5(100,0)		3(60,0)	2(40,0)	
Classificação operacional do caso índice						
Paucibacilar	0(0,0)	25(100,0)	0,194***	6(24,0)	19(76,0)	0,174**
Multibacilar	8(10,4)	69(89,6)		30(39,0)	47(61,0)	
Forma clínica de Madri do caso índice						
Indeterminada	0(0,0)	15(100,0)	0,093**	3(20,0)	12(80,0)	0,270**
Tuberculoide	3(27,3)	8(72,7)		6(54,5)	5(45,5)	
Dimorfa	3(7,1)	39(92,9)		13(31,0)	29(69,0)	
Virchowiana	2(8,0)	23(92,0)		10(40,0)	15(60,0)	

Continua

Variáveis	16S		Valor de <i>P</i>	<i>hsp18</i>		Valor de <i>P</i>
	Não n (%)	Sim n (%)		Não n (%)	Sim n (%)	
Grau de incapacidade física do caso índice no diagnóstico						
Grau 0	4(10,5)	34(89,5)	0,720**	14(36,8)	24(63,2)	0,071**
Grau 1	3(5,9)	48(94,1)		14(27,5)	37(72,5)	
Grau 2	1(9,1)	10(90,9)		7(63,6)	4(36,4)	
Baciloscopia do caso índice						
Negativa	3(10,3)	26(89,7)	0,667***	13(44,8)	16(55,2)	0,163**
Positiva	3(6,3)	45(93,7)		14(29,2)	34(70,8)	

Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

Nota: *Teste *Mann-Whithney*, **Teste qui-quadrado (X^2), ***Teste exato de Fisher

O gene 16S foi identificado na mucosa nasal de mais de 90% dos contatos avaliados, conforme descrito no tópico anterior. O *hsp18* por sua vez, esteve viável em algum momento do seguimento na mucosa de 64,7%. Ao avaliar descritivamente a positividade destes contatos em relação às características individuais e de convívio, observa-se que houve menor mediana da idade entre os contatos positivos ao 16S (mediana = 26,0) se comparados aos negativos. Em relação ao *hsp18*, a mediana da idade entre os positivos foi maior (mediana = 27,5) do que entre os negativos. Entretanto, para os dois marcadores, a mediana observada entre os positivos foi bem próxima.

A idade é considerada um fator de risco para o desenvolvimento de hanseníase entre os contatos, sendo que quanto mais avançada, associa-se ao maior risco (Moet *et al.*, 2006). Além dos maiores de 50 anos, estudos também relatam a idade inferior a 15 anos como fator de risco para desenvolvimento da doença entre contatos (Alecrin *et al.*, 2022). Apesar disso, neste estudo identificou-se maior prevalência de positividade ao bacilo viável entre os adultos. Destaca-se que 89% dos casos novos de hanseníase no nível global no período de 2010 a 2020 foi diagnosticado entre adultos, entretanto há disparidade entre países (Yang *et al.*, 2022).

Em relação ao sexo, a positividade molecular para 16S foi maior entre os participantes do sexo masculino (92,5%), e os resultados de *hsp18*, apresentaram maior positividade entre os contatos do sexo feminino (66,1%). Assim como os dados deste estudo, em que cada marcador molecular apresentou maior positividade relacionada a um sexo distinto, uma revisão sistemática sobre fatores de risco para adoecimento por hanseníase entre contatos identificou heterogeneidade relevante entre os estudos, não sendo possível estabelecer a qual sexo está mais atribuído o risco de desenvolver hanseníase (Niitsuma *et al.*, 2021).

O gene 16S foi identificado de maneira mais prevalente entre aqueles contatos que apresentavam menor nível de escolaridade, em detrimento daqueles indivíduos que possuíam ensino médio completo ou mais. Em relação ao *hsp18*, de maneira distinta, observou-se maior prevalência de positividade entre os indivíduos que cursaram no mínimo o ensino médio completo (76,0%). Apesar disso, ao observar todos os contatos em que o *hsp18* foi identificado, quase 60% deles não haviam completado o ensino fundamental. Sabe-se que a hanseníase está relacionada a condições de vida precárias (Pescarini *et al.*, 2018), e que o nível de escolaridade impacta no desenvolvimento econômico (Goczek, Witkowska e Witkowski, 2021). Estudos apontam que o baixo nível de escolaridade ou ausência dela está relacionado ao risco de desenvolvimento de hanseníase (Leano *et al.*, 2019), e que o efeito é inversamente proporcional, sendo que quanto menor o grau de instrução, maior o risco de desenvolvimento da doença (Nery *et al.*, 2019).

Em relação às características de convívio, para o 16S observou-se maior positividade entre os contatos intradomiciliares (93,0%). Para o *hsp18*, apesar de a maior parte dos contatos avaliados serem intradomiciliares, ao verificar a prevalência de positividade entre os grupos, os contatos peridomiciliares foram os que apresentaram maior positividade para este marcador (76,9%). Sabe-se que ser contato intradomiciliar aumenta o risco de desenvolvimento da hanseníase (Niitsuma *et al.*, 2021). Entretanto, desde 2016, no Brasil é recomendado o acompanhamento dos contatos sociais de casos de hanseníase para além dos contatos domiciliares, reconhecendo a relevância do contato entre o caso índice e pessoas da sua convivência em relação à exposição ao bacilo e ao risco de desenvolvimento da hanseníase (Brasil, 2016), em especial em áreas de alta endemicidade (Boigny *et al.*, 2019).

Estudo anterior, realizado nesta mesma região, identificou que em locais de alta endemicidade a exposição ao bacilo fora do domicílio é constante, de maneira que o convívio dentro do domicílio não tem associação direta com a exposição destas pessoas (Carvalho *et al.*, 2017), sendo necessário considerar outros espaços de convivência como potenciais para contato com o *M. leprae* e infecção pelo bacilo. Os dados obtidos em relação ao *hsp18* corroboram esta ideia.

Outro fator avaliado e que apresentou resultado distinto entre os dois marcadores moleculares foi o tempo de convívio com o caso índice antes do diagnóstico. Todos os contatos que conviviam com o caso índice até cinco anos antes do diagnóstico, apresentaram 16S na mucosa nasal em algum momento do seguimento, e entre aqueles que conviviam há mais tempo a prevalência de positividade foi de 91%. Em relação ao *hsp18*, a maior positividade foi entre aqueles que conviviam com o caso índice há mais de cinco anos antes do diagnóstico (67,4%). O período médio de incubação da hanseníase e a indicação do MS para investigação dos contatos é para os que tenham convivido com caso índice da doença nos últimos cinco anos anteriores ao diagnóstico (Brasil, 2022b). Estudos que assim como este, utilizaram o parâmetro de cinco anos como ponto de diferenciação para o tempo de convívio, identificaram que o convívio com um caso há mais de cinco anos se associa ao desenvolvimento da doença (Leano *et al.*, 2019). Entretanto, estudo que avaliou o risco de contrair o bacilo identificou que conviver a mais de um ano com um caso de hanseníase já é suficiente para aumentar o risco em 12 vezes (Krismawati *et al.*, 2020).

Aqueles contatos que moravam em residência com maior densidade de pessoas, sendo um ou mais de um residente por cômodo, apresentaram maior prevalência de positividade ao bacilo viável na mucosa nasal em relação aos que moravam em casas com menor densidade de pessoas. Observou-se 100% de positividade em relação ao 16S e 86,4% em relação ao *hsp18*

($p=0,022$). Destaca-se que, apesar de a maior parte dos contatos avaliados, viverem em casas com densidade de menos de uma pessoa por cômodo, ainda assim, aqueles que residem em casas com maior densidade de moradores, apresentaram maior positividade ao *M. leprae*. A prevalência de positividade também foi maior entre os contatos que tinham dormitórios com maior densidade de pessoas, compartilhando-os com mais de duas pessoas (16S:95%; *hsp18*: 80,0%).

Condições de habitação como residir em domicílios com maior densidade de pessoas (Niitsuma *et al.*, 2021), e com mais ocupantes por dormitório (Carvalho *et al.*, 2015) já foram associadas à presença de anticorpos em resposta ao *M. leprae*, o que também expressa a exposição dos contatos ao bacilo. Além disso, condições de habitação relacionadas à densidade de ocupação e superlotação de residências possui relação inversamente proporcional à incidência de hanseníase, sendo que, à medida em que há melhoria nas condições de habitação, ocorre redução no desenvolvimento da doença (Saikawa, 1981).

Ao contrário das características relacionadas às condições de moradia mencionadas anteriormente, a variável sobre compartilhar quarto com o caso índice apresentou resultado distinto entre 16S e *hsp18*. A maior positividade observada para 16S foi entre os contatos que não compartilhavam quarto com o caso índice (93,2%), apesar da diferença de menos de 1% para a positividade daqueles que compartilhavam quarto. Entre os resultados de *hsp18*, observou-se maior positividade entre aqueles que compartilhavam quarto com o caso índice (73,1%). Outro estudo que avaliou a identificação do bacilo entre contatos, porém a partir do DNA, verificou que dormir no mesmo quarto que o caso índice não influencia na detecção do bacilo (Krismawati *et al.*, 2020). Apesar de os dados do presente estudo, divergirem em relação aos dois marcadores moleculares sobre o fato de compartilhar quarto com o caso, com base no comportamento dos outros fatores relacionados às condições de moradia, acredita-se que os aspectos relacionados à densidade dos domicílios e superlotação, que impacta muitas vezes em dormir em locais com maior número de pessoas, impactam mais na exposição e infecção, do que o fato de compartilhar o quarto com o caso índice. Neste sentido, enfatiza-se o papel dos próprios contatos na transmissão do bacilo (Araujo *et al.*, 2016) e da densidade domiciliar como fator relacionado à incidência da hanseníase (Saikawa, 1981).

Em relação ao grau de parentesco, observando os resultados de 16S, os contatos com maior prevalência de positividade estavam entre os cônjuges (94,7%) e entre aqueles não consanguíneos (100,0%). Em relação ao *hsp18*, porém, a maior positividade esteve entre parentes consanguíneos de primeiro grau (69,6%). Estudos que avaliaram a identificação do DNA do bacilo entre contatos verificaram que possuir parentesco consanguíneo com o caso

índice não influencia na detecção do bacilo (Krismawati *et al.*, 2020), e que há maior risco de infecção entre cônjuges independentemente do grau de parentesco (Guerrero *et al.*, 2002). Estes achados reforçam os dados deste estudo em relação ao marcador 16S. Entretanto, ao avaliar fatores de risco de adoecimento entre contatos, há evidência de que o parentesco consanguíneo de primeiro grau reflete de maneira significativa, em maior chance de desenvolver hanseníase (Niitsuma *et al.*, 2021). Desta maneira é importante salientar que, apesar de não ter sido a categoria que se destacou por maior prevalência ao 16S, entre os contatos que foram positivos para este gene, mais de 56% são parentes consanguíneos de primeiro grau do caso índice, o que acarreta maior risco de desenvolver hanseníase (Moet *et al.*, 2006). Ressalta-se, ainda, que, em relação ao *hsp18*, entre os parentes consanguíneos observou-se alta prevalência de positividade (69,6%).

Ao avaliar as características do caso índice, observou-se resultados consistentes entre os dois marcadores moleculares. Os contatos de casos PB apresentaram maior positividade em relação aos de casos MB ao comparar a prevalência entre os grupos, sendo que em relação ao 16S 100% deles apresentaram bacilo viável na mucosa e 76% em relação ao *hsp18*. Discute-se na literatura o potencial de transmissão da hanseníase por casos PB, sendo que, muitas vezes, estes não são considerados fonte importante de transmissão do *M. leprae* (Sevilha-Santos, Cerqueira e Gomes, 2021). Entretanto, estudo identificou alta frequência do bacilo viável na mucosa oral de casos de hanseníase, sendo semelhante entre casos PB e MB. E considerando as vias aéreas como a principal fonte de transmissão, sugere o papel dos casos PB na transmissão do bacilo (Abreu *et al.*, 2014). É importante destacar que, entre os contatos positivos avaliados, referente a ambos os marcadores moleculares, mais de 70% são contatos de casos MB. Esse dado, chama a atenção para o alto número de casos MB na região e para a importância de considerar tanto casos PB quanto MB na transmissão do *M. leprae*. Além disso, visto que a região em que o estudo foi conduzido é hiperendêmica para a hanseníase, os contatos avaliados podem estar expostos, em seu ambiente social, a mais de um caso índice, e estes podem apresentar classificação operacional distinta daquele caso com o qual ele convive em seu ambiente domiciliar.

Em relação à forma clínica, a positividade aos dois marcadores moleculares foi maior entre os contatos de casos classificados na forma indeterminada. Esta é a forma clínica inicial da hanseníase, e pode evoluir para a cura espontânea. Entretanto, pode progredir também para as formas polarizadas da doença (Brasil, 2022a). Desta maneira, a depender da evolução da infecção no caso índice, estes contatos de casos na forma indeterminada podem ter sido expostos a distintas cargas bacilares, podendo ser compatíveis com a exposição sofrida por

contatos de casos classificados com outras formas clínicas. Além disso, a alta porcentagem de casos índice dos contatos avaliados que não apresentaram resultado de baciloscopia (24,5%), possibilita reflexão a respeito da correta classificação destes casos índice com a forma clínica indeterminada. Ademais, é necessário chamar a atenção para os contatos de casos dimorfos e virchowianos, que apresentaram positividade entre 15 e 20% superior em relação àqueles contatos de casos tuberculoide, tanto para o 16S quanto para *hsp18*. Além do que, os contatos com caso índice com as formas clínicas dimorfa e virchowiana, em conjunto, representam mais de 70% daqueles que apresentaram positividade aos marcadores moleculares. Estudos que avaliaram a detecção do DNA do *M. leprae*, verificaram maior chance de detecção do bacilo entre contatos de caso índice com as formas mais graves da hanseníase (Araújo *et al.*, 2012; Das *et al.*, 2020).

Em relação ao grau de incapacidade física do caso índice, observou-se maior positividade entre os contatos de casos que já possuíam algum grau de incapacidade no diagnóstico. O desenvolvimento de incapacidade física é associado ao diagnóstico tardio (Chen *et al.*, 2021), o que culmina em atraso no início do tratamento e consequentemente favorece a manutenção da cadeia de transmissão do bacilo causador da hanseníase (Brasil, 2022a).

Também foi observado maior positividade aos marcadores moleculares entre os contatos de casos com baciloscopia positiva, em que 93,7% deles apresentaram bacilo viável na mucosa nasal de acordo com o marcador molecular 16S e 70,8% para o *hsp18*. Estudo que avaliou a presença do DNA do *M. leprae* entre contatos também identificou maior positividade entre aqueles que tinham caso índice com baciloscopia positiva (Das *et al.*, 2020). Sabe-se que IB alto se relaciona diretamente com mais alta concentração de DNA do bacilo (Martinez *et al.*, 2009).

Os dados obtidos a partir das associações realizadas entre os marcadores moleculares e as variáveis individuais dos contatos e de convívio com o caso índice permitem destacar algumas variáveis em que as mesmas categorias apresentaram maior prevalência de positividade em relação a ambos os genes avaliados, sendo duas relacionadas às condições de moradia - densidade domiciliar maior que uma pessoa por cômodo, densidade de dormitório maior que duas pessoas por quarto; e quatro relacionadas ao caso índice - classificação operacional PB, forma clínica indeterminada, GIF 1, baciloscopia positiva. Deve-se ressaltar, no entanto, que apenas a variável relacionada à densidade domiciliar apresentou diferença estatisticamente significativa entre contatos positivos e negativos ao *hsp18* (valor-p = 0,022). Em relação ao resultado do 16S, nenhuma das variáveis apresentou significância estatística nas comparações entre os grupos (valores-p>0,05).

Após avaliar a relação entre as características individuais e de convívio com o caso índice com a colonização da mucosa nasal pelo *M. leprae* viável, foi avaliado se as características associadas à resposta imune interferem na permanência da viabilidade bacilar na mucosa nasal dos contatos. Os dados estão apresentados na tabela 14.

Tabela 14 - Análise bivariada entre a permanência da viabilidade molecular do *M. leprae* e características associadas à resposta imune dos contatos.

Variáveis	16S		Valor de <i>P</i>	<i>hsp18</i>		Valor de <i>P</i>
	Não n (%)	Sim n (%)		Não n (%)	Sim n (%)	
Resultado sorologia a ao menos um antígeno (NDO-HSA, LID-1, NDO-LID)						
Negativo	26(49,1)	27(50,9)	0,666*	46(86,8)	7(13,2)	0,749**
Positivo	23(53,5)	20(46,5)		39(90,7)	4(9,3)	
Cicatriz de BCG						
0	5(55,6)	4(44,4)	0,234*	9(100,0)	0(0,0)	0,455*
1	14(37,8)	23(62,2)		33(89,2)	4(10,8)	
2	31(55,4)	25(44,6)		48(85,7)	8(14,3)	

Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

Nota: *Teste qui-quadrado (χ^2), **Teste exato de Fisher

Avaliando a relação entre a presença de anticorpos identificados por meio dos testes sorológicos e a permanência da viabilidade do *M. leprae* entre os contatos, verificou-se que houve formação de anticorpos em 42,5% daqueles em que o 16S foi identificado em todos os anos, e em 36,4% dos que se identificou *hsp18*. A formação de anticorpos está relacionada à resposta imune humoral do tipo Th2, e pessoas que apresentam este tipo de resposta, tendem a desenvolver a hanseníase em sua forma mais grave (Froes, Trindade e Sotto, 2022).

Entretanto, apesar da proporção descrita acima, de contatos que foram positivos para 16S e *hsp18* e apresentaram anticorpos em resposta ao *M. leprae*, observou-se que a porcentagem daqueles que permaneceram com bacilo viável na mucosa nasal durante o seguimento foi maior entre os que não expressaram anticorpos, tanto ao avaliar o resultado do 16S (50,9%), quando do *hsp18* (13,2%). Estudos verificaram que a sensibilidade dos testes

sorológicos varia entre 40% na identificação de casos PB a 97,4% em MB quando utilizado o *ML Flow* (Bührer-Sékula *et al.*, 2003), e entre 48% e 62% comparando os resultados de anti-PGL-1, anti-LID-1 e anti-NDO-LID, sendo maior entre casos MB (Frade *et al.*, 2017). Para além da sensibilidade reduzida dos testes sorológicos em pessoas que apresentam títulos mais baixos de anticorpos, a não formação de anticorpos, diante da constante colonização pelo bacilo viável, pode estar ligada a uma resposta imune inata mais efetiva. A esta resposta, vincula-se o conceito de imunidade treinada, que se refere à capacidade de células da imunidade inata, entre elas os macrófagos, apresentarem atividade mais eficaz quando reencontram patógenos aos quais já haviam sido expostos anteriormente (Netea *et al.*, 2016). Esta reprogramação funcional, ocorre a longo prazo, a nível epigenético e confere maior capacidade de resposta à estas células (Tercan *et al.*, 2020).

Com relação à vacina BCG, Gomes e colaboradores (2019) mostraram que a vacina BCG oferece efeito protetor para o indivíduo com relação ao adoecimento por hanseníase, e que este efeito se torna mais eficaz entre as pessoas que receberam duas doses da vacina. Verificando os resultados do presente estudo, identificou-se que houve maior permanência de bacilo viável na mucosa nasal identificado pelo gene 16S, naqueles contatos que apresentavam uma cicatriz da vacina em relação àqueles que possuíam a dose de reforço. Em contrapartida o resultado de *hsp18*, mostrou que os contatos com duas doses de BCG foram os que mais permaneceram com o *M. leprae* viável na mucosa nasal. Diversos estudos já relataram o efeito protetor da vacina BCG em relação ao adoecimento por hanseníase em contatos (Leano *et al.*, 2019; Niitsuma *et al.*, 2021), e da proteção adicional da dose de reforço (Gomes *et al.*, 2019), entretanto existe registro contrário na literatura, indicando que não há evidência de proteção ocasionada pela dose de reforço (Cunha *et al.*, 2008). A vacina BCG também tem papel na indução da imunidade treinada (Namakula *et al.*, 2020; Zhang e Cao, 2019), porém uma recente revisão apontou que a dose e a frequência da vacinação parecem não interferir no resultado desta indução (Baydemir *et al.*, 2024).

Ressalta-se que nenhuma das duas variáveis avaliadas, relacionadas à resposta imune, apresentaram associação estatisticamente significativa (valores- $p > 0,05$) em relação à permanência da viabilidade bacilar na mucosa nasal dos contatos. Apesar disso, avaliou-se a correlação existente entre estas variáveis com o intuito de verificar a magnitude da associação entre elas (Tabela 15).

Tabela 15 – Correlação entre os marcadores 16S e *hsp18* e as características da resposta imune.

Variáveis	16S		<i>hsp18</i>	
	<i>Phi</i>	Valor-p	<i>Phi</i>	Valor-p
Cicatriz de BCG	-0,140	0,158	0,086	0,383
Resultado sorologia a ao menos um antígeno (NDO-HSA, LID-1, NDO-LID)	-0,044	0,666	-0,061	0,550

Fonte: Elaborada pela autora, 2024

Os resultados obtidos a partir do coeficiente *Phi*, corroboram o que foi observado ao avaliar a relação entre as variáveis, indicando que não houve maior produção de anticorpos entre os contatos que apresentaram permanência de bacilos viáveis. E em relação à BCG, a correlação negativa observada com o resultado do 16S indica que entre os contatos que possuem duas doses da vacina BCG, menor foi a permanência de bacilos viáveis em suas mucosas. O contrário foi observado em relação ao *hsp18*, que apresentou maior viabilidade entre os contatos que tinham mais doses da vacina. É importante descrever que, a correlação verificada foi insignificante e fraca entre o 16S e a presença de anticorpos e vacina BCG, respectivamente; e insignificante entre *hsp18* e as duas variáveis correlacionadas (Kotrlik, Williams e Jabor, 2011). Destaca-se que todas as correlações observadas não foram estatisticamente significativas.

Os dados obtidos a partir das associações entre a permanência dos marcadores moleculares e as variáveis relacionadas à resposta imune possibilitam destacar a variável resultado da sorologia a ao menos um antígeno, que apesar da ausência de diferença estatisticamente significativa, apresentou a mesma categoria com maior prevalência de positividade em relação aos dois genes avaliados, sendo representada por aqueles que não formaram anticorpos. Sugere-se então o papel da imunidade treinada na defesa dos contatos avaliados, contra o *M. leprae*.

A imunidade treinada pode ser induzida a partir de infecção primária por microrganismo ou por vacinação, e é intensificada diante de uma infecção secundária (Netea, Quintin e Meer, van der, 2011; Tercan *et al.*, 2020), de maneira que sua resposta a um próximo estímulo se dá com aumento de produção de mediadores inflamatórios, assim como da capacidade de eliminação de infecção (Netea *et al.*, 2016, 2020). Dada a alta e constante exposição dos contatos ao bacilo, evidenciada pela prevalência de indivíduos com viabilidade bacilar na mucosa nasal identificada neste estudo, e considerando a alta endemicidade da região estudada,

acredita-se na reprogramação epigenética dos macrófagos nos contatos que permaneceram com o bacilo viável durante todos os anos avaliados, desencadeada a partir do estímulo do ambiente em que eles vivem (Landires e Núñez-Samudio, 2019).

Esse pressuposto se fortalece ao avaliar a correlação entre os marcadores moleculares e a vacinação por BCG. A vacina BCG apresenta papel na indução da imunidade treinada (Namakula *et al.*, 2020; Zhang e Cao, 2019). Os resultados deste estudo divergem em relação ao número de doses da vacina e a prevalência de positividade aos dois marcadores moleculares avaliados. Em relação ao 16S, identifica-se que os contatos que receberam dose de reforço da vacina BCG tiveram menor permanência do bacilo viável. Apesar de os resultados de *hsp18*, por sua vez, demonstrarem o contrário, em descoberta recente verificou-se que o número de doses da vacina parece não interferir na indução da imunidade treinada (Baydemir *et al.*, 2024).

Além disso, considerando o papel do estímulo externo (Netea *et al.*, 2020; Tercan *et al.*, 2020), acredita-se que, em regiões de alta endemicidade como a que este estudo foi realizado, os fatores relacionados à exposição constante possam superar a influência na indução na imunidade treinada em relação à vacinação. A confirmação do pressuposto sobre a atuação da imunidade treinada entre os contatos avaliados foge ao escopo deste estudo, uma vez que não há dados dos contatos participantes deste estudo sobre marcadores de resposta imune inata. A realização de avaliações futuras que verifiquem a viabilidade bacilar entre os contatos e marcadores da resposta imune, tanto celular, quanto humoral, podem auxiliar na compreensão do papel da imunidade na permanência da viabilidade bacilar entre contatos.

As diferenças observadas entre 16S e *hsp18* em relação às categorias das variáveis que apresentaram maior positividade molecular, possivelmente está relacionada à concordância entre os resultados destes dois marcadores que foi considerada pobre (Landis e Koch, 1977), tanto em relação à viabilidade do bacilo em algum momento ao longo do seguimento (*Kappa*: 0,166; $p=0,014$), quanto em relação à permanência da viabilidade entre os contatos (*Kappa*: 0,111; $p=0,076$). Apesar de ambos serem marcadores moleculares que avaliam a viabilidade do *M. leprae*, o fato de o *hsp18* ter apresentado uma prevalência de positividade bastante inferior ao 16S impactou no resultado das características que se destacaram em relação à positividade de cada um. Este dado remete ao estudo que sugere estabilidade de longo prazo do 16S, de maneira que nem sempre a identificação deste marcador indica que o bacilo de fato permaneça viável, e que *hsp18* apresenta alto poder discriminatório entre bacilo viáveis e bacilos mortos (Collins *et al.*, 2023). Apesar deste resultado em relação à concordância, destaca-se que nove contatos apresentaram resultado positivo para ambos os genes, ao verificar a permanência da viabilidade bacilar.

A ausência de variáveis significativas em relação à positividade do 16S e de apenas uma variável com significância estatística em relação ao *hsp18* não permitiram definir medidas de associação que determinem quais características dos contatos domiciliares estão diretamente ligadas à presença e permanência do *M. leprae* viável no organismo destes. Além disso, a homogeneidade nas características individuais e de convívio observada entre os contatos torna pouco provável que haja uma característica que diferencie estatisticamente aqueles com bacilo viável na mucosa, dos demais. É importante ressaltar que a significância estatística não deve ser interpretada sem considerar os aspectos clinicamente relevantes, devendo ambos serem analisadas (Edwards, 2018; Harris *et al.*, 2017).

Entre as pessoas que são expostas ao *M. leprae*, o bacilo será capaz de evoluir com infecção e desenvolvimento da hanseníase em aproximadamente 5% a 10% (Alter *et al.*, 2011). Esta característica do bacilo associada à alta endemicidade da região estudada, permite compreender a alta prevalência de positividade do microrganismo viável encontrada na mucosa nasal dos contatos e a baixa incidência de adoecimento entre estes. A identificação de apenas um caso incidente entre os contatos avaliados nesta coorte não possibilitou realizar análises da relação das características desta pessoa, com a viabilidade bacilar e o adoecimento.

5.5 Incidência de hanseníase em contato durante o acompanhamento de uma coorte: relato de caso

A hanseníase é transmitida pela dispersão do *M. leprae*, a partir das vias aéreas de uma pessoa bacilífera sem tratamento. A exposição ao bacilo por período prolongado favorece a infecção (Brasil, 2022a). Em decorrência disso, ser contato domiciliar de um caso de hanseníase, é fator de risco para desenvolvimento da doença (Niitsuma *et al.*, 2021).

Este é um relato de caso de uma mulher, que desenvolveu hanseníase no segundo ano de acompanhamento de uma coorte. Destaca-se, que este foi o único diagnóstico identificado durante o acompanhamento. Este relato de caso foi elaborado seguindo a estrutura das Diretrizes CARE (Riley *et al.*, 2017).

A mulher, apresentava 50 anos, autodeclarada parda, com nível de escolaridade fundamental incompleto. Não apresentava outras doenças, tampouco fazia uso de medicações, segundo informações. No ano anterior ao diagnóstico, durante a avaliação realizada pela equipe que acompanhou a coorte, não foi identificado nenhum sinal clínico da doença, também não foi relatado queixas. Esta mulher não apresentava nenhuma cicatriz de vacina BCG. Em relação às condições de moradia, sua casa possuía densidade domiciliar de menos de uma pessoa por

cômodo, e com densidade de dormitórios de uma a duas pessoas por dormitório, sendo que ela não compartilhava dormitório com o caso índice.

Com histórico familiar de hanseníase, o caso índice, pelo qual a mulher estava sendo acompanhada na coorte de contatos, é sua mãe. O convívio era intradomiciliar, há mais de cinco anos antes do diagnóstico da mãe, que foi realizado em 2012. Classificada como MB, com forma clínica virchowiana, baciloscopia positiva, e foi diagnosticada sem incapacidades físicas.

No ano de 2015, segundo ano de acompanhamento da coorte de contatos, esta mulher relatou ter sido diagnosticada com hanseníase poucos dias antes da coleta de dados. Os achados clínicos que levaram ao diagnóstico foram duas lesões de pele e dois nervos acometidos. A partir do diagnóstico, classificou-se o caso como MB e forma clínica dimorfa. O grau de incapacidade física foi avaliado e classificado como GIF1. O tratamento prescrito foi poliquimioterapia MB – 12 doses, e iniciou-se no mesmo dia em que o diagnóstico foi realizado. No ano de 2016, terceira onda da coorte, o tratamento ainda estava sendo finalizado, sem alterações no esquema prescrito inicialmente. Não foi registrada a ocorrência de reação.

Os testes laboratoriais realizados a partir das amostras clínicas obtidas durante os três anos de acompanhamento revelaram que, em 2014, ano anterior ao diagnóstico, a mulher já apresentava anticorpos contra o *M. leprae* identificados por meio de dois entre os três testes sorológicos avaliados, sendo estes anti-NDO-HSA e anti-NDO-LID. Ressalta-se que para NDO-HSA o índice ELISA foi de 2,18. Este valor está entre os dez maiores IE identificados entre todos os contatos avaliados.

Em relação aos testes moleculares, que indicam a presença do bacilo na mucosa nasal e se ele se encontra viável, observou-se positividade nos três anos (2014, 2015 e 2016) tanto para RLEP, quanto para 16S. Importante destacar que os valores de Ct foram inferiores a 13 e 29, para RLEP e 16S respectivamente. Para o marcador *hsp18* o resultado foi negativo em todos os três anos.

Este relato limita-se pela ausência de maiores detalhes a respeito dos acometimentos clínicos, bem como da evolução do caso ao longo do tratamento, e informações a respeito da alta e da cura. Ressalta-se que durante a abordagem realizada em 2024, o diagnóstico deste caso relatado, foi confirmado por meio de registro que continha no prontuário. Entretanto, constava que o diagnóstico deste caso incidente foi realizado no hospital da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais, e em virtude disso as informações sobre o diagnóstico e acompanhamento não haviam sido registradas no prontuário do município, sendo que os únicos dados anotados no prontuário da unidade de saúde da APS eram a respeito da classificação operacional e registro de uma dose supervisionada em maio de 2016. Desta maneira, os dados

relatados foram coletados durante as visitas domiciliares do ano 2016 e registrados conforme informado pelo caso.

O caso relatado apresenta características individuais, de convívio e relacionadas ao caso índice já evidenciadas como situações de maior risco para o desenvolvimento da hanseníase. Entre elas, ser contato intradomiciliar (Niitsuma *et al.*, 2021), apresentar baixo nível de escolaridade (Nery *et al.*, 2019), não ser vacinada com BCG (Gomes *et al.*, 2019), conviver há mais de cinco anos com o caso índice (Leano *et al.*, 2019), que apresentou baciloscopia positiva e forma clínica Virchowiana, o que reflete alto índice bacilar (Das *et al.*, 2020). Entre estas características, aquelas relacionadas ao convívio intradomiciliar e o caso índice ter baciloscopia positiva, foram variáveis relacionadas à maior positividade ao 16S, identificadas neste estudo. As outras situações de risco, relatadas na literatura, e apresentadas pelo caso incidente, não foram evidenciadas em relação aos resultados dos marcadores moleculares avaliados neste estudo.

É importante ressaltar que, a mulher diagnosticada com hanseníase, apresentou resultado positivo em relação ao 16S nos três anos de acompanhamento. Destaca-se que no último ano, quando a amostra foi coletada, o tratamento medicamentoso já estava sendo finalizado. A identificação da viabilidade bacilar, em estudo com casos de hanseníase, propõe seu uso tanto para identificar maior risco de adoecimento (Marques *et al.*, 2018), quanto para monitoramento da terapia medicamentosa (Martinez *et al.*, 2009).

Além do marcador molecular de viabilidade, este caso apresentou em 2014, anticorpos em resposta ao bacilo, o que também indica maior risco de adoecimento por hanseníase (Carvalho *et al.*, 2017). Há evidência de que a incidência de hanseníase é superior entre contatos com sorologia positiva, em comparação àqueles que não expressam anticorpos (Andrade, 2012). Estudo propõe que, pessoas com resultado duplo positivo, para sorologia PGL-1 e DNA do bacilo identificado por RLEP, apresentam hanseníase latente (Silva, Da *et al.*, 2021). Os dados deste caso corroboram esta hipótese.

O caso relatado, reforça alguns dos resultados obtidos nesta tese, tanto em relação a características que foram mais evidentes para a prevalência de positividade ao 16S, assim como o fato de ter apresentado viabilidade molecular durante todo o acompanhamento e desenvolvido hanseníase, indicando a aplicabilidade do teste para identificar pessoas com infecção e maior risco de adoecimento. Entretanto, como se trata de um único caso, visto que, no restante do seguimento, considerando a abordagem *follow-up* em 2024 não foi identificado nenhum outro caso de hanseníase, as relações estabelecidas devem ser interpretadas com cautela e não podem servir de base para a formação de uma evidência.

6 LIMITAÇÕES DESTE ESTUDO

Este estudo, apesar de ter seguido rigor científico na condução do seu desenho metodológico, apresenta limitações que devem ser consideradas.

A análise molecular de amostras provenientes de *swab* é uma delas. Assume-se isso, considerando que o trato respiratório superior é a principal porta de entrada e saída do *M. leprae*, e em virtude disso a identificação do bacilo neste tipo de amostra poderia indicar apenas o processo de colonização. Em busca de superar esta limitação e evitar viés de interpretação, as variáveis explicativas foram avaliadas em relação à viabilidade do bacilo neste sítio de coleta, não à sua presença.

Outra limitação se refere ao tempo de seguimento com abordagem presencial, que foi de apenas três anos. Sabe-se que o tempo de incubação do bacilo é longo e em virtude disso, o tempo de acompanhamento pode ter sido insuficiente para identificar o surgimento de sinais e sintomas de hanseníase entre os contatos avaliados, assim como outros casos de adoecimento. Para superar esta limitação foi realizada uma quarta abordagem no ano de 2024, dez anos após o primeiro acompanhamento, em busca de identificar informações sobre o adoecimento por hanseníase entre os contatos.

Esta quarta abordagem, apesar de ter minimizado a limitação acima descrita, não é capaz de superá-la pois a busca de informações em prontuário configura-se uma fonte de dados com possibilidade de viés de registro. Arelado a isso, no período do estudo houve transição do prontuário físico para o prontuário eletrônico, o que aumenta a possibilidade de perda de informações. Buscou-se avaliar os dois registros, eletrônico e físico, sempre que possível. Ressalta-se ainda, que foram realizadas várias tentativas de acesso ao banco de dados do SINAN estadual para consulta sobre o adoecimento dos contatos acompanhados neste estudo, configurando-se mais uma fonte de dados. Entretanto, apesar de apresentadas as justificativas necessárias a respeito do tratamento dos dados respeitando a Lei Geral de Proteção de Dados, o acesso ao banco não foi autorizado em tempo hábil para a finalização desta tese.

Por fim, considera-se como limitação, um viés de amostragem, uma vez que, as pessoas que compõe a população deste estudo fazem parte de um contexto social muito homogêneo, de maneira que aspectos individuais e de convívio não foram capazes de diferenciar entre as pessoas com bacilo viável e aquelas com resultado negativo na avaliação molecular. Entretanto, acredita-se que, a realização desta mesma avaliação com pessoas de contextos individuais e sociais distintos, poderia identificar as características que influenciam na positividade molecular e consequentemente no risco de adoecimento.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação da relação entre a presença e viabilidade do *M. leprae* e o processo de infecção e adoecimento em contatos, proposto na revisão sistemática, permitiu concluir que a presença do bacilo, identificada em amostras biológicas, por si só, não se relaciona diretamente à determinação da hanseníase. Observou-se ainda, que diversos marcadores moleculares já foram testados em relação à identificação do DNA de *M. leprae* em contatos, entretanto, entre os estudos recuperados, não foram avaliados marcadores de viabilidade bacilar em associação com a infecção e o adoecimento, o que foi considerada uma limitação da revisão sistemática. A conclusão da revisão, atrelada a esta limitação, reforçou a necessidade de avaliar a viabilidade do *M. leprae* entre os contatos, e os fatores que se relacionam a ela.

Neste estudo, identificou-se prevalência de *M. leprae* na mucosa nasal de mais de 90% dos contatos. Apesar de, a viabilidade observada ter sido inferior à presença do DNA em cada um dos anos, ao considerar a transitoriedade da exposição ao bacilo, verificando aqueles contatos que apresentaram o bacilo viável, em algum momento ao longo do seguimento de três anos, identificou-se a viabilidade do bacilo na mucosa nasal de 92,2% pelo 16S e de 64,7% pelo *hsp18*. Isto permite concluir que, há alta e constante exposição ao *M. leprae* entre contatos na região avaliada. No entanto, a permanência da viabilidade ao longo de todo o seguimento foi observada em 51% e 11,8% daqueles que foram expostos, identificados pelo 16S e *hsp18*, respectivamente, permitindo sugerir evolução para infecção entre estes contatos, sem, contudo, precisar o adoecimento.

Entre os fatores individuais, de convívio e da resposta imune, houve associação apenas entre a positividade *hsp18* e a variável densidade domiciliar, sendo que as pessoas que moram em casas com maior densidade de pessoas apresentaram maior positividade a este marcador de viabilidade bacilar. Esta mesma categoria também apresentou maior positividade ao 16S, apesar de não ter tido diferença significativa. Este resultado, corrobora parte da hipótese apresentada neste estudo, em que os contatos que convivem em núcleos familiares com maior densidade de pessoas, têm maior possibilidade de possuir bacilo viável em seu organismo.

Respeitadas as limitações operacionais deste estudo, os resultados obtidos não permitiram a definição de um modelo com características que possibilite diferenciar entre contatos com viabilidade bacilar ou não, e menos ainda determinar o adoecimento. Apesar disso, destaca-se além da densidade domiciliar, as variáveis densidade de dormitório maior que duas pessoas por quarto, e aquelas relacionadas ao caso índice: classificação operacional PB, forma clínica indeterminada, GIF 1, baciloscopia positiva; além de resultado da sorologia

negativa a antígenos específicos do *M. leprae*, uma vez que, estas apresentaram as mesmas categorias com maior prevalência de positividade em relação a ambos os marcadores moleculares. A falta de diferença significativa, do ponto de vista estatístico, entre as categorias das variáveis, possivelmente está relacionada à similaridade do contexto individual e social em que os contatos avaliados neste estudo se inserem.

Apesar disso, esses resultados possibilitam sugerir que, em regiões como a que o estudo foi realizado, a exposição ao bacilo viável é favorecida por fatores relacionados à densidade de pessoas que convivem em uma mesma casa e às características clínicas do caso índice. E que, a ausência de anticorpos diante da permanência da viabilidade bacilar, demonstra o importante papel da imunidade inata nesta população, ao passo que, a formação de anticorpos entre estes, pode indicar falha da imunidade inata, sendo útil para confirmar o desenvolvimento da infecção.

Acredita-se que, o alto número de pessoas com viabilidade bacilar, identificado pelos marcadores moleculares avaliados neste estudo, em comparação com o adoecimento em apenas uma pessoa, enfatiza a dificuldade em determinar um teste laboratorial que explique o processo de exposição, infecção e adoecimento por hanseníase entre contatos, evidenciando e fortalecendo a perspectiva da complexidade desta doença.

Entretanto, ressalta-se a importância da realização de outros estudos que verifiquem a associação de fatores individuais, de convívio e da resposta imune, com marcadores de viabilidade molecular, em contatos que convivam em outros contextos individuais, sociais e territórios de endemicidades diversas. Considera-se que, a avaliação da prevalência da viabilidade bacilar em contatos, em contextos diversos, possa contribuir para a definição de um modelo com fatores individuais e de convívio que auxilie na identificação destas pessoas. Além do que, a realização de outros estudos que avaliem os marcadores 16S e *hsp18* em relação à viabilidade do *M. leprae* em contatos, incluindo a definição da sensibilidade e especificidade destes marcadores, pode permitir a definição do alvo molecular mais indicado para identificar contatos com risco de adoecimento.

Os resultados deste estudo, forneceram pistas de fatores que apresentaram o mesmo comportamento em relação a dois marcadores moleculares de viabilidade do *M. leprae*, com destaque para a densidade domiciliar. Estes fatores, se associados com a viabilidade bacilar em outros contextos sociais, podem ser úteis para direcionar a vigilância de contatos. A definição de um modelo que possa elencar contatos a serem avaliados em relação à viabilidade do *M. leprae* antes do surgimento de sinais clínicos que levam a suspeita de adoecimento por hanseníase, pode contribuir com ações para alcançar a eliminação da hanseníase e da sua transmissão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, M. A. M. M. DE; ROSELINO, A. M.; ENOKIHARA, M.; NONOGAKI, S.; PRESTES-CARNEIRO, L. E.; WECKX, L. L. M.; ALCHORNE, M. M. A. *Mycobacterium leprae* is identified in the oral mucosa from paucibacillary and multibacillary leprosy patients. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 1, p. 59–64, 2014.
- ALBUQUERQUE, G. S. C. DE; SILVA, M. J. DE S. E. Sobre a saúde, os determinantes da saúde e a determinação social da saúde. **Saúde em Debate**, v. 38, n. 103, p.953-965, 2014.
- ALECRIN, E. S. DE; OLIVEIRA, A. L. G. DE; GUIMARÃES, N. S.; LYON, S.; MARTINS, M. A. P.; ROCHA, M. O. DA C. Factors associated with the development of leprosy in Brazilian contacts: a systematic review. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 64, p. e55, 2022.
- ALMEIDA, E. C. DE; MARTINEZ, A. N.; MANIERO, V. C.; SALES, A. M.; DUPPRE, N. C.; SARNO, N.; SANTOS, A. R.; MORAES, M. O. Detection of *Mycobacterium leprae* DNA by Polymerase Chain Reaction in the Blood and Nasal Secretion of Brazilian Household Contacts. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 5, p. 509–511, 2004.
- ALTER, A.; GRANT, A.; ABEL, L.; ALCAÏS, A.; SCHURR, E. Leprosy as a genetic disease. **Mammalian Genome**, v. 22, n. 1–2, p. 19–31, 2011.
- AMARAL, E. P.; LANA, F. C. F. Análise espacial da Hanseníase na microrregião de Almenara, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n. spe, p. 701–707, 2008.
- ANDRADE, A. R. C. DE. **Incidência de hanseníase nos contatos submetidos ao teste sorológico ML Flow em municípios de Minas Gerais**. 2012. Tese (Doutorado em Ciência da Saúde) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.
- ARANTES, E. O.; LANA, F. C. F. Representações sociodiscursivas sobre a hanseníase em campanhas educativas: implicações na redução do estigma. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 75, n. suppl. 2, 2022.
- ARAUJO, S.; FREITAS, L. O.; GOULART, L. R.; GOULART, I. M. B. 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**, v. 63, n. 11, p. 1412–1420, 2016.
- ARAÚJO, S.; LOBATO, J.; REIS, E. M.; SOUZA, D. O. B.; GONÇALVES, M. A.; COSTA, A. V.; GOULART, L. R.; GOULART, I. M. B. Unveiling healthy carriers and subclinical infections among household contacts of leprosy patients who play potential roles in the disease chain of transmission. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. Suppl. I, p. 55–59, 2012.
- ARQUER, G. R.; KUMAR, A.; SINGH, R. K.; SATLE, N.; MAMIDI, R.; BISWAS, P. COVID-19 and leprosy new case detection in India. **Leprosy Review**, v. 92, n. 1, p. 88–91, 2021.

- ARUNAGIRI, K.; SANGEETHA, G.; SUGASHINI, P. K.; BALARAMAN, S.; SHOWKATH ALI, M. K. Nasal PCR assay for the detection of *Mycobacterium leprae* pra gene to study subclinical infection in a community. **Microbial Pathogenesis**, v. 104, p. 336–339, 2017.
- AZEVEDO, M. DE C. S.; RAMUNO, N. M.; FACHIN, L. R. V.; TASSA, M.; ROSA, P. S.; BELONE, A. DE F. F.; DIÓRIO, S. M.; SOARES, C. T.; GARLET, G. P.; TROMBONE, A. P. F. qPCR detection of *Mycobacterium leprae* in biopsies and slit skin smear of different leprosy clinical forms. **Brazilian journal of infectious diseases**, v. 21, n. 1, p. 71–78, 2017.
- BAHMANYAR, E. R.; SMITH, W. C.; BRENNAN, P.; CUMMINGS, R.; DUTHIE, M.; RICHARDUS, J. H.; SAUNDERSON, P.; SHWE, T.; ROSEN, S.; GELUK, A. Leprosy Diagnostic Test Development As a Prerequisite Towards Elimination: Requirements from the User's Perspective. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 2, p. e0004331, 2016.
- BAKKER, M. I.; HATTA, M.; KWENANG, A.; MOSSEVELD, P. VAN; FABER, W. R.; KLATSER, P. R.; OSKAM, L. Risk factors for developing leprosy-a population-based cohort study in Indonesia. **Leprosy Review**, v. 77, n. 1, p. 48–61, 2006.
- BANERJEE, S. *et al.* Multiplex PCR technique could be an alternative approach for early detection of leprosy among close contacts - a pilot study from India. **BMC Infectious Diseases**, v. 10, p. 252, 2010.
- BARBIERI, R. R.; MANTA, F. S. N.; MOREIRA, S. J. M.; SALES, A. M.; NERY, J. A. C.; NASCIMENTO, L. P. R.; HACKER, M. A.; PACHECO, A. G.; MACHADO, A. M.; SARNO, E. M.; MORAES, M. O. Quantitative polymerase chain reaction in paucibacillary leprosy diagnosis: A follow-up study. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 3, p. e0007147, 2019.
- BARRETO, J. A. **Avaliação de pacientes com hanseníase na faixa virchowiana diagnosticados entre 1990 e 2000 e tratados com poliquimioterapia 24 doses e seus comunicantes na fase pós-eliminação em municípios de Santa Catarina**. 2011. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- BARRETO, J. A. Diagnóstico laboratorial da Hanseníase: indicações e limitações. *In*: ALVES, E. D.; FERREIRA, T. L.; NERY, I. (Ed.). **Hanseníase: avanços e desafios**. Brasília: NESPROM, 2014. p. 131–140.
- BAYDEMIR, I.; DULFER, E. A.; NETEA, M. G.; DOMÍNGUEZ-ANDRÉS, J. Trained immunity-inducing vaccines: Harnessing innate memory for vaccine design and delivery. **Clinical Immunology**, v. 261, p. e-109930, 2024.
- BEISSNER, M. *et al.* Development of a combined RLEP/16S rRNA (RT) qPCR assay for the detection of viable *M. leprae* from nasal swab samples. **BMC Infectious Diseases**, v. 19, n. 1, p. 753, 2019.
- BOIGNY, R. N. *et al.* Persistência da hanseníase em redes de convívio domiciliar: sobreposição de casos e vulnerabilidade em regiões endêmicas no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 35, n. 2, 2019.

BOUTH, R. C. *et al.* Specialized active leprosy search strategies in an endemic area of the Brazilian Amazon identifies a hypermutated *Mycobacterium leprae* strain causing primary drug resistance. **Frontiers in Medicine (Lausanne)**, v. 10, p. e- 1243571, 2023.

BRAKEL, W. H. VAN; SIHOMBING, B.; DJARIR, H.; BEISE, K.; KUSUMAWARDHANI, L.; YULIHANE, R.; KURNIASARI, I.; KASIM, M.; KESUMANINGSIH, K. I.; WILDER-SMITH, A. Disability in people affected by leprosy: the role of impairment, activity, social participation, stigma and discrimination. **Global Health Action**, v. 5, n. 1, 2012.

BRASIL. **Manual de leprologia**. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, 1960.

BRASIL. **Manual de prevenção de incapacidades**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

BRASIL. **Diretrizes para vigilância, atenção e eliminação da Hanseníase como problema de saúde pública: manual técnico-operacional**. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

BRASIL. **Estratégia Nacional Para Enfrentamento Da Hanseníase - 2019-2022**. Brasília: Ministério da Saúde, 2019.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. **Recomendação nº 030, de 27 de abril de 2020**. Recomenda medidas que visam a garantia dos direitos e da proteção social das pessoas com doenças crônicas e patologias. Brasília: Conselho Nacional de Saúde, 2020. Disponível em: <https://conselho.saude.gov.br/recomendacoes-cns/1143-recomendacao-n-030-de-27-de-abril-de-2020>. Acesso em: 3 set. 2024.

BRASIL. **Guia de Vigilância em Saúde**. 5 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2022a.

BRASIL. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Hanseníase**. Brasília: Ministério da Saúde, 2022b.

BRASIL. **Boletim Epidemiológico - Hanseníase**. Brasília: Ministério da Saúde, 2024a.

BRASIL. **Estratégia Nacional para Enfrentamento à Hanseníase 2024-2030**. Brasília: Ministério da Saúde, 2024b.

BRASIL. Índice de Gini da renda domiciliar per capita - Minas Gerais. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/ibge/censo/cnv/ginimig.def>. Acesso em: 15 set. 2024c.

BREILH, J. **Epidemiologia crítica: ciência emancipadora e interculturalidade**. 1 ed. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2006.

BREILH, J.; GRANDA, E. **Investigação da Saúde na Sociedade: guia pedagógico sobre um novo enfoque do método epidemiológico**. São Paulo: ABRASCO, 1986.

BÜHRER-SÉKULA, S.; SMITS, H. L.; GUSSENHOVEN, G. C.; LEEUWEN, J. VAN; AMADOR, S.; FUJIWARA, T.; KLATSER, P. R.; OSKAM, L. Simple and Fast Lateral Flow Test for Classification of Leprosy Patients and Identification of Contacts with High Risk of Developing Leprosy. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 5, p. 1991-1995, 2003.

CABRAL, P. B. E. *et al.* Anti-PGL1 salivary IgA/IgM, serum IgG/IgM, and nasal *Mycobacterium leprae* DNA in individuals with household contact with leprosy. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 11, p. e1005–e1010, 2013.

CAMBAU, E.; WILLIAMS, D. L. Anti-Leprosy Drugs: Modes of Action and Mechanisms of Resistance in *Mycobacterium leprae*. **International textbook of leprosy**. [s.l.] American Leprosy Missions, 2019.

CAMBRI, G.; MIRA, M. T. Genetic Susceptibility to Leprosy—From Classic Immune-Related Candidate Genes to Hypothesis-Free, Whole Genome Approaches. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 1674, 2018.

CARDONA-CASTRO, N.; BELTRÁN-ALZATE, J. C.; MANRIQUE-HERNÁNDEZ, R. Survey to identify *Mycobacterium leprae*-infected household contacts of patients from prevalent regions of leprosy in Colombia. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 4, 2008.

CARDONA-CASTRO, N.; BELTRÁN-ALZATE, J. C.; ROMERO-MONTOYA, M. Clinical, bacteriological and immunological follow-up of household contacts of leprosy patients from a post-elimination area-Antioquia, Colombia. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 6, p. 935–936, 2009.

CARVALHO, A. P. M. **Soropositividade anti PGL-I em contatos domiciliares de casos de hanseníase na microrregião de Almenara, Minas Gerais**. 2012. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

CARVALHO, A. P. M. **Testes sorológicos específicos para *Mycobacterium leprae*: implicações para a vigilância epidemiológica de casos de hanseníase e contatos domiciliares**. 2017. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

CARVALHO, A. P. M.; COELHO, A. DA C. O.; CORREA-OLIVEIRA, R.; LANA, F. C. F. Specific antigen serologic tests in leprosy: implications for epidemiological surveillance of leprosy cases and household contacts. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 9, p. 609–616, 2017.

CARVALHO, A. P. M.; FABRI, A. DA C. O. C.; CORRÊA OLIVEIRA, R.; LANA, F. C. F. Factors associated with anti-phenolic glycolipid-I seropositivity among the household contacts of leprosy cases. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, p. 219, 2015.

CARVALHO, R. S.; FOSCHIANI, I. M.; COSTA, M. R. S. N.; MARTA, S. N.; CUNHA LOPES VIRMOND, M. DA. Early detection of *M. leprae* by qPCR in untreated patients and their contacts: results for nasal *swab* and palate mucosa scraping. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 37, n. 10, p. 1863–1867, 2018.

CHEN, X.; LIU, H.; SHUI, T.-J.; ZHA, S. Risk factors for physical disability in patients with leprosy disease in Yunnan, China: Evidence from a retrospective observational study. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 11, p. e0009923, 2021.

COLE, S.; SUPPLY, P.; HONORÉ, N. Repetitive sequences in *Mycobacterium leprae* and their impact on genome plasticity. **Leprosy Review**, v. 72, n. 4, p. 449–461, 2001.

COLE, S. T. *et al.* Massive gene decay in the leprosy bacillus. **Nature**, v. 409, n. 6823, p. 1007–1011, 2001.

COLLINS, J. H.; LENZ, S. M.; RAY, N. A.; LAHIRI, R.; ADAMS, L. B. Assessment of *esxA*, *hsp18*, and 16S transcript expression as a measure of *Mycobacterium leprae* viability: A comparison with the mouse footpad assay. **Leprosy Review**, v. 94, n. 1, p. 7–18, 2023.

COLSTON, M. J.; HILSON, G. R. F. Growth of *Mycobacterium leprae* and *M. marinum* in congenitally athymic (nude) mice. **Nature**, v. 262, n. 5567, p. 399–401, 1976.

CORRÊA, C. M.; LANZA, F. M.; CARVALHO, A. P. M.; LANA, F. C. F. Diálogos sobre a descentralização do programa de controle da hanseníase em município endêmico: uma avaliação participativa. **Esc Anna Nery**, v. 26, p. e-20210114, 2022.

COX, R. A.; KEMPSELL, K.; FAIRCLOUGH, L.; COLSTON, M. J. The 16S ribosomal RNA of *Mycobacterium leprae* contains a unique sequence which can be used for identification by the polymerase chain reaction. **Journal of Medical Microbiology**, v. 35, n. 5, p. 284–290, 1991.

CRUVINEL, W. DE M.; MESQUITA JÚNIOR, D.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S. DE; SILVA, N. P. DA; ANDRADE, L. E. C. Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, n. 4, p. 434–447, 2010.

CUNHA, S. S.; ALEXANDER, N.; BARRETO, M. L.; PEREIRA, E. S.; DOURADO, I.; FÁTIMA MAROJA, M. DE; ICHIHARA, Y.; BRITO, S.; PEREIRA, S.; RODRIGUES, L. C. BCG Revaccination Does Not Protect Against Leprosy in the Brazilian Amazon: A Cluster Randomised Trial. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 2, n. 2, p. e167, 2008.

DAS, M.; DIANA, D.; WEDDERBURN, A.; RAJAN, L.; RAO, S.; HORO, I.; VEDITHI, S. C. Molecular epidemiology and transmission dynamics of leprosy among multicase families and case-contact pairs. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 96, p. 172–179, 2020.

DAVIS, G. L.; RAY, N. A.; LAHIRI, R.; GILLIS, T. P.; KRAHENBUHL, J. L.; WILLIAMS, D. L.; ADAMS, L. B. Molecular Assays for Determining *Mycobacterium leprae* Viability in Tissues of Experimentally Infected Mice. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 8, p. e2404, 2013.

DIÓRIO, S. M. Aspectos microbiológicos e moleculares do *Mycobacterium leprae*. In: ALVES, E. D.; FERREIRA, T. L.; NERY, I. (Ed.). **Hanseníase: avanços e desafios**. Brasília: NESPROM, 2014. p. 67–79.

DUTHIE, M. S. *et al.* Use of Protein Antigens for Early Serological Diagnosis of Leprosy. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 14, n. 11, p. 1400–1408, 2007.

DUTHIE, M. S. *et al.* A rapid ELISA for the diagnosis of MB leprosy based on complementary detection of antibodies against a novel protein-glycolipid conjugate. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 79, n. 2, p. 233–239, 2014.

EDWARDS, K. L. Is it statistically significant? **European Spine Journal**, v. 27, n. 5, p. 975–976, 2018.

FABRI, A. DA C. O. C.; CARVALHO, A. P. M.; ARAUJO, S.; GOULART, L. R.; MATTOS, A. M. M. DE; TEIXEIRA, H. C.; GOULART, I. M. B.; DUTHIE, M. S.; CORREA-OLIVEIRA, R.; LANA, F. C. F. Antigen-specific assessment of the immunological status of various groups in a leprosy endemic region. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, p. 218, 2015.

FAVA, V. M.; DALLMANN-SAUER, M.; SCHURR, E. Genetics of leprosy: today and beyond. **Human Genetics**, v. 139, n. 6–7, p. 835–846, 2020.

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

FRADE, M. A. C. *et al.* Unexpectedly high leprosy seroprevalence detected using a random surveillance strategy in midwestern Brazil: A comparison of ELISA and a rapid diagnostic test. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 2, p. e0005375, 2017.

FROES, L. A. R.; TRINDADE, M. A. B.; SOTTO, M. N. Immunology of leprosy. **International Reviews of Immunology**, v. 41, n. 2, p. 72–83, 2022.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Doenças Infecciosas e Parasitárias**. Disponível em: <https://www.bvsdip.icict.fiocruz.br/doencas-infecciosas-e-parasitarias/#:~:text=Quando%20o%20agente%20infeccioso%20penetra,infec%C3%A7%C3%A3o%20subcl%C3%ADnica%2C%20inaparente%20ou%20assintom%C3%A1tica>. Acesso em: 09 jul. 2024.

GAMA, R. S.; GOMIDES, T. A. R.; GAMA, C. F. M.; MOREIRA, S. J. M.; NEVES MANTA, F. S. DE; OLIVEIRA, L. B. P. DE; MARÇAL, P. H. F.; SARNO, E. N.; MORAES, M. O.; GARCIA, R. M. G.; OLIVEIRA FRAGA, L. A. DE. High frequency of *M. leprae* DNA detection in asymptomatic household contacts. **BMC infectious diseases**, v. 18, n. 1, p. 153, 2018.

GAMA, R. S.; SOUZA, M. L. M. DE; SARNO, E. N.; MORAES, M. O. DE; GONÇALVES, A.; STEFANI, M. M. A.; GARCIA, R. M. G.; FRAGA, L. A. DE O. A novel integrated molecular and serological analysis method to predict new cases of leprosy amongst household contacts. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 13, n. 6, p. e0007400, 2019.

GOCZEK, Ł.; WITKOWSKA, E.; WITKOWSKI, B. How Does Education Quality Affect Economic Growth? **Sustainability**, v. 13, n. 11, p. 1–22, 2021.

GOMES, F. B. F. F.; LANA, F. C. F.; OLIVEIRA, R. C. DE; RODRIGUES, R. N. Indicadores da hanseníase no Estado de Minas Gerais e sua relação com o índice de desenvolvimento humano municipal e a cobertura da estratégia da saúde da família. **REME rev. min. enferm.**, v. 21, p. e-1063, 2017.

GOMES, R. R.; ANTUNES, D. E.; SANTOS, D. F. DOS; SABINO, E. F. P.; OLIVEIRA, D. B.; GOULART, I. M. B. BCG vaccine and leprosy household contacts: Protective effect and probability to becoming sick during follow-up. **Vaccine**, v. 37, n. 43, p. 6510–6517, 2019.

GUERRERO, M. I.; ARIAS, M. T.; GARCÉS, M. T.; LEÓN, C. I. Desarrollo y aplicación de una prueba de RCP para detectar la infección subclínica por *Mycobacterium leprae*. **Rev Panam Salud Publica**. v. 11, n. 4, p. 228-234, 2002.

GURUNG, P.; GOMES, C. M.; VERNAL, S.; LEEFLANG, M. M. G. Diagnostic accuracy of tests for leprosy: a systematic review and meta-analysis. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, n. 11, p. 1315–1327, 2019.

HARRIS, J. D.; BRAND, J. C.; COTE, M. P.; FAUCETT, S. C.; DHAWAN, A. Research Pearls: The Significance of Statistics and Perils of Pooling. Part 1: Clinical Versus Statistical Significance. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery**, v. 33, n. 6, p. 1102–1112, 2017.

HASTINGS, R. C.; GILLIS, T. P.; KRAHENBUHL, J. L.; FRANZBLAU, S. G. Leprosy. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 1, n. 3, p. 330–348, jul. 1988.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Malha Municipal**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/geociencias/organizacao-do-territorio/malhas-territoriais/15774-malhas.html>>. Acesso em: 23 out. 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Minas Gerais - Cidades e Estados**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/mg.html>>. Acesso em: 13 jun. 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **IBGE | Cidades | Minas Gerais | Panorama**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mg/panorama>>. Acesso em: 15 set. 2024.

JOB, C. K.; JAYAKUMAR, J.; KEARNEY, M.; GILLIS, T. P. Transmission of Leprosy: A Study of Skin and Nasal Secretions of Household Contacts of Leprosy Patients Using PCR. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 78, n. 3, p. 518-521, 2008.

KANG, T. J.; KIM, S. K.; LEE, S. B.; CHAE, G. T.; KIM, J. P. Comparison of two different PCR amplification products (the 18-kDa protein gene vs. RLEP repetitive sequence) in the diagnosis of *Mycobacterium leprae*. **Clinical and experimental dermatology**, v. 28, n. 4, p. 420–424, 2003.

KERR, B. M. **Análise de tendência da cadeia de transmissão da hanseníase em Minas Gerais - período 2001 a 2020**. 2022. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2022.

KOTRLIK, J. W.; WILLIAMS, H. A.; JABOR, M. K. Reporting and Interpreting Effect Size in Quantitative Agricultural Education Research. **Journal of Agricultural Education**, v. 52, n. 1, p. 132–142, 2011.

KRISMAWATI, H.; OKTAVIAN, A.; MALADAN, Y.; WAHYUNI, T. Risk factor for *Mycobacterium leprae* detection in household contacts with leprosy patients: A study in Papua, East Indonesia. **Medical Journal of Indonesia**, v. 29, n. 1, p. 64–70, 2020.

LANA, F. C. F.; DAVI, R. L. F.; LANZA, F. M.; AMARAL, E. P. Detecção da hanseníase e Índice de Desenvolvimento Humano dos municípios de Minas Gerais, Brasil. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 11, n. 3, p. 539-544, 2009.

LANA, F. C. F.; LANZA, F. M.; CARVALHO, A. P. M.; TAVARES, A. P. N. O estigma em hanseníase e sua relação com as ações de controle. **Revista de Enfermagem da UFSM**, v. 4, n. 3, p. 556–565, 2014.

LANDIRES, I.; NÚÑEZ-SAMUDIO, V. Epigenética, memoria y herencia. **Neurología**, v. 34, n. 2, p. 138–139, 2019.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. **Biometrics**, v. 33, n. 1, p. 159-174, 1977.

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

LEANO, H. A. DE M.; ARAÚJO, K. M. DA F. A.; BUENO, I. DE C.; NIITSUMA, E. N. A.; LANA, F. C. F. Fatores socioeconômicos relacionados à hanseníase: revisão integrativa da literatura. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 72, n. 5, p. 1405–1415, 2019.

LENZ, S. M. *et al.* Utility of a *Mycobacterium leprae* molecular viability assay for clinical leprosy: An analysis of cases from the Philippines, Ethiopia, and Nepal. **Frontiers in Tropical Diseases**, v. 3, p. e- 967351, 2022.

LOURENÇO, D. S. D.; CAMPELO, T. A.; CRUZ, G. A.; ALMEIDA, P. C.; GONÇALVES, H. S.; PONTES, M. A. A.; LIMA, L. N. G. C.; FROTA, C. C. Detection of subclinical *Mycobacterium leprae* infection in children, contacts of leprosy cases, Fortaleza – Ceará, Brazil. **Leprosy Review**, v. 88, p. 184–196, 2017.

MANTA, F. S. N.; LEAL-CALVO, T.; MOREIRA, S. J. M.; MARQUES, B. L. C.; RIBEIRO-ALVES, M.; ROSA, P. S.; NERY, J. A. C.; RAMPAZZO, R. C. P.; COSTA, A. D. T.; KRIEGER, M. A.; MORAES, M. O. Ultra-sensitive detection of *Mycobacterium leprae*: DNA extraction and PCR assays. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 5, p. e-0008325, 2020.

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. e- 16675, 2019.

MARCOS, E. V. C.; LATINI, A. C. P.; SANTANA, F. C. DE S. Genética em Hanseníase. In: ALVES, E. D.; FERREIRA, T. L.; NERY, I. (Ed.). **Hanseníase: avanços e desafios**. Brasília: NESPROM, 2014. p. 81–140.

MARQUES, L. É. C.; FROTA, C. C.; QUETZ, J. DA S.; BINDÁ, A. H.; MOTA, R. M. S.; PONTES, M. A. DE A.; GONÇALVES, H. DE S.; KENDALL, C.; KERR, L. R. F. S. Evaluation of 16S rRNA qPCR for detection of *Mycobacterium leprae* DNA in nasal secretion and skin biopsy samples from multibacillary and paucibacillary leprosy cases. **Pathogens and global health**, v. 112, n. 2, p. 72–78, 2018.

MARTINEZ, A. N.; BRITTO, C. F. P. C.; NERY, J. A. C.; SAMPAIO, E. P.; JARDIM, M. R.; SARNO, E. N.; MORAES, M. O. 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.; LAHIRI, R.; PITTMAN, T. L.; SCOLLARD, D.; TRUMAN, R.; MORAES, M. O.; WILLIAMS, D. L. 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.; RIBEIRO-ALVES, M.; SARNO, E. N.; MORAES, M. O. Evaluation of qPCR-Based Assays for Leprosy Diagnosis Directly in Clinical Specimens. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 10, p. e1354, 2011.

MARTINEZ, A. N.; TALHARI, C.; MORAES, M. O.; TALHARI, S. PCR-Based Techniques for Leprosy Diagnosis: From the Laboratory to the Clinic. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 4, p. e2655, 2014.

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

MARTINS, A. C. D. C.; MIRANDA, A.; OLIVEIRA, M. L. W.-D.-R. DE; BÜHRER-SÉKULA, S.; MARTINEZ, A. Nasal mucosa study of leprosy contacts with positive serology for the phenolic glycolipid 1 antigen. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 76, n. 5, p. 579–587, 2010.

MATOS, T. S.; NASCIMENTO, V. A. DO; CARMO, R. F. DO; MORENO DE OLIVEIRA FERNANDES, T. R.; SOUZA, C. D. F. DE; SILVA, T. F. A. DA. Impact of the COVID-19 pandemic on the diagnosis of new leprosy cases in Northeastern Brazil, 2020. **International Journal of Dermatology**, v. 60, n. 8, p. 1003–1006, 2021.

MEDINA, M. G.; GIMÉNEZ, M. F.; MOLINARI, M. L.; LÓPEZ, M. A.; SORRENTINO, A.; MOTTA, P. Reacción en cadena de polimerasa para detectar *Mycobacterium leprae* en muestras de moco nasal de convivientes de pacientes con lepra. **Piel**, v. 25, n. 9, p. 493–497, 2010.

MI, Z.; LIU, H.; ZHANG, F. Advances in the Immunology and Genetics of Leprosy. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. e-567, 2020.

MINAS GERAIS. **Plano de Enfrentamento da Hanseníase em Minas Gerais, 2019-2022**. Belo Horizonte: UFMG, 2019.

MINAS GERAIS. **GRS Pedra Azul**. Disponível em: <<https://www.saude.mg.gov.br/component/gmg/page/203-grs-pedra-azul-sesmg>>. Acesso em: 15 out. 2024.

MINAS GERAIS. **Hanseníase em Minas Gerais. Boletim Epidemiológico - 2022**. Belo Horizonte: Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais. Coordenação de Hanseníase, 2022.

MINAS GERAIS. **Deliberação CIB-SUS/MG nº 4.394, de 18 de outubro de 2023**. Belo Horizonte. Secretaria de Estado de Saúde, 2023.

MOET, F. J.; PAHAN, D.; SCHURING, R. P.; OSKAM, L.; RICHARDUS, J. H. Physical Distance, Genetic Relationship, Age, and Leprosy Classification Are Independent Risk Factors for Leprosy in Contacts of Patients with Leprosy. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 193, n. 3, p. 346–353, 2006.

NAÇÕES UNIDAS. **Transformando Nosso Mundo: A Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável**. [s.l: s.n.], 2015.

NAMAKULA, R.; CHARLOTTE DE BREE, L. J.; TVEDT, T. H. A.; NETEA, M. G.; COSE, S.; HANEVIK, K. Monocytes from neonates and adults have a similar capacity to adapt their cytokine production after previous exposure to BCG and β -glucan. **PLoS One**, v. 15, n. 2, p. e0229287, 2020.

NATH, I.; SAINI, C.; VALLURI, V. L. Immunology of leprosy and diagnostic challenges. **Clinics in Dermatology**, v. 33, n. 1, p. 90–98, 1 jan. 2015.

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, 1 set. 2019.

NETEA, M. G. *et al.* Defining trained immunity and its role in health and disease. **Nature reviews Immunology**, v. 20, n. 6, p. 375–388, 2020.

NETEA, M. G.; JOOSTEN, L. A. B.; LATZ, E.; MILLS, K. H. G.; NATOLI, G.; STUNNENBERG, H. G.; O'NEILL, L. A. J.; XAVIER, R. J. Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease. **Science**, v. 352, n. 6284, p. e-aaf1098, 2016.

NETEA, M. G.; QUINTIN, J.; MEER, J. W. M. VAN DER. Trained immunity: A memory for innate host defense. **Cell Host and Microbe**, v. 9, n. 5, p. 355–361, 2011.

NIITSUMA, E. N. A.; BUENO, I. D. C.; ARANTES, E. O.; CARVALHO, A. P. M.; XAVIER JUNIOR, G. F.; FERNANDES, G. DA R.; LANA, F. C. F. Fatores associados ao adoecimento por hanseníase em contatos: revisão sistemática e metanálise. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 24, p. e210039, 2021.

OPROMOLLA, P. A.; MARTELLI, A. C. C. A terminologia relativa à hanseníase. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, n. 3, p. 293–294, jun. 2005.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Estratégia Global de Hanseníase 2021–2030 – “Rumo à zero hanseníase”**. Nova Delhi. Organização Mundial da Saúde. Escritório Regional para o Sudeste Asiático, 2021.

PAGE, M. J. *et al.* PRISMA 2020 explanation and elaboration: updated guidance and exemplars for reporting systematic reviews. **BMJ**, v. 372, n. 160, 2021.

PATHAK, V. K.; SINGH, I.; TURANKAR, R. P.; LAVANIA, M.; AHUJA, M.; SINGH, V.; SENGUPTA, U. Utility of multiplex PCR for early diagnosis and household contact surveillance for leprosy. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 95, n. 3, p. e-114855, 2019.

PATRA, J.; BHATIA, M.; SURaweera, W.; MORRIS, S. K.; PATRA, C.; GUPTA, P. C.; JHA, P. Exposure to Second-Hand Smoke and the Risk of Tuberculosis in Children and Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis of 18 Observational Studies. **PLoS Medicine**, v. 12, n. 6, p. e-1001835, 2015.

PESCARINI, J. M.; STRINA, A.; NERY, J. S.; SKALINSKI, L. M.; ANDRADE, K. V. F. DE; PENNA, M. L. F.; BRICKLEY, E. B.; RODRIGUES, L. C.; BARRETO, M. L.; PENNA, G. O. Socioeconomic risk markers of leprosy in high-burden countries: A systematic review and meta-analysis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 7, p. e0006622, 2018.

PHETSUKSIRI, B.; RUDEEANEKSIN, J.; SUPAPKUL, P.; WACHAPONG, S.; MAHOTARN, K.; BRENNAN, P. J. A simplified reverse transcriptase PCR for rapid detection of *Mycobacterium leprae* in skin specimens. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 48, n. 3, p. 319–328, 2006.

PINHEIRO, R. O.; SCHMITZ, V.; SILVA, B. J. DE A.; DIAS, A. A.; SOUZA, B. J. DE; MATTOS BARBOSA, M. G. DE; ALMEIDA ESQUENAZI, D. DE; PESSOLANI, M. C. V.; SARNO, E. N. Innate Immune Responses in Leprosy. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 518, 2018.

PINHO, J. D.; RIVAS, P. M. S.; MENDES, M. B. P.; SOARES, R. E. P.; COSTA, G. C.; NASCIMENTO, F. R. F.; PAIVA, M. F. L.; AQUINO, D. M. C.; FIGUEIREIDO, I. A.; SANTOS, A. M.; PEREIRA, S. R. F. Presence of *Mycobacterium leprae* DNA and PGL-1 antigen in household contacts of leprosy patients from a hyperendemic area in Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 4, p. 14479–14487, 2015.

RAMAPRASAD, P.; FERNANDO, A.; MADHALE, S.; RAO, J. R.; EDWARD, V. K.; SAMSON, P. D.; KLATSERT, P. R.; L DE WITT, M. Y.; S SMITH, W. C.; CREE, I. A. Transmission and protection in leprosy: indications of the role of mucosal immunity. **Leprosy Review**. v. 68, n. 4, p. 301-315, 1997.

REIS, E. M.; ARAUJO, S.; LOBATO, J.; NEVES, A. F.; COSTA, A. V.; GONÇALVES, M. A.; GOULART, L. R.; GOULART, I. M. B. *Mycobacterium leprae* DNA in peripheral blood

may indicate a bacilli migration route and high-risk for leprosy onset. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 5, p. 447–452, 2014.

RICHARDUS, J. H.; IGNOTTI, E.; SMITH, W. C. S. Epidemiology of Leprosy. *In: International textbook of leprosy*. [s.l.] American Leprosy Missions, 2016.

RIDLEY, D. S.; JOPLING, W. H. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. **International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases**, v. 34, n. 3, p. 255–273, 1966.

RILEY, D. S. *et al.* CARE guidelines for case reports: explanation and elaboration document. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 89, p. 218–235, 2017.

RODRIGUES, R. N.; ARCÊNCIO, R. A.; LANA, F. C. F. Epidemiologia da hanseníase e a descentralização das ações de controle no Brasil. **Revista Baiana de Enfermagem**, v. 35, 2021.

RODRIGUES, R. N.; LEANO, H. A. DE M.; BUENO, I. DE C.; ARAÚJO, K. M. DA F. A.; LANA, F. C. F. High-risk areas of leprosy in Brazil between 2001-2015. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 73, n. 3, p. e20180583, 2020.

ROMERO, C. P.; CASTRO, R.; BRASIL, P. E. A. DO; PEREIRA, D. R.; PINHEIRO, R. O.; TOSCANO, C. M.; OLIVEIRA, M. R. F. Accuracy of rapid point-of-care serological tests for leprosy diagnosis: a systematic review and meta-analysis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 117, p. e-220317, 2022.

ROMERO-MONTOYA, M.; BELTRAN-ALZATE, J. C.; CARDONA-CASTRO, N. Evaluation and Monitoring of *Mycobacterium leprae* Transmission in Household Contacts of Patients with Hansen's Disease in Colombia. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 1, p. e0005325, 2017.

ROSA, J. G. **Grande Sertão: Veredas**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1994.

RUIJTER, J. M.; BARNEWALL, R. J.; MARSH, I. B.; SZENTIRMAY, A. N.; QUINN, J. C.; HOUDT, R. VAN; GUNST, Q. D.; HOFF, M. J. B. VAN DEN. Efficiency Correction Is Required for Accurate Quantitative PCR Analysis and Reporting. **Clinical Chemistry**, v. 67, n. 6, p. 829–842, 2021.

RUIZ-VILLALBA, A.; RUIJTER, J. M.; HOFF, M. J. B. VAN DEN; RÖDIGER, S.; SPIESS, A.-N.; BURDUKIEWICZ, M. Use and Misuse of Cq in qPCR Data Analysis and Reporting. **Life (Basel)**, v. 11, n. 6, p. 496, 2021.

SAIKAWA, K. The effect of rapid sosio-economic development on the frequency of leprosy in a population. **Leprosy Review**, v. 52, n. Suppl 1, p. 167–175, 1981.

SANTOS, A. R.; FILHO, J. T. G.; NERY, J. A. C.; DUPPRE, N. C.; GALLO, M. E. N.; SUFFYS, P. N.; DEGRAVE, W. M. Evaluation of PCR mediated DNA amplification in non-invasive biological specimens for subclinical detection of *Mycobacterium leprae*. **FEMS immunology and medical microbiology**, v. 11, n. 2, p. 113–120, 1995.

SARATH, I. M.; JOSEPH, N. M.; JAMIR, I. Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction for Detection of *Mycobacterium leprae* DNA in Tissue Specimens from Patients with Leprosy. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 109, n. 2, p. 345–349, 2023.

SATO, C. M.; RODRIGUES, T. DA S. V.; SILVA, P. R. DE S.; SANTOS, E. S. DOS; XAVIER, D. R.; BAPTISTA, I. M. F. D.; CORTELA, D. DA C. B.; IGNOTTI, E.; FERREIRA, S. M. B. Social school contacts of multibacillary leprosy cases in children living in the hyperendemic region of the Midwest of Brazil. **Jornal de Pediatria**, v. 98, n. 4, p. 431–437, 2022.

SEVILHA-SANTOS, L.; CERQUEIRA, S. R. P. S.; GOMES, C. M. Standardization of SYBR Green-Based Real-Time PCR Through the Evaluation of Different Thresholds for Different Skin Layers: An Accuracy Study and Track of the Transmission Potential of Multibacillary and Paucibacillary Leprosy Patients. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. e-758222, 2021.

SHEPARD, C. C. The experimental disease that follows the injection of human leprosy bacilli into foot-pads of mice. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 112, n. 3, p. 445–454, 1960.

SHEPARD, C. C.; MCRAE, D. H. A Method for Counting Acid-fast Bacteria I. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v. 36, n. 1, p. 78–82, 1968.

SILVA, A. R.; QUEIROZ, M. F. A.; ISHIKAWA, E. A. Y.; SILVESTRE, M. P. S. A.; XAVIER, M. B. Evaluation of agreement between tests for the diagnosis of leprosy. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 53, n. 2, p. 100–107, 2017.

SILVA DA PAZ, W.; SOUZA, M. R.; TAVARES, D. S.; JESUS, A. R.; SANTOS, A. D.; CARMO, R. F.; SOUZA, C. D. F.; BEZERRA-SANTOS, M. Impact of the COVID-19 pandemic on the diagnosis of leprosy in Brazil: An ecological and population-based study. **The Lancet Regional Health - Americas**, v. 9, p. 100181, 2022.

SILVA, M. B. DA *et al.* Latent leprosy infection identified by dual RLEP and anti-PGL-I positivity: Implications for new control strategies. **PLoS One**, v. 16, n. 5, p. e0251631, 2021.

SILVEIRA, I. G. DE O. B. DA; SILVA NETO, J. A. DA; SILVA FERREIRA, J. DA; SILVA, T. S.; HOLANDA, I. S. A. Detection of *Mycobacterium leprae* DNA in clinical and environmental samples using serological analysis and PCR. **Molecular Biology Reports**, v. 48, n. 10, p. 6887–6895, 2021.

SINGH, V.; TURANKAR, R. P.; GOEL, A. Real-time PCR-based quantitation of viable *Mycobacterium leprae* strain from clinical samples and environmental sources and its genotype in multi-case leprosy families of India. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 39, n. 11, p. 2045–2055, 2020.

SMITH, W. C. S.; SMITH, C. M.; CREE, I. A.; JADHAV, R. S.; MACDONALD, M.; EDWARD, V. K.; OSKAM, L.; BEERS, S. VAN; KLATSER, P. An Approach to Understanding the Transmission of *Mycobacterium leprae* Using Molecular and

Immunological Methods: Results from the MILEP2 Study. **International Journal of Leprosy**, v. 72, n. 3, p. 269–277, 2004.

SOUSA, J. R. DE; NETO, F. D. L.; SOTTO, M. N.; QUARESMA, J. A. S. Immunohistochemical characterization of the M4 macrophage population in leprosy skin lesions. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p. 576, 2018.

SPENCER, J. S.; BRENNAN, P. J. The Role of *Mycobacterium leprae* Phenolic Glycolipid I (PGL-I) in Serodiagnosis and in the Pathogenesis of Leprosy. **Leprosy Review**, v. 82, n. 4, p. 344–357, 2011.

STEFANI, M. M. DE A. Desafios na era pós genômica para o desenvolvimento de testes laboratoriais para o diagnóstico da hanseníase. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. suppl 2, p. 89–94, 2008.

TALHARI, C.; TALHARI, S.; PENNA, G. O. Clinical aspects of leprosy. **Clinics in Dermatology**, v. 33, n. 1, p. 26–37, 2015.

TERCAN, H.; RIKSEN, N. P.; JOOSTEN, L. A. B.; NETEA, M. G.; BEKKERING, S. Trained Immunity: Long-Term Adaptation in Innate Immune Responses. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 41, n. 1, p. 55–61, 2020.

TIÓ-COMA, M. *et al.* Genomic Characterization of *Mycobacterium leprae* to Explore Transmission Patterns Identifies New Subtype in Bangladesh. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1220, 2020.

TIWARI, V.; MALHOTRA, K.; KHAN, K.; MAURYA, P. K.; SINGH, A. K.; THACKER, A. K.; HUSAIN, N.; KULSHRESHTHA, D. Evaluation of polymerase chain reaction in nerve biopsy specimens of patients with Hansen's disease. **Journal of the neurological sciences**, v. 380, p. 187–190, 2017.

TURANKAR, R. P.; LAVANIA, M.; CHAITANYA, V. S.; SENGUPTA, U.; DARLONG, J.; DARLONG, F.; SIVA SAI, K. S. R.; JADHAV, R. S. Single nucleotide polymorphism-based molecular typing of *M. leprae* from multicase families of leprosy patients and their surroundings to understand the transmission of leprosy. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 3, p. O142–149, 2014.

TURANKAR, R. P.; LAVANIA, M.; DARLONG, J.; SIVA SAI, K. S. R.; SENGUPTA, U.; JADHAV, R. S. Survival of *Mycobacterium leprae* and association with *Acanthamoeba* from environmental samples in the inhabitant areas of active leprosy cases: A cross sectional study from endemic pockets of Purulia, West Bengal. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 72, p. 199–204, 2019.

URGESA, K.; BOBOSHA, K.; SEYOUM, B.; WELEDEGBREAL, F.; GEDA, B.; MIHRET, A.; ASEFFA, A. High rate of *Mycobacterium leprae* infection and nasal colonization among household contacts of previously undiagnosed leprosy patients. **Leprosy Review**, v. 92, p. 276–286, 2021.

VIDAL, S. L.; MATTOS, A. M. M. DE; MENEGATI, L. M.; MONTEIRO, T. B. M.; LAURINDO, C. R.; CARVALHO, A. P. M.; TEIXEIRA, H. C.; COELHO, A. DA C. O.

Testes sorológicos anti-NDO-HSA, anti-LID-1 e anti- NDO-LID em contatos domiciliares de área não endêmica de hanseníase. **HU Revista**, v. 44, n. 3, p. 325–331, 2019.

VIDAL, S. L.; BATISTA, L. C. F.; LAGES, D. DOS S.; BORTOLOMAI, B. E.; BUENO, I. DE C.; NIITSUMA, E. N. A.; OLIVEIRA, N. G. DE; BAPTISTA, I. M. F. D.; LANA, F. C. F. Molecular Detection of *Mycobacterium leprae* and the Process of Infection and Illness in Contacts of Leprosy Patients: A Systematic Review. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, v. 10, n. 2, p. 32, 23 jan. 2025.

VIEIRA, N. F.; MARTÍNEZ-RIERA, J. R.; LANA, F. C. F. Primary care quality and its effects on leprosy monitoring indicators. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 73, n. 4, p. e20190038, 2020.

WELLS, G. A.; SHEA, B.; O'CONNELL, D.; PETERSON, J.; WELCH, V.; LOSOS, M.; TUGWELL, P. **The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses**. Disponível em: <https://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp>. Acesso em: 15 ago. 2023.

WEN, Y.; XING, Y.; YUAN, L. C.; LIU, J.; ZHANG, Y.; LI, H. Y. Whole-blood nested-PCR amplification of *M. leprae*-specific DNA for early diagnosis of leprosy. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 88, n. 5, p. 918–922, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Interruption of transmission and elimination of leprosy disease – Technical guidance**. New Delhi: Regional Office for South-East Asia, 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Weekly Epidemiological Record*. v. 99, n. 37, p. 497–522, 2024.

YANG, J.; LI, X.; SUN, Y.; ZHANG, L.; JIN, G.; LI, G.; ZHANG, S.; HOU, K.; LI, Y. Global epidemiology of leprosy from 2010 to 2020: A systematic review and meta-analysis of the proportion of sex, type, grade 2 deformity and age. **Pathogens and Global Health**, v. 116, n. 8, p. 467–476, 2022.

YOON, K. H.; CHO, S. N.; LEE, M. K.; ABALOS, R. M.; CELLONA, R. V.; FAJARDO, T. T.; GUIDO, L. S.; CRUZ, E. C. DELA; WALSH, G. P.; KIM, J. D. Evaluation of polymerase chain reaction amplification of *Mycobacterium leprae*-specific repetitive sequence in biopsy specimens from leprosy patients. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, n. 4, p. 895-899, 1993.

ZHANG, Q.; CAO, X. Epigenetic regulation of the innate immune response to infection. **Nature Reviews Immunology**, v. 19, n. 7, p. 417–432, 2019.

APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO ESTRUTURADO PARA ENTREVISTA

Colar etiqueta com o número do domicílio do	Colar etiqueta com o número do caso índice	Colar etiqueta com o número do contato
--	---	---

FORMULÁRIO DE CONTATO DOMICILIAR			
IDENTIFICAÇÃO			
Data da entrevista ____/____/____	Entrevistador:	Município:	
Unidade de saúde/PSF:			
Nome completo:		Apelido:	
Endereço atual (logradouro, número e bairro):			
CEP:	Latitude:	Longitude:	
Setor Censitário:	Fone: ()	Celular: ()	
E-mail:			
Há quanto tempo reside neste endereço?			
Endereço anterior (rua, número e bairro):			
Município:		Estado:	
Quanto tempo morou no endereço anterior?		☐ Não se aplica	
Idade:	Data de nascimento: ____/____/____	Sexo: ☐ M ☐ F	Peso:
Escolaridade:	Naturalidade:	Estado:	
DADOS DO DOMICÍLIO			
Número de pessoas que residem neste endereço:		Número de cômodos do domicílio:	
Número de dormitórios:	Número de pessoas que compartilham o dormitório com o caso índice:		
DADOS EPIDEMIOLÓGICOS			
O (A) Sr.(a) já teve hanseníase? ☐ Não ☐ Sim		Quando (ano): _____	
O (A) Sr.(a) tem/teve outra(s) doença(s)?		☐ Não	
☐ Sim. Especificar:			
☐ DM. Há quanto tempo? _____			
☐ HAS. Há quanto tempo? _____			
☐ Dislipidemia (colesterol e/ou triglicérides alto). Há quanto tempo? _____			
☐ Doenças reumatóides (artrite, osteoartrite, artrose, gota). Há quanto tempo? _____			
☐ Lúpus. Há quanto tempo? _____			
☐ HIV. Há quanto tempo? _____			
☐ Esquistossomose. Há quanto tempo? _____			
☐ Leishmaniose visceral. Há quanto tempo? _____			
☐ Ascaridíase. Há quanto tempo? _____			
☐ Outras helmintoses. Há quanto tempo? _____			
☐ Outras. Especificar: _____ Há quanto tempo? _____			

A Sra. Está grávida? ☐ Não ☐ Sim ☐ Não se aplica Quanto tempo de gestação: _____		
Ou com suspeita de gravidez? ☐ Não ☐ Sim		
Faz uso de algum medicamento regularmente? (Perguntar sobre medicamentos listados) ☐ Não ☐ Sim. Especificar:		
1. _____ Dose diária: _____ Tempo de uso: _____ 2. _____ Dose diária: _____ Tempo de uso: _____ 3. _____ Dose diária: _____ Tempo de uso: _____ 4. _____ Dose diária: _____ Tempo de uso: _____ 5. _____ Dose diária: _____ Tempo de uso: _____ 6. _____ Dose diária: _____ Tempo de uso: _____ 7. _____ Dose diária: _____ Tempo de uso: _____ 8. _____ Dose diária: _____ Tempo de uso: _____		
AValiação DERMATONEUROLÓGICA		
Cicatriz vacinal de BCG: ☐ 0 ☐ 1 ☐ 2		Sinais sugestivos de hanseníase: ☐ Não ☐ Sim. Especificar:
Avaliação dermatológica: Manchas ☐ Não ☐ Sim Quantas: _____ Manchas com alteração de sensibilidade ☐ Não ☐ Sim Quantas: _____ Placas ☐ Não ☐ Sim Quantas: _____ Tubérculos ☐ Não ☐ Sim Quantos: _____ Nódulos ☐ Não ☐ Sim Quantos: _____ Infiltrações ☐ Não ☐ Sim Quantos: _____ Outras ☐ Não ☐ Sim Quantos: _____ Especificar: _____	Avaliação neurológica: Nervos espessados ☐ Não ☐ Sim. Especificar: ☐ Ulnar ☐ Radial ☐ Radial cutâneo ☐ Fibular ☐ Tibial posterior Força muscular reduzida ☐ Não ☐ Sim. Especificar: ☐ Pálpebras ☐ Abdutor do quinto dedo ☐ Abdutor do polegar ☐ Extensor do punho ☐ Extensor do halux ☐ Extensor longo dos dedos ☐ Tibial anterior ☐ Fibulares	Avaliação de sensibilidade: Sensibilidade alterada? ☐ Não ☐ Sim. Especificar: ☐ Olho esquerdo ☐ Olho direito ☐ Mão esquerda ☐ Mão direita ☐ Pé esquerdo ☐ Pé direito
Diagnóstico confirmado: ☐ Não ☐ Sim ☐ Não avaliado ☐ Não se aplica		
INFORMAÇÕES RELACIONADAS AO CASO ÍNDICE		
Grau de parentesco:		
Situação de contato: ☐ Residia com o caso índice na data do diagnóstico e reside atualmente ☐ Residia com o caso índice na data do diagnóstico ☐ Residia com o caso índice diagnóstico antes da data do diagnóstico - até 05 anos		
Há quanto tempo reside com o caso índice? (meses ou anos completos):		
Característica de contato: ☐ Intradomiciliar ☐ Peridomiciliar		
Convivência: ☐ Dorme no mesmo terreno ☐ Dorme no mesmo domicílio ☐ Dorme no mesmo cômodo		

APÊNDICE B - ROTEIRO PARA REALIZAÇÃO DE AVALIAÇÃO DERMATONEUROLÓGICA

Roteiro para realização de exame dermatoneurológico em contatos domiciliares

1 - Avaliar e registrar queixas relacionadas à hanseníase, identificando alterações na pele - manchas, placas, infiltrações, tubérculos, nódulos, e há quanto tempo eles apareceram; possíveis alterações de sensibilidade em alguma área do seu corpo; presença de dores nos nervos, ou fraqueza nas mãos e nos pés e se usou algum medicamento para tais problemas e qual o resultado.

2 - Avaliação Dermatológica

- Observar a superfície corporal, no sentido crânio-caudal, seguimento por seguimento, procurando identificar as áreas acometidas por lesões de pele. As áreas onde as lesões ocorrem com maior frequência são: face, orelhas, nádegas, braços, pernas e costas.

- Realizar avaliação de sensibilidade tátil nas lesões identificadas, utilizando os estesiômetros conforme descrito no item 4.1.

- Registrar em formulário de encaminhamento (anexo no final do roteiro) a descrição das lesões e as alterações de sensibilidade encontradas.

3 – Avaliação Neurológica

3.1 Inspeção

- Inspecionar os olhos, verificando a existência de nódulos, infiltrações, secreção, vermelhidão (hiperemia), ausência de sobrancelhas (madarose), cílios invertidos (triquíase), eversão (ectrópio) e desabamento da pálpebra inferior (lagofalmo), ou opacidade da córnea. Registrar no formulário as alterações identificadas.

- Inspecionar o nariz, verificando as condições da pele, da mucosa e do septo nasal, bem como se há desabamento do nariz ou outros sinais característicos da doença. A mucosa deve ser examinada, verificando se há alteração na cor, na umidade, e se há crostas, atrofia, infiltração ou úlceras. Registrar no formulário as alterações identificadas.

- Inspecionar os membros superiores, verificando a existência de ressecamento, calosidades, fissuras, ferimentos, cicatrizes, atrofia muscular e reabsorções ósseas (perda de uma ou mais falanges dos dedos, ou parte de uma delas). Registrar no formulário as alterações identificadas.

- Inspecionar os membros inferiores, verificando a existência de ressecamento, calosidades, fissuras, ferimentos, úlceras, cicatrizes, reabsorções ósseas, atrofia muscular, ou outros sintomas. Registrar no formulário as alterações identificadas.

3.2 – Palpação de nervos

- Os nervos devem ser palpados, nos dois membros, com as polpas digitais do segundo e terceiro dedos, deslizando-os sobre a superfície óssea, acompanhando o trajeto do nervo, no sentido de cima para baixo.

Deve-se verificar em cada nervo palpado:

- se há queixa de dor espontânea no trajeto do nervo;
- se há queixa de choque ou de dor nos nervos durante a palpação;
- se há espessamento do nervo palpado com o nervo correspondente, no lado oposto;
- se há alteração na consistência do nervo: se há endurecimento, amolecimento;
- se há alteração na forma do nervo: se existem abscessos e nódulos;
- se o nervo apresenta aderências

Registrar no formulário as alterações identificadas.

- Realizar palpação dos nervos nos membros superiores:

* *Nervo radial* - realizar palpação ao nível do canal de torção do úmero, no terço médio do braço com o cotovelo em flexão e a mão do contato domiciliar apoiada na do examinador.



* *Nervo ulnar* – realizar a palpação ao nível do cotovelo na goteira epitrocleeana (entre os dois ossinhos) ou acima dela, com o cotovelo fletido (dobrado) e a mão do contato domiciliar apoiada no braço do avaliador.



4 - Pesquisa da Sensibilidade

A presença da sensibilidade cutânea normal depende da integridade do sistema nervoso central e periféricos (troncos nervosos e finas terminações nervosas na pele). Para realização da pesquisa de sensibilidade são necessários alguns cuidados:

- explicar ao contato domiciliar o exame a ser realizado;
- manter a concentração do examinador e do contato domiciliar;
- ocluir campo de visão do contato domiciliar;
- selecionar aleatoriamente a sequência de pontos a serem testados. Tocando a pele deixando tempo suficiente (contar de um a dois) para os contatos domiciliares responder, repetir o teste para confirmar resultados em cada ponto, se necessário.
- realizar o teste em área próxima, dentro do mesmo território específico, quando na presença de calosidades, cicatrizes ou úlceras;

4.1 - Técnica de avaliação da sensibilidade com estesiômetro.

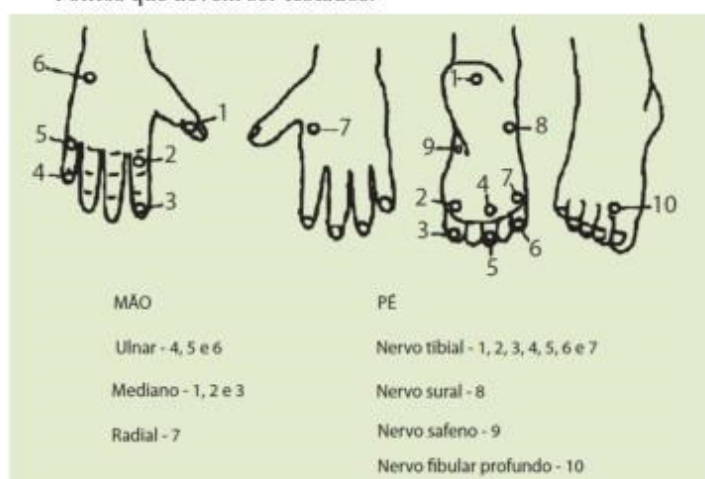
Antes de iniciar o teste, retire os monofilamentos do tubo e encaixe-os cuidadosamente no furo lateral do cabo, dispondo-os em ordem crescente, do mais fino para o mais grosso.

Segurar o cabo do instrumento de modo que o filamento de nylon fique perpendicular à superfície da pele, a uma distância de 2 cm. A pressão deve ser feita por 1 a 2 segundos, até obter a curva do filamento, sem permitir que este deslize sobre a pele.

Realização do teste de sensibilidade com estesiômetro:

- o teste deve ser iniciado com o monofilamento mais fino 0,05g (verde). Na ausência de resposta, utilizar o monofilamento 0,2g (azul) e assim sucessivamente.
- aplicar os monofilamentos de 0,05g (verde) e 0,2 (azul) em cada ponto específico por três vezes, e para os demais filamentos aplicar apenas uma vez.
- repetir o teste em caso de dúvida;
- aplicar o teste nos pontos específicos dos nervos;
- registrar o teste, colorindo os pontos específicos com a cor correspondente ao primeiro monofilamento que o contato domiciliar sente.

Pontos que devem ser testados:



* *Músculo Extensor Longo dos dedos:* com o contato domiciliar sentado com os pés apoiados no chão e o joelho em extensão, o examinador estabiliza o pé e o tornozelo em posição neutra e solicita ao contato domiciliar para fazer flexão máxima dos dedos. O examinador aplica força contrária no dorso das falanges proximais do segundo e quinto dedos.



* *Músculo Fibulares longos e curtos:* com o contato domiciliar sentado com os pés apoiados no chão e os joelhos estendidos com o extensor longo dos dedos relaxados, o examinador estabiliza a articulação do tornozelo em posição neutra e solicita ao contato domiciliar para everter o pé aplicando força contrária na borda lateral do quinto metatarsiano, no sentido de empurrá-lo para dentro.



* *Extensores do punho:* apoiar o antebraço, do contato domiciliar, deixando o punho relaxado, estender o punho, deixando os dedos relaxados, enquanto a força contrária, para baixo, é aplicada no dorso da mão.



- Realizar avaliação da força muscular nos **membros inferiores**, registrar alterações encontradas no formulário segundo escala de graduação de força – anexo e avaliar pernas e pés na suas faces dorsal e plantar.

* *Músculo tibial anterior:* com o contato domiciliar sentado com os pés apoiados no chão e o joelho em ligeira flexão ou extensão, o examinador estabiliza a perna da pessoa, segurando acima da articulação do tornozelo, solicitar ao contato domiciliar para dorsiflexionar o pé com força máxima e aplicar força contrária no dorso do pé.



* *Músculo Extensor do Halux:* colocar o contato domiciliar sentado com os pés apoiados no chão e o joelho em extensão, o examinador estabiliza o pé e o tornozelo em posição neutra e solicita ao contato domiciliar que faça extensão máxima do halux, aplicando força contrária no dorso da falange proximal deste dedo.



3.3 – Avaliação de força muscular

- Realizar avaliação da força muscular nos **membros superiores**, registrar alterações encontradas no formulário segundo escala de graduação de força abaixo:

GRAU DE FORÇA MUSCULAR	OBSERVAÇÃO CLÍNICA	CONDIÇÃO FUNCIONAL
5	Amplitude de movimento completo contra a gravidade e resistência máxima	Normal
4	Amplitude de movimento completa contra a gravidade e resistência manual moderada	Paresia
3	Amplitude de movimento completa contra gravidade	Paresia
2	Amplitude de movimento incompleta	Paresia
1	Evidência de contração muscular, sem movimento articular	Paresia
0	Sem evidência de contração muscular	Paralisia

* *Músculo abdutor do quinto dedo* – Solicitar que o examinado vire a palma da mão para baixo, fazendo força para manter os dedos abertos, aplicar força em sentido contrário, de fora para dentro, na altura da falange proximal.



* *Abdução do polegar*: com o dorso da mão do contato domiciliar apoiada sobre a mão do avaliador, solicitar ao contato domiciliar que levante o polegar mantendo-o elevado na direção do 3º dedo; o avaliador aplica resistência na falange do proximal do polegar, no sentido para frente e para baixo, sendo que a resistência só deve ser aplicada quando o contato domiciliar realiza o movimento solicitado de forma completa.



* *Nervo mediano* – realizar a palpação entre os tendões dos músculos palmar longo e flexor radial do carpo com o punho em ligeira flexão, apoiado pelo examinador. Normalmente este nervo não é palpável. Neste caso pode-se fazer percussão com as polpas dos dedos na face anterior do antebraço, ao longo do trajeto do nervo mediano.



- Realizar palpação dos nervos nos membros inferiores:

* *Nervo fibular* – realizar a palpação com o paciente sentado com os pés apoiados no chão e as pernas estendidas em ângulo ligeiramente superior a 90°; palpar o nervo na face posterior da fíbula na junção entre sua cabeça e o corpo.



* *Nervo tibial* – realizar a palpação com o paciente sentado com os pés apoiados no chão e as pernas estendidas em ângulo ligeiramente superior a 90°; fazer inversão e flexão plantar, passivamente; palpar o nervo atrás e logo abaixo do maléolo medial.



Legenda dos monofilamentos:

LEGENDA		CADA FILAMENTO CORRESPONDE A UM NÍVEL FUNCIONAL REPRESENTADO POR UMA COR
Verde		0,05 g - sensibilidade normal na mão e no pé
Azul		0,2 g - sensibilidade diminuída na mão e normal no pé - dificuldade para discriminar textura (tato leve)
Violeta		2,0 g - sensibilidade protetora diminuída na mão - incapacidade de discriminar textura - dificuldade para discriminar formas e temperatura
Vermelho (fechado)		4,0 g - perda da sensibilidade protetora na mão e às vezes no pé - perda da discriminação de textura - incapacidade de discriminar formas e temperatura
Vermelho (marcar com x)		10 g - perda da sensibilidade protetora no pé - perda da discriminação de textura - incapacidade de discriminar formas e temperatura
Vermelho (circular)		300 g - permanece apenas a sensação de pressão profunda na mão e no pé
Preto		- sem resposta - perda da sensação de pressão profunda na mão e no pé

APÊNDICE C – PROTOCOLO PARA COLETA DE SANGUE

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO COLETA DE SANGUE INTEGRADA

1 OBJETIVO

Padronizar a técnica de coleta de sangue no campo para otimizar o trabalho de campo, diminuir os riscos e preservar a qualidade do material coletado.

2 MATERIAIS NECESSÁRIOS

- 02 tubos tipo I para coleta de sangue (*Vacutainer/Vacurette*, com gel separador para obtenção de soro - tampa amarela, 13x75 mm, volume 4 ml);
- 01 tubo tipo II para coleta de sangue (*Vacutainer/Vacurette*, com EDTA, RNase free - tampa roxa, 13x100 mm, volume 4 ml);
- 01 tubo tipo III para coleta de sangue (*Vacutainer/Vacurette*, com heparina sódica - tampa verde, 16x100 mm, volume 10 ml);
- Adaptador para coleta de sangue a vácuo de uso único;
- Agulha para coleta de sangue a vácuo com dispositivo de segurança, 25x8;
- Escalpe n.º 19 G (para coleta em idosos);
- Escalpe n.º 21 G (para coleta em crianças);
- Papel toalha;
- Algodão seco;
- Algodão embebido em álcool 70%;
- Garrote;
- Embalagem do tipo *Descarpak* para descarte dos materiais perfuro-cortantes;
- Saco de lixo branco, identificado como material biológico;
- Avental de manga comprida e punho fechado;
- Luvas descartáveis;
- Curativo do tipo *blood stop*;
- Etiqueta adesiva para identificação dos tubos;
- Fita adesiva;
- Caixa de isopor para armazenar tubos.

3 PROCEDIMENTO

- 1) Colocar o participante assentado confortavelmente numa cadeira com o braço apoiado em suporte apropriado;
- 2) Separar os materiais necessários (04 tubos para coleta de sangue a vácuo, identificados previamente com a etiqueta própria). Separar também o garrote, o algodão seco, o algodão embebido em álcool, o adaptador, a agulha, o *blood stop* e o Descarpak;
- 3) Escolher o local onde será feita a punção venosa;
- 4) Encaixar a agulha para coleta de sangue a vácuo no adaptador;
- 5) Colocar o garrote no braço paciente;
- 6) Fazer antisepsia com álcool 70%;
- 7) Puncionar a veia do paciente em ângulo de 45° e com bixel para cima;
- 8) Encaixar o primeiro tubo de coleta de sangue (tubo tipo I – tampa amarela) no adaptador, observar o início do fluxo do sangue para o seu interior, aguardar o preenchimento do tubo (4 ml de sangue) e retirar o tubo com cuidado segurando o adaptador para que a agulha não se movimente homogeneizar por 10 segundos, acondicionar em suporte de isopor;
- 9) Encaixar o segundo tubo de coleta de sangue (tubo tipo I – tampa amarela) no adaptador, observar o início do fluxo do sangue para o seu interior, aguardar o preenchimento do tubo (4 ml de sangue) e retirar o tubo com cuidado segurando o adaptador para que a agulha não se movimente homogeneizar por 10 segundos, acondicionar em suporte de isopor;
- 10) Encaixar o terceiro tubo de coleta de sangue (tubo tipo II – tampa roxa) no adaptador, observar o início do fluxo do sangue para o seu interior, aguardar o preenchimento do tubo (4 ml de sangue) e retirar o tubo com cuidado segurando o adaptador para que a agulha não se movimente homogeneizar por 10 segundos, acondicionar em suporte de isopor;
- 11) Encaixar o quarto tubo de coleta de sangue (tubo tipo III – tampa verde) no adaptador, observar o início do fluxo do sangue para o seu interior, **remover o garrote**, aguardar o preenchimento do tubo (10 ml de sangue) e retirar o tubo com cuidado segurando o adaptador para que a agulha não se movimente homogeneizar por 10 segundos e acondicionar em suporte de isopor;
- 12) Retirar a agulha do paciente;
- 13) Comprimir o local da punção venosa com algodão seco;

- 14) Colocar o curativo *blood stop* no local da punção;
- 15) Desconectar a agulha do adaptador utilizando o dispositivo próprio presente no *Descarpack*;
- 16) Descartar a agulha e o tubo capilar para micro-hematócrito no *Descarpack*;
- 17) Descartar o restante do material utilizado em saco de lixo branco, identificado como material biológico;
- 18) Auxiliar o paciente a levantar-se, se necessário.

3.1 Precauções

- Usar SEMPRE os equipamentos de proteção individual durante a coleta.
- Checar se os dados impressos na etiqueta de identificação conferem com o participante e com a identificação do questionário.

APÊNDICE D - PROTOCOLO PARA COLETA DE *SWAB* DE MUCOSA

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO

COLETA DE *SWAB*

1 OBJETIVO

Padronizar a técnica de coleta de swab no campo para otimizar o trabalho de campo, diminuir os riscos e preservar a qualidade do material coletado.

2 MATERIAIS NECESSÁRIOS

- 02 *swabs* estéreis (01 para coleta na mucosa nasal e 01 para coleta na mucosa bucal)
- 02 tubos tipo *ependorf* com 1,5mL (estéril, DNase/RNase-Free) com 500µL de RNAlater® ;
- Tesoura;
- Avental de manga comprida e punho fechado;
- Luvas descartáveis;
- Caneta *Sharpie*® ponta fina
- Caixa para armazenar tubos tipo *ependorf*;
- Saco de lixo branco, identificado como material biológico.

3 PROCEDIMENTO

- 1) Separar os materiais necessários: 02 tubos tipo *ependorf* com RNAlater®, 02 *swabs* estéreis e tesoura.
- 2) Identificar os 02 tubos tipo *ependorf* (código do participante e data de congelamento).
OBS: colocar a identificação dos participantes no topo do tubo e as demais informações na lateral do tubo.
- 3) Colocar o participante assentado confortavelmente.
- 4) Iniciar a coleta do *swab* bucal, esfregar delicadamente o *swab* na mucosa oral (revestimento das bochechas e no palato). Inserir o swab no tubo tipo *ependorf* com RNAlater® e cortar a haste, do maior tamanho possível de forma que permita o completo fechamento do tubo.
- 5) Iniciar a coleta do *swab* nasal, esfregar delicadamente o *swab* na mucosa nasal (introduzir o *swab* na porção antero-superior de uma das narinas com movimento giratório delicado e deslizá-lo lateralmente pela asa nasal interna, repetir o procedimento

na outra narina com o mesmo *swab*). Inserir o *swab* no tubo tipo *ependorf* com RNAlater® e cortar a haste, do maior tamanho possível de forma que permita o completo fechamento do tubo.

6) Armazenar os tubos com os *swabs* na caixa para armazenamento de tubos tipo *ependorf*.

7) Descartar o restante dos materiais utilizados no saco de lixo.

8) Deixar os *swabs* na caixa para armazenamento de tubos tipo *ependorf*, em temperatura ambiente, por 03 dias. Posteriormente acondicionar em freezer a -20°C até processamento.

3.1 Precauções

- Usar SEMPRE os equipamentos de proteção individual durante o procedimento de coleta.
- Checar se os dados de identificação do participante escritos no tubo conferem com o participante e com a identificação do questionário.
- Armazenar o tubo com o material coletado na caixa para armazenamento de tubos tipo Eppendorf.
- Fazer a desinfecção da tesoura, utilizando álcool 70°C, após o fim da coleta de cada participante.

APÊNDICE E – FORMULÁRIO DE ENCAMINHAMENTO DE CONTATOS COM SUSPEITA DE HANSENÍASE

FORMULÁRIO DE ENCAMINHAMENTO DE CASO SUSPEITO DE HANSENÍASE

Dados do usuário

Nome: _____

Endereço completo: _____

Dados Clínicos

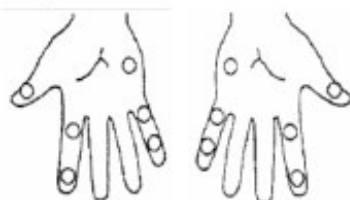
Queixa: _____

Avaliação dermatoneurológica (alterações):

Palpação de nervos (alterações):

Avaliação de força muscular (alterações):

Avaliação de sensibilidade



DIREITA

ESQUERDA



DIREITO

ESQUERDO

Data: ____/____/____

Nome de quem realizou a avaliação: _____

APÊNDICE F – FORMULÁRIO PARA COLETA DE DADOS – CONTATOS COM DIAGNÓSTICO CONFIRMADO

Formulário para coleta de dados – Contatos com diagnóstico confirmado

Município	
Nome	
Número do contato	
Endereço	
Prontuário	
Diagnóstico confirmado	
Data do diagnóstico	
Número da notificação	
Município de notificação	
Município de residência	
Modo de detecção de caso novo	
Data do início do tratamento	
Esquema terapêutico	
Classificação operacional	
Forma clínica de Madri	
Classificação de Ridley & Joppling	
Baciloscopia	
Grau de incapacidade física no diagnóstico	
Grau de incapacidade física na alta	
Número de nervos afetados	
Número de lesões cutâneas	
Episódio reacional durante o tratamento	
Data da alta	
Tipo de alta	

APÊNDICE G – REGISTRO DE CAMPO – COLETA DE DADOS ANO 2024

Registro de campo – Coleta de dados 2024

A coleta de dados conduzida no ano de 2024, ocorreu no período de 07 a 13 de abril, nos seis municípios envolvidos no estudo. Foram realizadas visitas aos serviços de saúde, incluindo unidades de atenção primária à saúde, bem como secretarias municipais de saúde.

Em todos os municípios houve apoio de um profissional, entre eles coordenadores da atenção primária, coordenadores da vigilância epidemiológica e referência técnica em hanseníase. Estes profissionais foram responsáveis por estabelecer o vínculo entre os dois pesquisadores que realizaram a coleta de dados, e os profissionais das unidades de saúde onde os prontuários dos contatos acompanhados estavam vinculados.

A coleta de dados foi realizada mediante acesso aos prontuários dos contatos participantes do estudo, tanto físico, quanto eletrônico, com verificação do registro de diagnóstico por hanseníase. Quando identificado o diagnóstico, as informações registradas em prontuário foram extraídas para um formulário específico.

Entre os 102 prontuários buscados, foram identificados 98, sendo 2 apenas físicos, 30 apenas eletrônicos, e 66 físicos e eletrônicos. Destes, identificou-se registro de diagnóstico referente a um único contato. As informações sobre a identificação dos prontuários, detalhada por município, estão descritas a seguir.

Almenara:

- Busca por 46 prontuários
- Identificados 44, sendo 1 apenas físico, 11 apenas eletrônicos e 32 físicos e eletrônicos.
- 2 não foram localizados.

Felisburgo

- Busca por 18 prontuários
- Identificados 18, sendo todos físicos e eletrônicos.

Jacinto

- Busca por 4 prontuários
- Identificados 4, sendo 1 apenas físico, e 3 físicos e eletrônicos.

Jordânia

- Busca por 10 prontuários
- Identificados 10, sendo 3 apenas eletrônicos e 7 físicos e eletrônicos.

Palmópolis

- Busca por 12 prontuários
- Identificados 10, sendo 4 apenas eletrônicos e 6 físicos e eletrônicos.
- 2 não foram localizados

Rubim

- Busca por 12 prontuários
- Identificados 12, sendo apenas eletrônicos.

Pontos importantes identificados durante a coleta de dados

Alguns pontos positivos como a receptividade das equipes e auxílio para identificar os prontuários merecem ser destacados. Além disso, foi possível observar que nos municípios que apresentavam um serviço mais organizado e mais bem estruturado, o acesso aos prontuários foi mais efetivo, tanto no sentido de localizar com facilidade, quanto em relação à qualidade das informações registradas.

Alguns pontos frágeis da coleta, se referem à transição do prontuário físico para o prontuário eletrônico, o que em alguns casos pode ter comprometido o acesso a todas as informações. Além disso, outros fatores como mudança de endereço e até desastre natural em uma das unidades de saúde, comprometeram o acesso a alguns prontuários físicos.

APÊNDICE H - PROTOCOLO EXTRAÇÃO DE RNA EM *SWAB*



Protocolo – Extração de RNA em swab

Adaptado por prof. Dra. Ida Maria Foschiani Dias Baptista

1. Descongelar as amostras por completo.
2. Agitar cada microtubo em vórtex por 2 minutos.
3. Abrir os microtubos com cuidado e esgotar o swab na parede do tubo. Descartar o swab.
4. Centrifugar as amostras por 20 minutos a 13.200rpm à 4°C.
5. Retirar o RNA later sem tocar no *pellet* formado.
6. Adicionar, em cada microtubo, 800µl de TRIzol, para promoção da lise da membrana celular e a dissolução dos demais componentes da célula, ao passo que mantém a integridade do RNA. Deixar descansando por 15 segundos.
7. Agitar individualmente em vórtex para homogeneizar o *pellet* na solução e depois utilizar o spin para coletar o material da tampa.
8. Transferir todo o volume para um tubo contendo a sílica, que também auxiliará na lise da membrana celular.
9. Colocar os tubos no equipamento *FastPrep*, na velocidade 6m/s por 40 segundos. Repetir o processo.
10. Remover os tubos do equipamento e centrifugar por 20 minutos, à 13.200rpm, à 4°C.
11. Transferir o sobrenadante para um microtubo novo, evitando tocar no *pellet* e na sílica.
Guardar o tubo com sílica (no freezer -20°C) para posterior extração de DNA.
12. Adicionar 800µl de isopropanol no sobrenadante, misturar por inversão cuidadosamente e incubar *overnight* no freezer -20 para precipitação do RNA
13. Centrifugar por 20 minutos, à 13.200rpm, à 4°C.
14. Desprezar o sobrenadante invertendo o tubo cuidadosamente.
15. Adicionar 500µl de etanol 70% gelado. Homogeneizar a amostra cuidadosamente.
16. Centrifugar por 10 minutos à 13.200rpm, à 4°C.
17. Desprezar o sobrenadante invertendo o tubo cuidadosamente, ou usar pipeta caso o *pellet* esteja solto.
18. Deixar os microtubos abertos com o *pellet* em gelo de 10 a 30 minutos para evaporação do etanol.
19. Ressuspende o RNA com 100µl de água DEPC. Armazenar no freezer à -80°C.

APÊNDICE I – PROTOCOLO TRATAMENTO DE RNA



Tratamento de RNA com DNase Turbo

Adaptado por prof. Dra. Ida Maria Foschiani Dias Baptista

A partir da quantificação das amostras, calcular para uma concentração de 2000ng/μl com volume final de 40μl.

Em cada microtubo de RNA

1. Adicionar 5μl de tampão (buffer).
2. Adicionar 1μl de DNase I.
3. Encubar os tubos a 37°C por 60 minutos.
4. Adicionar 6μl do inativador da DNase, homogeneizar o tubo e deixar à temperatura ambiente por 2 minutos.
5. Centrifugar por 1 minuto à 10.000 rpm a 4°C.
6. Cuidadosamente e sem tocar no *pellet* formado, transferir o sobrenadante para um novo tubo ou placa *RNase free*.

Caso a transcrição não seja realizada no mesmo dia, armazenar o RNA no freezer -80°C.

APÊNDICE J – PROTOCOLO TRANSCRIÇÃO DE RNA



ILSL
Instituto Lauro de Souza Lima

Protocolo – Transcrição de RNA em cDNA

Adaptado por prof. Dra. Ida Maria Foschiani Dias Baptista

1. Após tratamento das amostras, preparar a mix para anelamento primário do RNA alvo.

Mix de anelamento primário			
Reagentes	Concentração p/ 1 reação	Volume para uma reação	____ reações
Random primer	50mM	1µl	
dNTP	10mM	1µl	
Água DEPC	-	7µl	
RNA alvo	2mM	11µl	
Vol. Final	-	20µl	-

OBS: O Random primer se liga ao RNA alvo para iniciar a síntese de DNA complementar. As dNTPs, são bases nitrogenadas que auxiliam na formação da fita complementar de DNA. Esta solução é uma mix de reagentes, que tem por intuito promover o anelamento primário da fita de RNA alvo.

2. Homogeneizar com a pipeta e deixar 5 minutos à temperatura ambiente.
3. Aquecer as amostras por 5 minutos à 65°C e em seguida colocar no gelo por 1 minuto.
4. Centrifugar brevemente e adicionar a 2ª mix.

*Misturar por inversão. Se usar Random primer, incubar a 25°C por 5 minutos.

Mix RT			
Reagentes	Concentração p/ 1 reação	Volume para uma reação	____ reações
Buffer	5X	4µl	
DTT	-	1µl	
Água DEPC	-	1µl	
Superscript III	-	1µl	
Vol. Final	-	7µl	-

Mix NRT			
Reagentes	Concentração p/ 1 reação	Volume para uma reação	____ reações
Buffer	5X	4µl	
DTT	-	1µl	
Água DEPC	-	2µl	
Vol. Final	-	7µl	-

OBS: A Mix RT promove a síntese do DNA complementar a partir da molécula de RNA de cada amostra.



5. Incubar a 50°C por 30-60 minutos.

6. Inativar a reação incubando a 70°C por 15 minutos.

O cDNA pode ser utilizado como alvo pra amplificação em qPCR.

APÊNDICE K – PROTOCOLO EXTRAÇÃO DE DNA



Protocolo de extração de DNA

Adaptado por Ida Maria Foschiani Dias Baptista

Ao tubo contendo os cristais de sílica e os componentes celulares

1. Adicionar 500µl de clorofórmio e agitar, individualmente, cada microtubo em vórtex para homogeneização. Após isso, deixar os tubos descansando por 5 minutos em temperatura ambiente.
2. Centrifugar por 15 minutos a 13.200rpm, à temperatura ambiente.
3. Transferir o sobrenadante para um tubo novo, com cuidado para não tocar na interfase formada.
4. Adicionar 600µl de isopropanol no sobrenadante, misturar por inversão cuidadosamente e incubar *overnight* no freezer -20 para precipitação do DNA
5. Centrifugar por 20 minutos, à 13.200rpm, à temperatura ambiente.
6. Desprezar o sobrenadante invertendo o tubo cuidadosamente.
7. Adicionar 500µl de etanol 70% gelado. Homogeneizar a amostra.
8. Centrifugar por 10 minutos à 13.200rpm, à temperatura ambiente.
9. Desprezar o sobrenadante invertendo o tubo cuidadosamente.
10. Deixar o *pellet* secando por 3 a 5 horas em temperatura ambiente. É importante que o tubo esteja completamente seco antes da ressuspensão.
11. Ressuspender o DNA com 300µl de TE 1x. Armazenar no freezer -20°C.

APÊNDICE L – PROTOCOLO PARA qPCR DE DNA RLEP



Protocolo para qPCR de DNA RLEP.

Adaptado por Ida Maria Foschiani Dias Baptista

1. Programa

Parâmetros de ciclagem – 40 ciclos	
Steps	Temperatura - Tempo
Ativação/iniciação	50°C – 2 minutos
Denaturação	95°C – 10 minutos
Anelamento	95°C – 15 segundos 40 ciclos
Extensão	60°C – 1 minuto

2. Preparo da mix para PCR

Reagentes	Concentração p/ 1 reação	Volume para uma reação	____ reações
Luna	2x	10µl	
Primer RLEP F	10mM	2.5µl	
Primer RLEP R	10mM	2.5µl	
Sonda	10mM	2.5µl	
DNA	-	6µl a 10µl*	-
Vol. Final	-	23,5µl a 27.5µl**	-

*A depender da concentração obtida na leitura de cada amostra

**A depender do volume de DNA

3. Máscara

[illegible]

APÊNDICE M – PROTOCOLO PARA qPCR DE rRNA 16S



ILSL
Instituto Lauro de Souza Lima

Protocolo para qPCR de rRNA 16S.

Adaptado por Ida Maria Foschiani Dias Baptista

1. Programa

Parâmetros de ciclagem – 40 ciclos	
Steps	Temperatura - Tempo
Ativação/iniciação	50°C – 2 minutos
Denaturação	95°C – 10 minutos
Anelamento	95°C – 15 segundos 40 ciclos
Extensão	60°C – 1 minuto

2. Preparo da mix para PCR

Reagentes	Concentração p/ 1 reação	Volume para uma reação	____ reações
Luna	2x	10µl	
Primer 16S F	10mM	1µl	
Primer 16S R	10mM	1µl	
Sonda	10mM	1µl	
H ₂ O	-	6µl	
cDNA	puro	4µl	
Vol. Final	-	25µl	

3. Máscara

[illegible]

APÊNDICE N – PROTOCOLO PARA qPCR DE mRNA *hsp18*



ILSL

Instituto Lauro de Souza Lima

Protocolo para qPCR de mRNA *hsp18*

Data:

Responsável:

1. Programa

Parâmetros de ciclagem – 40 ciclos	
Steps	Temperatura - Tempo
Ativação/iniciação	50°C – 2 minutos
Denaturação	95°C – 10 minutos
Anelamento	95°C – 15 segundos 40 ciclos
Extensão	60°C – 1 minuto

2. Preparo da mix para PCR

Reagentes	Concentração p/ 1 reação	Volume para uma reação	____ reações
Luna	2x	12µl	
Primer 18k F	10mM	1µl	
Primer 18k R	10mM	1µl	
Sonda 18k	10mM	1µl	
BSA	-	1µl	
cDNA	200ng/puro	6µl	
Vol. Final	-	22µl	

3. Máscara

[illegible]

APÊNDICE O – ESTRATÉGIA DE BUSCA DA REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA NAS BASES DE DADOS

Medline - via PubMed
((("Leprosy"[MeSH Terms] OR "Hansen's Disease"[Title/Abstract] OR "Hansen Disease"[Title/Abstract] OR "leprosy*"[Title/Abstract] OR "hansen*"[Title/Abstract] OR "Mycobacterium leprae"[MeSH Terms] OR "Mycobacterium leprae"[Title/Abstract])) AND ("molecular epidemiology"[MeSH Terms] OR "molecular epidemiology"[Title/Abstract] OR "molecular diagnostic techniques"[MeSH Terms] OR "molecular diagnostic techniques"[Title/Abstract] OR "asymptomatic infections"[MeSH Terms] OR "asymptomatic infections"[Title/Abstract] OR "asymptomatic infections"[MeSH Terms] OR "subclinical infection"[Title/Abstract] OR "nasal mucosa"[MeSH Terms] OR "nasal mucosa"[Title/Abstract] OR "mouth mucosa"[MeSH Terms] OR "mouth mucosa"[Title/Abstract] OR "rna ribosomal 16s"[Title/Abstract] OR "Qpcr"[Title/Abstract] OR "RLEP"[Title/Abstract] OR "ARNr 16s"[Title/Abstract] OR "16s RNA"[Title/Abstract] OR "16Srna"[Title/Abstract] OR "PCR"[Title/Abstract] OR "Polymerase Chain Reaction"[Title/Abstract] OR "Rrna"[Title/Abstract] OR "dna bacterial"[Title/Abstract] OR "Real-Time Polymerase Chain Reaction"[Title/Abstract] OR "DNA determination"[Title/Abstract] OR "DNA extraction"[Title/Abstract] OR "DNA sequence"[Title/Abstract])) AND ("disease transmission, infectious"[MeSH Terms] OR "disease transmission infectious"[Title/Abstract] OR "Contact Tracing"[MeSH Terms] OR "Contact Tracing"[Title/Abstract] OR "family characteristics"[MeSH Terms] OR "family characteristics"[Title/Abstract] OR "Infectious Disease Transmission"[Title/Abstract] OR "Household Contact"[Title/Abstract] OR "Household Contacts"[Title/Abstract] OR "Patient Contact"[Title/Abstract] OR "Patient Contacts"[Title/Abstract] OR "Peridomiciliary Contacts"[Title/Abstract]))
Cochrane Library
(Leprosy OR "Hansen's Disease" OR "Hansen Disease" OR Leprosy* OR Hansen* OR "Mycobacterium leprae" OR "Mycobacterium leprae"):ti,ab,kw AND ("Molecular Epidemiology" OR "Molecular Diagnostic Techniques" OR "Asymptomatic Infections" OR "Subclinical Infection" OR "Nasal Mucosa" OR "Mouth Mucosa" OR

"RNA, Ribosomal, 16S" OR "Qpcr" OR "RLEP" OR "ARNr 16s" OR "16s RNA" OR "16Srna" OR "PCR" OR "Polymerase Chain Reaction" OR "Rrna" OR "DNA, bacterial" OR "Real-Time Polymerase Chain Reaction" OR "DNA determination" OR "DNA extraction" OR "DNA sequence"):ti,ab,kw AND ("Contact Tracing" OR "Family Characteristics" OR "Infectious Disease Transmission" OR "Household Contact" OR "Household Contacts" OR "Patient Contact" OR "Patient Contacts" OR "Peridomiciliary Contacts"):ti,ab,kw

EMBASE – via Portal de Periódicos da CAPES

('leprosy'/exp OR '*Mycobacterium leprae*'/exp OR leprosy* OR 'hansen s disease' OR 'hansen disease'/exp OR 'hansen disease' OR hansen* OR '*Mycobacterium leprae*'/exp OR '*Mycobacterium leprae*' OR leprosy*:ab,ti OR 'hansen s disease':ab,ti OR 'hansen disease':ab,ti OR hansen*:ab,ti OR '*Mycobacterium leprae*':ab,ti) AND ('molecular epidemiology'/exp OR 'molecular diagnosis'/exp OR 'asymptomatic infection'/exp OR 'nasal mucosa'/exp OR 'mouth mucosa'/exp OR 'molecular epidemiology'/exp OR 'molecular epidemiology' OR 'molecular diagnostic techniques'/exp OR 'molecular diagnostic techniques' OR 'asymptomatic infections'/exp OR 'asymptomatic infections' OR 'subclinical infection'/exp OR 'subclinical infection' OR 'nasal mucosa'/exp OR 'nasal mucosa' OR 'mouth mucosa'/exp OR 'mouth mucosa' OR 'rna, ribosomal, 16s'/exp OR 'rna, ribosomal, 16s' OR 'qpcr'/exp OR 'qpcr' OR 'rlep' OR 'arnr 16s' OR '16s rna'/exp OR '16s rna' OR '16srna' OR 'pcr'/exp OR 'pcr' OR 'polymerase chain reaction'/exp OR 'polymerase chain reaction' OR 'rrna'/exp OR 'rrna' OR 'dna, bacterial'/exp OR 'dna, bacterial' OR 'real-time polymerase chain reaction'/exp OR 'real-time polymerase chain reaction' OR 'dna determination'/exp OR 'dna determination' OR 'dna extraction'/exp OR 'dna extraction' OR 'dna sequence'/exp OR 'dna sequence') AND ('contact tracing'/exp OR 'contact tracing' OR 'family characteristics'/exp OR 'family characteristics' OR 'infectious disease transmission'/exp OR 'infectious disease transmission' OR 'household contact'/exp OR 'household contact' OR 'household contacts' OR 'patient contact' OR 'patient contacts' OR 'peridomiciliary contacts' OR 'contact tracing':ab,ti OR 'family characteristics':ab,ti OR 'infectious disease transmission':ab,ti OR 'household contact':ab,ti OR 'household contacts':ab,ti OR 'patient contact':ab,ti OR 'patient contacts':ab,ti OR 'peridomiciliary contacts':ab,ti OR 'disease transmission'/exp OR 'contact examination'/exp OR 'family structure'/exp) AND [embase]/lim NOT ([embase]/lim AND [medline]/lim)

SCOPUS – via Portal de Periódicos da CAPES

(Leprosy* OR "Hansen's Disease" OR "Hansen Disease" OR Hansen* OR "*Mycobacterium leprae*") AND ("Molecular Epidemiology" OR "Molecular Diagnostic Techniques" OR "Asymptomatic Infections" OR "Subclinical Infection" OR "Nasal Mucosa" OR "Mouth Mucosa" OR "RNA, Ribosomal, 16S" OR "Qpcr" OR "RLEP" OR "ARNr 16s" OR "16s RNA" OR "16Srna" OR "PCR" OR "Polymerase Chain Reaction" OR "Rrna" OR "DNA, bacterial" OR "Real-Time Polymerase Chain Reaction" OR "DNA determination" OR "DNA extraction" OR "DNA sequence") AND ("Contact Tracing" OR "Family Characteristics" OR "Infectious Disease Transmission" OR "Household Contact" OR "Household Contacts" OR "Patient Contact" OR "Patient Contacts" OR "Peridomiciliary Contacts")

WEB of SCIENCE – via Portal de Periódicos da CAPES

(Leprosy* OR "Hansen's Disease" OR "Hansen Disease" OR Hansen* OR "*Mycobacterium leprae*") AND ("Molecular Epidemiology" OR "Molecular Diagnostic Techniques" OR "Asymptomatic Infections" OR "Subclinical Infection" OR "Nasal Mucosa" OR "Mouth Mucosa" OR "RNA, Ribosomal, 16S" OR "Qpcr" OR "RLEP" OR "ARNr 16s" OR "16s RNA" OR "16Srna" OR "PCR" OR "Polymerase Chain Reaction" OR "Rrna" OR "DNA, bacterial" OR "Real-Time Polymerase Chain Reaction" OR "DNA determination" OR "DNA extraction" OR "DNA sequence") AND ("Contact Tracing" OR "Family Characteristics" OR "Infectious Disease Transmission" OR "Household Contact" OR "Household Contacts" OR "Patient Contact" OR "Patient Contacts" OR "Peridomiciliary Contacts")

LILACS - via portal regional da BVS

((mh:Leprosy OR "Hansen's Disease" OR "Hansen Disease" OR Leprosy* OR Hansen* OR mh:"*Mycobacterium leprae*" OR "*Mycobacterium leprae*" OR Hanseníase OR lepra OR "Doença de Hansen" OR "Bacilo de Hansen") AND (mh:"Molecular Epidemiology" OR "Molecular Epidemiology" OR mh:"Molecular Diagnostic Techniques" OR "Molecular Diagnostic Techniques" OR mh:"Asymptomatic Infections" OR "Asymptomatic Infections" OR mh:"Subclinical Infection" OR "Subclinical Infection" OR mh:"Nasal Mucosa" OR "Nasal Mucosa" OR "Mucosa Nasal" OR mh:"Mouth Mucosa" OR "Mouth Mucosa" OR "Mucosa Bucal" OR "Mucosa Oral" OR "Mucosa da Boca" OR "RNA, Ribosomal, 16S" OR "Qpcr" OR "RLEP" OR "ARNr 16s" OR "16s RNA" OR "16Srna" OR "PCR" OR "Polymerase

Chain Reaction" OR "Rrna" OR "DNA, bacterial" OR "Real-Time Polymerase Chain Reaction" OR "DNA determination" OR "DNA extraction" OR "DNA sequence" OR "Epidemiologia Molecular" OR "Técnicas de Diagnóstico Molecular" OR "Infecções Assintomáticas" OR "Colonização Assintomática" OR "Infecções Inaparentes" OR "Infecções Pré-Sintomáticas" OR "Infecções Subclínicas" OR "RNA Ribossômico 16S" OR "16S rRNA" OR "DNA Bacteriano")) AND (mh:"Disease Transmission, Infectious" OR "Disease Transmission, Infectious" OR mh:"Contact Tracing" OR "Contact Tracing" OR mh:"Family Characteristics" OR "Family Characteristics" OR "Infectious Disease Transmission" OR "Household Contact" OR "Household Contacts" OR "Patient Contact" OR "Patient Contacts" OR "Peridomiciliary Contacts" OR "Transmissão de Doença Infecciosa" OR "investigação de Contato" OR "Notificação do Parceiro" OR "Triagem de Contato" OR "Contato Domiciliar" OR "Contatos Domiciliares" OR "Contato do Paciente" OR "Contatos do Paciente" OR "Contatos Peridomiciliares") AND (db:("LILACS"))

APÊNDICE P – TERMOS DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (07 a 12 anos)

Você está sendo convidado a participar da pesquisa “Análise do processo de exposição, infecção e adoecimento de contatos domiciliares de casos de hanseníase por meio de marcadores de infecção e de suscetibilidade genética ao *Mycobacterium leprae*” por morar em uma região que tem muitos casos de hanseníase.

A hanseníase é uma doença, causada por uma bactéria, que causa lesões na pele e nos nervos. Quando ela não é tratada, essas lesões podem deixar sequelas. Essa doença é transmitida pelo contato de uma pessoa doente e sem tratamento com outra pessoa, por meio da respiração. Para que a transmissão ocorra, geralmente é preciso que haja um convívio frequente e prolongado dessa pessoa com o doente.

Caso aceite participar do estudo, será solicitado que você responda a um questionário aplicado por pesquisadores treinados da Escola de Enfermagem da UFMG, com perguntas relacionadas a você e à doença.

Em seguida, será realizado um exame da sua pele e dos nervos para identificar possíveis sinais ou sintomas sugestivos de hanseníase.

Por fim, serão coletados 22 mililitros de sangue em 04 tubos a vácuo, por uma punção venosa no braço e material das mucosas da boca e do nariz com a utilização de dois *swabs*, utilizando material estéril e descartável para evitar ou diminuir a ocorrência de infecção. Os riscos destes procedimentos são mínimos e podem estar associados à coleta do material (pequeno hematoma, dor ou desconforto rápido). Com os resultados deste estudo, espera-se obter formas mais eficazes de diagnóstico, tratamento e prevenção da doença.

Os materiais e os dados coletados serão de uso exclusivo da equipe de pesquisadores apenas para os objetivos da pesquisa. Uma das preocupações está na garantia de que o nome dos participantes não seja revelado e, para tanto, todo o material coletado será identificado por etiquetas contendo apenas siglas e números, estabelecendo proteção ao sigilo das informações.

A participação é voluntária e a qualquer momento você poderá desistir de participar e retirar a autorização. A recusa não trará nenhum prejuízo à sua relação com o pesquisador ou com a instituição.

Este estudo não trará nenhum custo para você e todos os procedimentos serão realizados gratuitamente. Não haverá pagamento pela participação nesta pesquisa.

Você receberá uma cópia deste Termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal e do Comitê de Ética da UFMG, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação a qualquer momento.

Você assinará este Termo declarando que entendeu os objetivos, riscos e benefícios de sua participação na pesquisa, concordando em participar.

Seu responsável também assinará este termo, declarando que também entendeu os objetivos, riscos e benefícios de sua participação na pesquisa, autorizando sua participação.

Nome do Participante: _____

Assinatura do participante: _____

Nome do responsável: _____

Assinatura do responsável: _____



Prof. Dr. Francisco Carlos Félix Lana
Coordenador da Pesquisa
Av. Alfredo Balena, 190 - Bairro Santa Efigênia
Escola de Enfermagem - Belo Horizonte - MG
CEP: 30130-100 Tel: (31) 3409-9862

Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG
(COEP/UFMG)
Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 - Unidade
Administrativa II - Sala 2005 - Belo Horizonte - MG
CEP: 31270-901 Tel: (31) 3409-4592

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(13 a 17 anos)

Você está sendo convidado a participar da pesquisa “Análise do processo de exposição, infecção e adoecimento de contatos domiciliares de casos de hanseníase por meio de marcadores de infecção e de suscetibilidade genética ao *Mycobacterium leprae*” por morar em uma região que tem muitos casos de hanseníase.

A hanseníase é uma doença, causada por uma bactéria, que causa lesões na pele e nos nervos. Quando ela não é tratada, essas lesões podem deixar sequelas. Essa doença é transmitida através do contato de uma pessoa doente e sem tratamento com outra pessoa, por meio da respiração. Para que a transmissão ocorra, geralmente é preciso que haja um convívio frequente e prolongado dessa pessoa com o doente.

Caso aceite participar do estudo, será solicitado que você responda a um questionário aplicado por pesquisadores treinados da Escola de Enfermagem da UFMG, com perguntas relacionadas a você e à doença.

Em seguida, será realizado um exame da sua pele e dos nervos para identificar possíveis sinais ou sintomas sugestivos de hanseníase.

Por fim, serão coletados 22 mililitros de sangue em 04 tubos a vácuo, por uma punção venosa no braço e material das mucosas da boca e do nariz com a utilização de dois *swabs*, utilizando material estéril e descartável para evitar ou diminuir a ocorrência de infecção. Os riscos destes procedimentos são mínimos e podem estar associados à coleta do material (pequeno hematoma, dor ou desconforto rápido). Com os resultados deste estudo, espera-se obter formas mais eficazes de diagnóstico, tratamento e prevenção da doença.

Os materiais e os dados coletados serão de uso exclusivo da equipe de pesquisadores apenas para os objetivos da pesquisa. Uma das preocupações está na garantia de que o nome dos participantes não seja revelado e, para tanto, todo o material coletado será identificado por etiquetas contendo apenas siglas e números, estabelecendo proteção ao sigilo das informações.

A participação é voluntária e a qualquer momento você poderá desistir de participar e retirar a autorização. A recusa não trará nenhum prejuízo à sua relação com o pesquisador ou com a instituição.

Este estudo não trará nenhum custo para você e todos os procedimentos serão realizados gratuitamente. Não haverá pagamento pela participação nesta pesquisa.

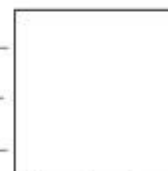
Você receberá uma cópia deste Termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal e do Comitê de Ética da UFMG, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação a qualquer momento.

Você assinará este Termo declarando que entendeu os objetivos, riscos e benefícios de sua participação na pesquisa, concordando em participar.

Nome do Participante: _____

Assinatura do participante: _____

Nome do responsável: _____



Prof. Dr. Francisco Carlos Félix Lana
Coordenador da Pesquisa
Av. Alfredo Balena, 190 - Bairro Santa Efigênia
Escola de Enfermagem - Belo Horizonte - MG
CEP: 30130-100 Tel: (31) 3409-9862

Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG
(COEP/UFMG)
Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 - Unidade
Administrativa II - Sala 2005 - Belo Horizonte - MG
CEP: 31270-901 Tel: (31) 3409-4592

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(13 a 17 anos – cópia responsável)

_____ está sendo convidado a participar da pesquisa “Análise do processo de exposição, infecção e adoecimento de contatos domiciliares de casos de hanseníase por meio de marcadores de infecção e de suscetibilidade genética ao *Mycobacterium leprae*” por morar em uma região que tem muitos casos de hanseníase.

A hanseníase é uma doença, causada por uma bactéria, que causa lesões na pele e nos nervos. Quando ela não é tratada, essas lesões podem deixar sequelas. Essa doença é transmitida pelo contato de uma pessoa doente e sem tratamento com outra pessoa, por meio da respiração. Para que a transmissão ocorra, geralmente é preciso que haja um convívio frequente e prolongado dessa pessoa com o doente.

Caso concorde com a participação do estudo, será aplicado um questionário por pesquisadores treinados da Escola de Enfermagem da UFMG, com perguntas relacionadas a participante e à doença.

Em seguida, será realizado um exame da pele e dos nervos para identificar possíveis sinais ou sintomas sugestivos de hanseníase.

Por fim, serão coletados 22 mililitros de sangue em 04 tubos a vácuo, por uma punção venosa no braço e material das mucosas da boca e do nariz com a utilização de dois *swabs*, utilizando material estéril e descartável para evitar ou diminuir a ocorrência de infecção. Os riscos destes procedimentos são mínimos e podem estar associados à coleta do material (pequeno hematoma, dor ou desconforto rápido). Com os resultados deste estudo, espera-se obter formas mais eficazes de diagnóstico, tratamento e prevenção da doença.

Os materiais e os dados coletados serão de uso exclusivo da equipe de pesquisadores apenas para os objetivos da pesquisa. Uma das preocupações está na garantia de que o nome dos participantes não seja revelado e, para tanto, todo o material coletado será identificado por etiquetas contendo apenas siglas e números, estabelecendo proteção ao sigilo das informações.

A participação é voluntária e a qualquer momento você poderá desistir e retirar a autorização. A recusa não trará nenhum prejuízo à sua relação com o pesquisador ou com a instituição.

Este estudo não trará nenhum custo para você e todos os procedimentos serão realizados gratuitamente. Não haverá pagamento pela participação nesta pesquisa.

Você receberá uma cópia deste Termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal e do Comitê de Ética da UFMG, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação a qualquer momento.

Você assinará este Termo declarando que entendeu os objetivos, riscos e benefícios da participação na pesquisa e que autoriza, como responsável, a participação de

Nome do responsável: _____

Assinatura do responsável: _____



Prof. Dr. Francisco Carlos Félix Lana
 Coordenador da Pesquisa
 Av. Alfredo Balena, 190 - Bairro Santa Efigênia
 Escola de Enfermagem - Belo Horizonte - MG
 CEP: 30130-100 Tel: (31) 3409-9862

Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG
 (COEP/UFMG)
 Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 - Unidade
 Administrativa II - Sala 2005 - Belo Horizonte - MG
 CEP: 31270-901 Tel: (31) 3409-4592

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar da pesquisa “Análise do processo de exposição, infecção e adoecimento de contatos domiciliares de casos de hanseníase por meio de marcadores de infecção e de suscetibilidade genética ao *Mycobacterium leprae*” por morar em uma região que tem muitos casos de hanseníase.

A hanseníase é uma doença, causada por uma bactéria, que causa lesões na pele e nos nervos. Quando ela não é tratada, essas lesões podem deixar sequelas. Essa doença é transmitida pelo contato de uma pessoa doente e sem tratamento com outra pessoa, por meio da respiração. Para que a transmissão ocorra, geralmente é preciso que haja um convívio frequente e prolongado dessa pessoa com o doente.

Caso aceite participar do estudo, será solicitado que você responda a um questionário aplicado por pesquisadores treinados da Escola de Enfermagem da UFMG, com perguntas relacionadas a você e à doença.

Em seguida, será realizado um exame da sua pele e dos nervos para identificar possíveis sinais ou sintomas sugestivos de hanseníase.

Por fim, serão coletados 22 mililitros de sangue em 04 tubos a vácuo, por uma punção venosa no braço e material das mucosas da boca e do nariz com a utilização de dois *swabs*, utilizando material estéril e descartável para evitar ou diminuir a ocorrência de infecção. Os riscos destes procedimentos são mínimos e podem estar associados à coleta do material (pequeno hematoma, dor ou desconforto rápido). Com os resultados deste estudo, espera-se obter formas mais eficazes de diagnóstico, tratamento e prevenção da doença.

Os materiais e os dados coletados serão de uso exclusivo da equipe de pesquisadores apenas para os objetivos da pesquisa. Uma das preocupações está na garantia de que o nome dos participantes não seja revelado e, para tanto, todo o material coletado será identificado por etiquetas contendo apenas siglas e números, estabelecendo proteção ao sigilo das informações.

A participação é voluntária e a qualquer momento você poderá desistir de participar e retirar a autorização. A recusa não trará nenhum prejuízo à sua relação com o pesquisador ou com a instituição.

Este estudo não trará nenhum custo para você e todos os procedimentos serão realizados gratuitamente. Não haverá pagamento pela participação nesta pesquisa.

Você receberá uma cópia deste Termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal e do Comitê de Ética da UFMG, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação a qualquer momento.

Você assinará este Termo declarando que entendeu os objetivos, riscos e benefícios de sua participação na pesquisa, concordando em participar.

Nome do Participante: _____

Assinatura do participante: _____

Prof. Dr. Francisco Carlos Félix Lana
Coordenador da Pesquisa
Av. Alfredo Balena, 190 - Bairro Santa Efigênia
Escola de Enfermagem - Belo Horizonte - MG
CEP: 30130-100 Tel: (31) 3409-9862

Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG
(COEP/UFMG)
Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 - Unidade
Administrativa II - Sala 2005 - Belo Horizonte - MG
CEP: 31270-901 Tel: (31) 3409-4592

APÊNDICE Q – ESTUDOS EXCLUÍDOS DA REVISÃO SISTEMÁTICA APÓS A LEITURA DO TEXTO COMPLETO

Títulos	Motivo da exclusão
An epidemiological study of leprosy infection by serology and polymerase chain reaction	Não avalia o desfecho de interesse
Blood RNA signature RISK4LEP predicts leprosy years before clinical onset	Não avalia o desfecho de interesse
Clinical manifestations of leprosy after BCG vaccination: An observational study in Bangladesh	Não avalia o desfecho de interesse
Development of a combined RLEP/16S rRNA (RT) qPCR assay for the detection of viable <i>M. leprae</i> from nasal swab samples	Não avalia a população de interesse
Dynamics of <i>Mycobacterium leprae</i> transmission in environmental context: Deciphering the role of environment as a potential reservoir	Não avalia o desfecho na população de interesse
Early diagnosis of neural impairment in seropositive leprosy household contacts: The experience of a reference center in Brazil	Não avalia o desfecho de interesse
Evaluation of PCR mediated DNA amplification in noninvasive biological specimens for subclinical detection of <i>Mycobacterium leprae</i>	Não avalia a população de interesse
Frecuencia de Infección por <i>Mycobacterium leprae</i> en convivientes de pacientes con lepra, Antioquia 2001-2002	Ausência de medida de frequência e/ou de efeito relacionada ao desfecho de interesse
Genotyping of <i>Mycobacterium leprae</i> in Myanmar and supposed transmission mode	Não avalia o desfecho de interesse
Genotyping of <i>Mycobacterium leprae</i> on the basis of the polymorphism of TTC repeats for analysis of leprosy transmission.	Não avalia o desfecho de interesse
Household Contacts of Leprosy Patients in Endemic Areas Display a Specific Innate Immunity Profile	Não avalia o desfecho na população de interesse
Immunoepidemiological studies on subclinical infection among leprosy household contacts in Thailand	Não avalia o desfecho de interesse
Leprosy among schoolchildren in the Amazon region: A cross-sectional study of active search and possible source of infection by contact tracing	Não avalia o desfecho na população de interesse
Leprosy in a prison population: A new active search strategy and a prospective clinical analysis	Não avalia a população de interesse
Leprosy transmission in endemic and non-endemic areas based on the profile of antibody response of PGL-1 and PCR detection of <i>Mycobacterium leprae</i> DNA from nasal swab among healthy children of East Java, Indonesia	Não avalia a população de interesse
Molecular, immunological and neurophysiological evaluations for early diagnosis of neural impairment in seropositive leprosy household contacts	Não avalia o desfecho de interesse

Títulos	Motivo da exclusão
Polymerase chain reaction for detection of <i>Mycobacterium leprae</i> in nasal swab specimens	Não avalia a população de interesse
Preliminary study on leprosy subclinical infection and its sero-epidemiology	Texto completo em chinês, sem tradução
Risk factors for developing leprosy - A population-based cohort study in Indonesia	Não avalia o desfecho de interesse
RLEP LAMP for the laboratory confirmation of leprosy: towards a point-of-care test	Não avalia o desfecho de interesse
Seroepidemiologic survey of the household contacts of leprosy patients	Não avalia o desfecho de interesse
Serological Immunoassay for Hansen's Disease Diagnosis and Monitoring Treatment: Anti-Mce1A Antibody Response Among Hansen's Disease Patients and Their Household Contacts in Northeastern Brazil	Não avalia o desfecho na população de interesse
Spatial distribution pattern of new leprosy cases under 15 years of age and their contacts in Sobral, Ceará, Brazil	Não avalia o desfecho de interesse
Standardization of SYBR Green-Based Real-Time PCR Through the Evaluation of Different Thresholds for Different Skin Layers: An Accuracy Study and Track of the Transmission Potential of Multibacillary and Paucibacillary Leprosy Patients	Não avalia a população de interesse
Study on subclinical infection with <i>M. leprae</i> --a follow-up	Texto completo em chinês, sem tradução
Study on the factors influencing steady transmission of leprosy in Qiubei county, China	Texto completo em chinês, sem tradução
The determinants of the geographical distribution and transmission of 16S rRNA of <i>M. leprae</i> in endemic areas, Indonesia	Não avalia a população de interesse
The epidemiology of leprosy in a high prevalence village in Papua New Guinea.	Não avalia o desfecho de interesse
Widespread nasal carriage of <i>Mycobacterium leprae</i> among a healthy population in a hyperendemic region of northeastern Brazil	Não avalia a população de interesse

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS (COEP-UFMG)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**

Projeto: CAAE – 01910312.5.0000.5149

**Interessado(a): Prof. Francisco Carlos Félix Lana
Departamento Enfermagem Materno Infantil e
Saúde Pública
Escola de Enfermagem- UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 18 de abril de 2012, o projeto de pesquisa intitulado "Análise do processo de exposição, infecção e adoecimento de contatos domiciliares de casos de hanseníase por meio de marcadores de infecção e de suscetibilidade genética ao *Mycobacterium leprae* " bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

**Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG**