

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS**

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E IMUNOLÓGICA DAS RECIDIVAS DA
HANSENÍASE NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**

KARINA DEMONER DE ABREU

**Vitória
2009**

A162c Abreu, Karina Demoner de, 1979-
Caracterização clínica e imunológica das recidivas da
hanseníase no estado do Espírito Santo / Karina Demoner de
Abreu. – 2009.
113 f. : il.

Orientador: Rodrigo Ribeiro Rodrigues.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Espírito
Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Hanseníase. 2. Recidiva. 3. Citocinas. 4. Imunologia. I.
Rodrigues, Rodrigo Ribeiro. II. Universidade Federal do Espírito
Santo. Centro de Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 61



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS
MESTRADO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

PARECER ÚNICO DA COMISSÃO JULGADORA DE
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

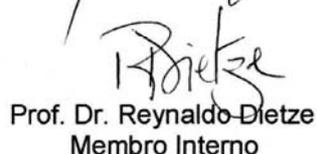
A mestranda KARINA DEMONER DE ABREU, apresentou dissertação intitulada: "CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA, EPIDEMIOLÓGICA E IMUNOLÓGICA DA RECIDIVA DA HANSENÍASE NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO" em sessão pública, como requisito final para obtenção do título de **Mestre em Medicina – Doenças Infecciosas**, do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo.

Considerando a apresentação oral dos resultados, a qualidade e relevância dos mesmos, a Comissão Examinadora da Dissertação decidiu, **aprovar sem restrições**, a dissertação e habilitar a médica KARINA DEMONER DE ABREU, a obter o Grau de MESTRE EM MEDICINA – DOENÇAS INFECCIOSAS.

Vitória-ES, 24 de abril de 2009



Prof. Dr. Marcelo Távora Mira
Membro Externo



Prof. Dr. Reynaldo Dietze
Membro Interno



Prof. Dr. Sínesio Talhari
Membro Externo



Prof. Dr. Rodrigo Ribeiro Rodrigues
Orientador

KARINA DEMONER DE ABREU

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E IMUNOLÓGICA DAS RECIDIVAS DA
HANSENÍASE NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**

ORIENTADOR: PROF. DR. RODRIGO RIBEIRO RODRIGUES

**Vitória
2009**

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, por toda a oportunidade oferecida, que me permitiu vivenciar todas estas etapas, que me direcionou nos momentos de aflição e que me proporcionou sabedoria para diversas situações.

Agradeço a Prof. Dra. Lucia Martins Diniz, Chefe do Serviço de Dermatologia da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), grande mestre e amiga que sempre me brindou com seus conhecimentos, tranquilidade e segurança suficiente para a realização deste trabalho. Exemplo de força e determinação. Meu muito obrigada!

Ao Prof. Dr. João Basílio de Souza Filho, Chefe do Serviço de Dermatologia da Santa Casa de Vitória (EMESCAM), presente desde os meus primeiros passos na dermatologia, disciplina do meu coração. Agradeço o incentivo e a oportunidade de pertencer a este serviço. Aproveito para agradecer as nossas residentes e as demais funcionárias, em especial à assistente social Dora Martins Cypreste pela valiosa colaboração na obtenção dos dados dos pacientes.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Ribeiro Rodrigues, meu ilustre orientador, pessoa de sabedoria admirável, pelas constantes idéias para o desenvolvimento do trabalho e principalmente pelo carinho a mim dispensado.

Aos mestres de todas as disciplinas por tantos conhecimentos adquiridos.

Aos meus queridos amigos do curso de mestrado: Aretha Molina Sesana, Bettina Moulin Coelho Lima, Carlos Gustavo Vieira de Moraes, Chiara Musso Ribeiro de Oliveira Souza, Cynthia Maria Leite Pinheiro, Débora Maria Pires Goncalves, Fernanda Magri de Carvalho, Flávia Dias Coelho da Silva, Juliana Silva Pancini Goulart, Luciana Bueno de Freitas, Lucília Pereira Dutra Molino, Ludmila de Matos Baltazar, Nínive Camillo de Figueiredo, Renata Lyrio Peres Nóbrega e Simone Bravim Maifrede pelos maravilhosos

momentos compartilhados. Em especial à Juliana, pelo grande apoio e suporte no desenvolvimento do projeto.

A todos os pacientes, principal motivação para este trabalho, por possibilitar o estudo da hanseníase.

Aos funcionários do Núcleo de Doenças Infecciosas, e todos aqueles que, direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho.

E finalmente, aos meus pais, tão especiais e queridos, que sempre me estimularam e influenciaram em todas as etapas da minha vida. Ao meu marido Rodrigo, constantemente sendo a minha base, o meu apoio. À minha querida irmã Fernanda, por sua existência. Ao Gilberto e à Beatriz que me acompanharam durante todo o meu esforço e dedicação.

Lista de Abreviaturas e Siglas

Anti- PGL1 – Anticorpo anti- Glicolípido Fenólico 1

CBA - *Cytometric Bead Array*

CCL2/MCP-1 - Monocyte chemoattractant protein 1

CCL3/MIP-1 α -Macrophage inflammatory protein 1 α

CCL5/RANTES -Regulated on activation normal T cell-expressed and secreted

CCL11/Eotaxin - Eotaxin

CXCL8/IL-8 -Interleukin-8

CXCL9/MIG - Monokine induced by γ -interferon

CXCL10/IP10 - γ -Interferon-inducible-protein 10

CD - Cluster of Differentiation

CNDS - Coordenação Nacional de Dermatologia Sanitária

CNPq - Conselho Nacional de Pesquisa

DDS - Diamino-Difenil-Sulfona

DNA - Ácido Desoxirribonucléico

DNDS - Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária

EDTA - Ácido Etilenodiaminotetracético

ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay

EMESCAM - Escola de Medicina da Santa Casa de Misericórdia

ES - Espírito Santo

HD - Hanseníase Dimorfa

HDD - Hanseníase Dimorfa-Dimorfa

HDT - Hanseníase Dimorfa-Tuberculóide

HDV - Hanseníase Dimorfa-Virchowiana

HI - Hanseníase Indeterminada

HIV - Human Immunodeficiency Virus (Vírus da Imunodeficiência Humana)

HLA - Human Leucocyte Antigens (Antígeno de Histocompatibilidade)

HLA-DR e HLA-DQ - Human Leucocyte Antigens- Locus DR e Locus DQ

HV - Hanseníase Virchowiana

IB - Índice Baciloscópico

IFN- γ - Interferon gama

IgE - Imunoglobulina E

IgM - Imunoglobulina M

IL - Interleucina

kDa - kilo Daltons

LAM - Lipoarabinomanana

Lama 2 - Laminina- $\alpha 2$

MBL-2 - Lectina ligante de manose

MHC - Major Histocompatibility Complex (Complexo de Histocompatibilidade Principal)

ml - mililitros

μ l – microlitro

ML Flow – Teste sorológico Rápido de Fluxo Lateral

mm - milímetros

MS - Ministério da Saúde

NDI - Núcleo de Doenças Infecciosas

M. leprae - *Mycobacterium leprae*

NK - Natural Killer

NRAMP1 - *Natural Resistance Associated Macrophage Protein-1*

OMS - Organização Mundial da Saúde

OR – *Odds Ratio* (Razão de Chances)

PARK2 e PACRG - genes envolvidos com a doença de Parkinson

PE - Phycoeritrina

PGL-1 - Glicolipídiófenólico 1

pg - picograma

PQT - Poliquimioterapia

PQT/PB - Poliquimioterapia Paucibacilar

PQT/MB - Poliquimioterapia Multibacilar

RNI - Reativos Intermediários do Nitrogênio

ROI - Reativos Intermediários do Oxigênio

ROM - Rifampicina, Ofloxacina, Minociclina

RR - Reação Reversa

SLAM - *Signaling Lymphocytic Activation Molecule*

SINAN - Sistema Nacional de Informação de Agravos de Notificação Compulsória

SNPs - Polimorfismos de Nucleotídeo Único

SPSS - Statistical Package for the Social Sciences

TCLE - Termo de Consentimento Livre Esclarecido

TGF β - Tumor Growth Factor β (Fator de Crescimento Tumoral beta)

Th - Linfócitos T *helper*

Th1 - células T do tipo 1

Th2 - células T do tipo 2

TLR - toll-like receptors

TNF α - Tumor Necrosis Factor α (Fator de Necrose Tumoral alfa)

UFES - Universidade Federal do Espírito Santo

Lista de figuras

Figura 1 – Série histórica de coeficiente de prevalência de pacientes em tratamento para hanseníase, por região – Brasil de 1990 a 2007.....	19
Figura 2 – Série histórica de coeficiente de prevalência de pacientes em tratamento para hanseníase, na região Sudeste – Brasil de 1990 a 2007.....	20
Figura 3 – Série histórica de coeficiente de detecção de casos novos de hanseníase (10^4), por região – Brasil de 1990 a 2007.....	20
Figura 4 – Série histórica de coeficiente de detecção de casos novos de hanseníase (10^4), na região Sudeste - Brasil de 1990 a 2007.....	21
Figura 5 – Padrão de citocinas produzidas na hanseníase.....	28
Figura 6 – Níveis séricos de $IFN\gamma$ nos pacientes com recidiva da hanseníase.....	67
Figura 7 – Níveis séricos de $TNF\alpha$ nos pacientes com recidiva da hanseníase.	67
Figura 8 – Níveis séricos de IL-10 nos pacientes com recidiva da hanseníase.....	68
Figura 9 – Níveis séricos de IL-2, IL-4 e IL-5 nos pacientes com recidiva da hanseníase.....	68
Figura 10 – Níveis séricos de CCL1-IP10 nos pacientes com recidiva da hanseníase.....	69
Figura 11 – Níveis séricos de CCL2-MCP1 nos pacientes com recidiva da hanseníase.....	70
Figura 12 – Níveis séricos de CXCL9 – MIG nos pacientes com recidiva da hanseníase.....	70
Figura 13 – Níveis séricos de CCL5 - RANTES nos pacientes com recidiva da hanseníase....	71
Figura 14 – Níveis séricos de CXCL8 – IL8 nos pacientes com recidiva da hanseníase.....	71

Lista de tabelas

Tabela 1 – Diagnóstico diferencial entre recidiva e reação reversa, descrito no Guia para controle da hanseníase, pelo Ministério da Saúde (2002).....	42
Tabela 2 – Índice baciloscópico de Ridley (IB).....	54
Tabela 3 – Distribuição dos casos quanto ao período de incubação da recidiva da hanseníase.....	60
Tabela 4 – Distribuição dos controles quanto ao tempo de alta por cura da hanseníase até a consulta no Serviço de Dermatologia da Santa Casa de Vitória.....	60
Tabela 5 – Formas clínicas no primeiro diagnóstico e na recidiva de hanseníase dos 45 pacientes.....	61
Tabela 6 – Comparação das características dos casos (no primeiro diagnóstico) e dos controles.....	62
Tabela 7 – Comparação do sexo, contato intradomiciliar e reação de hanseníase após a alta nos grupos caso (na recidiva) e controle.....	63
Tabela 8 – Distribuição dos casos de recidiva de acordo com as formas clínicas em comparação com o índice baciloscópico (IB) e o teste <i>ML Flow</i>	64
Tabela 9 – Distribuição dos 45 casos em relação ao tipo de tratamento no primeiro diagnóstico e o adotado na recidiva.....	64
Tabela 10 – Comparação dos casos (no primeiro diagnóstico) e dos controles quanto ao esquema terapêutico utilizado.....	65
Tabela 11 – Frequência de parasitas intestinais entre os 39 casos de recidiva distribuídos de acordo com a classificação operacional em paucibacilar (PB) e multibacilar (MB).....	66

SUMÁRIO

RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
INTRODUÇÃO.....	16
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
HANSENÍASE.....	19
Dados epidemiológicos da hanseníase no Brasil e no Estado do Espírito Santo.....	20
Conceitos básicos da hanseníase.....	21
Classificação da hanseníase.....	22
Diagnóstico.....	23
Tratamento.....	23
Aspectos genéticos da hanseníase.....	24
Aspectos imunológicos da hanseníase.....	26
Imunologia nas formas clínicas.....	28
a) Imunologia da hanseníase indeterminada.....	28
b) Imunologia da hanseníase tuberculóide.....	29
c) Imunologia da hanseníase virchowiana.....	31
d) Imunologia da hanseníase dimorfa.....	33
Quimiocinas.....	33
Quimiocinas na Hanseníase.....	34
RECIDIVA DA HANSENÍASE	35
Conceito	35
Fatores desencadeantes de recidiva.....	35
a) Persistência do <i>Mycobacterium leprae</i>.....	35
b) Resistência do <i>Mycobacterium leprae</i>.....	36

c) Reinfecção na hanseníase.....	37
d) Imunossupressão.....	37
e) Gravidez e lactação.....	37
f) Formas multibacilares avançadas.....	38
g) Fatores operacionais.....	38
h) Outro fator associado: nematóides intestinais.....	38
Critérios clínicos e laboratoriais para o diagnóstico de recidiva	40
Período de incubação da recidiva da hanseníase.....	41
Taxa de recidiva da hanseníase.....	42
Aspectos imunológicos da recidiva da hanseníase.....	44
Terapia na recidiva da hanseníase.....	45
OBJETIVOS	46
MÉTODOS	47
ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	58
RESULTADOS.....	59
DISCUSSÃO.....	72
CONCLUSÕES.....	83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85
ANEXO 1.....	104
ANEXO 2.....	105
ANEXO 3.....	106

RESUMO

Introdução: Recidiva da hanseníase acontece nos pacientes tratados regularmente, com os esquemas oficiais vigentes e que receberam alta por cura, mas após um período de incubação reaparecem com a doença. **Objetivos:** 1) Determinar a frequência da recidiva da hanseníase no Estado do Espírito Santo e 2) Avaliar os níveis séricos de citocinas Th-1 e Th-2 (TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10) e das quimiocinas (CCL2/MCP-1, CCL10/IP-10, CXCL9/MIG, CCL5/RANTES e CXCL8/IL-8) nos pacientes com recidiva. **Métodos:** Estudo caso-controle de 45 pacientes com recidiva de hanseníase e 19 controles (sem a doença) anteriormente tratados para hanseníase selecionados através do SINAN. Foram descritas as características clínicas e epidemiológicas do diagnóstico inicial dos casos e dos controles e na recidiva dos casos: idade, sexo, forma clínica, resultado da baciloscopia, comunicante de hanseníase, ocorrência de reação, esquema terapêutico e resultado do teste *ML Flow* verificando-se a associação entre as variáveis através do cálculo do *Odds Ratio*, intervalo de confiança de 95% e valor de *p*. **Resultados:** A mediana da idade foi de 44 anos, o sexo masculino representou 64,4% dos casos, 35 pacientes foram diagnosticados após cinco anos da alta do primeiro diagnóstico e 40 casos apresentavam a forma clínica dimorfa. Os pacientes paucibacilares produziram mais TNF- α e IFN- γ do que os multibacilares com índice baciloscópico positivo. Os níveis séricos da IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10 não diferiram entre os grupos paucibacilar e multibacilar. A avaliação dos níveis séricos das quimiocinas foi elevada nos multibacilares quando comparada aos paucibacilares. **Conclusões:** A frequência da recidiva foi de 2,41%; os níveis das citocinas TNF- α e IFN- γ corroboraram os dados da literatura em relação aos pacientes com hanseníase nunca tratados, o mesmo não foi verificado nos níveis das IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10.

Palavras chave: hanseníase, recidiva, citocinas, imunologia.

ABSTRACT

Introduction: Leprosy relapse occurs in patients, who underwent regular anti-leprosy therapy, were considered cured, and in whom after a certain period post-treatment disease reappears. **Objectives:** 1) Determine the frequency of leprosy relapse in the state of Espirito Santo, and 2) Evaluate the serum levels of Th-1 and Th-2 cytokines (TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5 & IL-10) and of chemokines (CCL2/MCP-1, CCL10/IP-10, CXCL9/MIG, CCL5/RANTES & CXCL8/IL-8) in patients with relapsing leprosy. **Methods:** Forty-five patients with relapsing leprosy, and 19 controls (without disease but who had leprosy treated and cured) were enrolled in this case-control study. Clinical characteristics and demographical data for all cases and controls were recorded, such as: age, gender, initial clinical form, bacilloscopy results, leprosy household contactants, leprosy reaction, therapeutic regimen, and ML Flow test results. Association between these parameters were also evaluated. **Results:** Observed median age for patients and controls was 44 years, 64.4% were males and 35 patients were diagnosed as relapsing leprosy cases after Five years post-cure of first leprosy episode, and dimorphous leprosy were diagnosed in 40 out of 45 patients. Serum levels of TNF- α and IFN- γ were higher among paucibacillary patients when compared with multibacillary patients with a positive bacilloscopic index. Similar levels of IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10 were observed for these two groups. On the other hand, multibacillary patients presented higher levels of chemokines when compared to paucibacillary patients. **Conclusions:** The observed relapsing frequency was 2.41%; TNF- α and IFN- γ data are in agreement with previous published data for non-treated patients. However, data for IL-2, IL-4, IL-5 & IL-10 do not agree with previous reports.

Keywords: leprosy, relapse, cytokines, immune response.

INTRODUÇÃO

A hanseníase é uma doença infecciosa que se caracteriza por apresentar formas clínicas, histopatológicas e imunológicas diferenciadas. Observa-se que existe uma forma de alta resistência à infecção pelo *Mycobacterium leprae*, a hanseníase tuberculóide, na qual as manifestações estão relacionadas à exacerbação da resposta imune celular, ocorrendo formação de granuloma bem definido, limitação das lesões e destruição completa dos bacilos. Esse é o chamado pólo tuberculóide da doença. No outro pólo, encontra-se a forma de alta suscetibilidade, a hanseníase virchowiana, que se caracteriza por deficiência da resposta celular, excessiva multiplicação bacilar e disseminação da doença.

A recidiva da hanseníase é o reaparecimento de sinais e sintomas da doença, após o paciente ter recebido alta por cura, desde que tenha completado com êxito o tratamento padrão e tenha sido afastada a possibilidade de reação. A Organização Mundial de Saúde em 1994 estimou que 0,77% dos casos multibacilares e 1,07% dos casos paucibacilares reapareciam com a hanseníase após a alta por cura terapêutica. Até o momento, são poucos os estudos realizados no Brasil de avaliação da taxa de recidiva da doença. Estes encontraram a taxa de recidiva variando de 1 a 3%.

O Serviço de Dermatologia da Santa Casa de Vitória, Centro de Referência Estadual em Hanseníase foi convidado em 2006 a participar de um estudo multicêntrico envolvendo cinco Estados brasileiros, porque já recebia casos de suspeita de recidiva, encaminhados por Unidades de Saúde do Estado do Espírito Santo. Esse estudo avaliou a frequência e as características dos casos de recidiva de hanseníase, além de colaborar na identificação laboratorial de cepas do *M. leprae* resistentes às drogas rifampicina, ofloxacina e dapsona.

A partir daí, todas as unidades de saúde do Estado referenciavam os casos suspeitos de recidiva para serem analisados na Unidade de Referência, o Serviço de Dermatologia Sanitária da Santa Casa de Vitória.

Diante da realização do estudo multicêntrico de recidiva da hanseníase no Estado do Espírito Santo, surgiu a oportunidade de se estudar as características imunológicas nestes pacientes. Considerando a complexidade das manifestações clínicas da hanseníase, a dificuldade para estabelecer os critérios para o diagnóstico de recidiva e sua correlação com as alterações imunológicas dentro do espectro clínico da doença, o objetivo do estudo foi caracterizar clinicamente os casos de recidiva da hanseníase no Estado do Espírito Santo, dando ênfase aos aspectos imunológicos dos pacientes recidivados.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

HANSENÍASE

Dados epidemiológicos da hanseníase no Brasil e no Estado do Espírito Santo

Na história da humanidade, provavelmente nenhuma doença gerou estigma social tão intenso como a hanseníase. No Brasil a hanseníase permanece como problema de saúde pública, ocupando o segundo lugar no mundo em número absoluto de casos, superado apenas pela Índia (PREVEDELLO & MIRA, 2007).

O Brasil registrou no final de 2007 um coeficiente de prevalência de hanseníase de 1,65 casos por 10.000 habitantes e um coeficiente de detecção de casos novos de 1,62 por 10.000 habitantes. O Estado do Espírito Santo encerrou o ano de 2007 com taxa de prevalência de 2,93 casos por 10.000 habitantes e taxa de detecção de 3,27 casos por 10.000 habitantes, a mais alta da região Sudeste (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Os coeficientes de prevalência e de detecção de casos novos de hanseníase no Brasil e na Região Sudeste encontram-se representados na figuras 1, 2, 3 e 4.

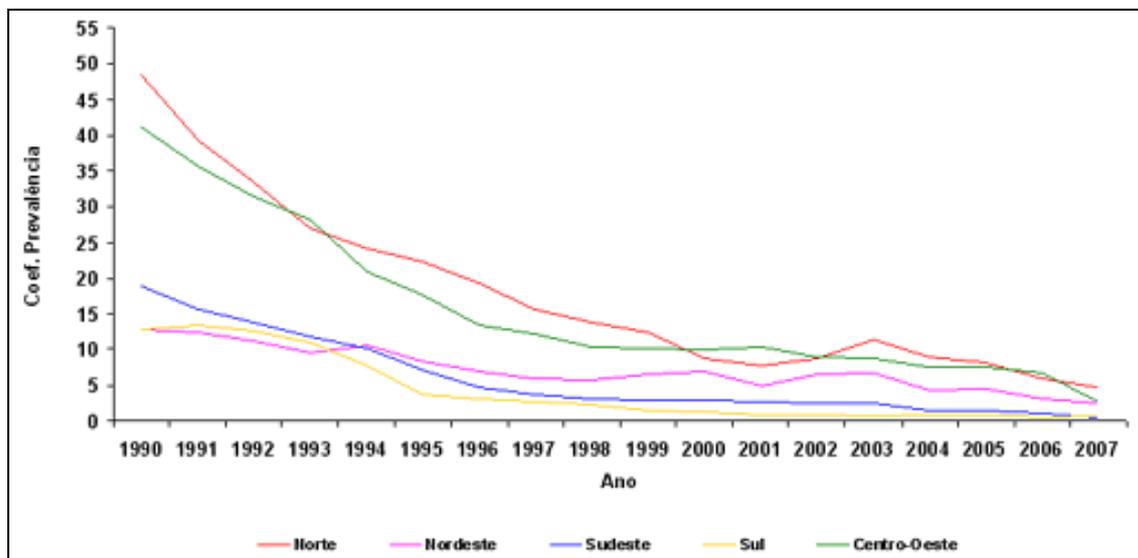


Figura 1 – Série histórica de coeficiente de prevalência de pacientes em tratamento para hanseníase, por região – Brasil de 1990 a 2007.

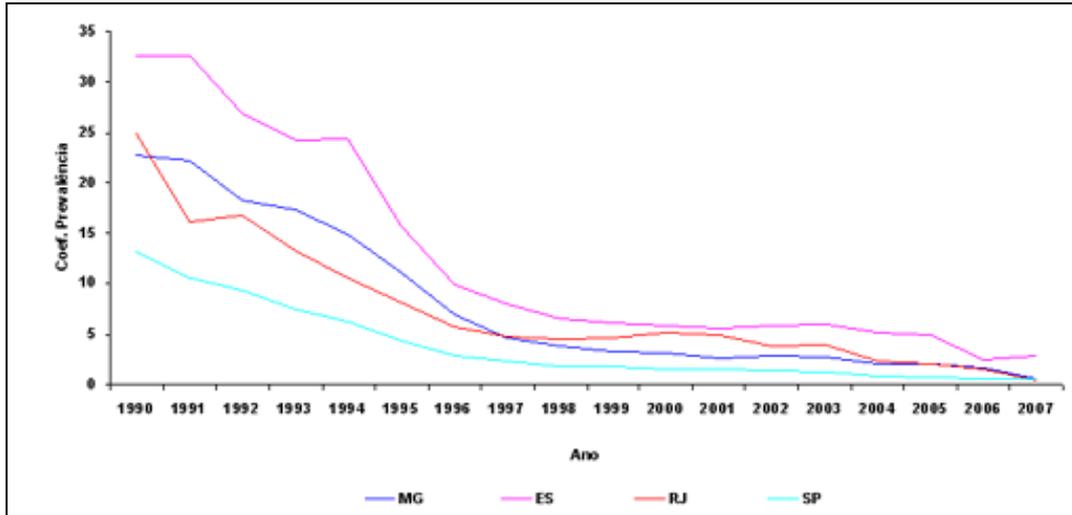


Figura 2 – Série histórica de coeficiente de prevalência de pacientes em tratamento para hanseníase, na região Sudeste – Brasil de 1990 a 2007.

Com a introdução da poliquimioterapia a partir de 1991 houve a redução da prevalência da doença, não coincidindo com a diminuição da detecção de casos novos, mantendo-se a endemia da hanseníase (MARTELLI e col., 2002; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006; WENG e col., 2007).

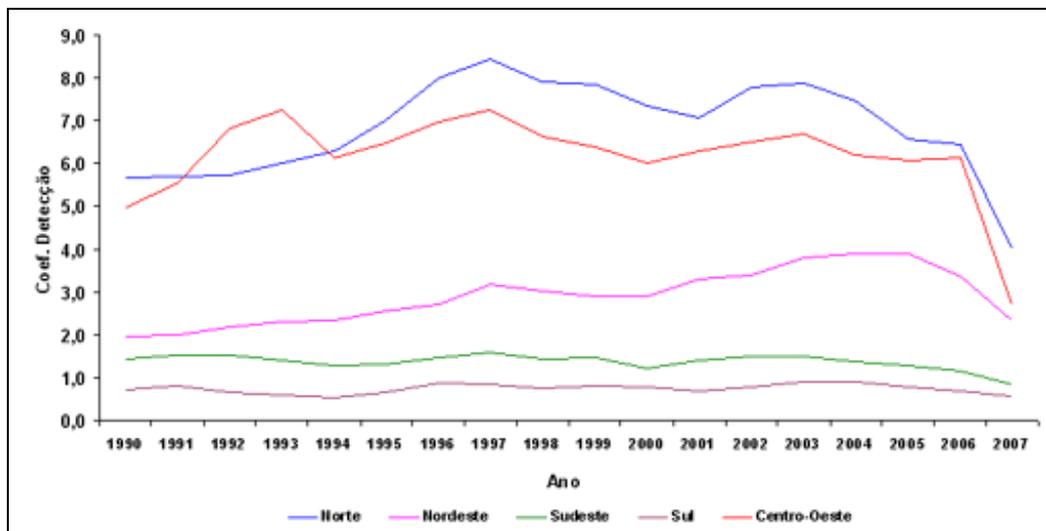


Figura 3 – Série histórica de coeficiente de detecção de casos novos de hanseníase (10^4), por região – Brasil de 1990 a 2007.

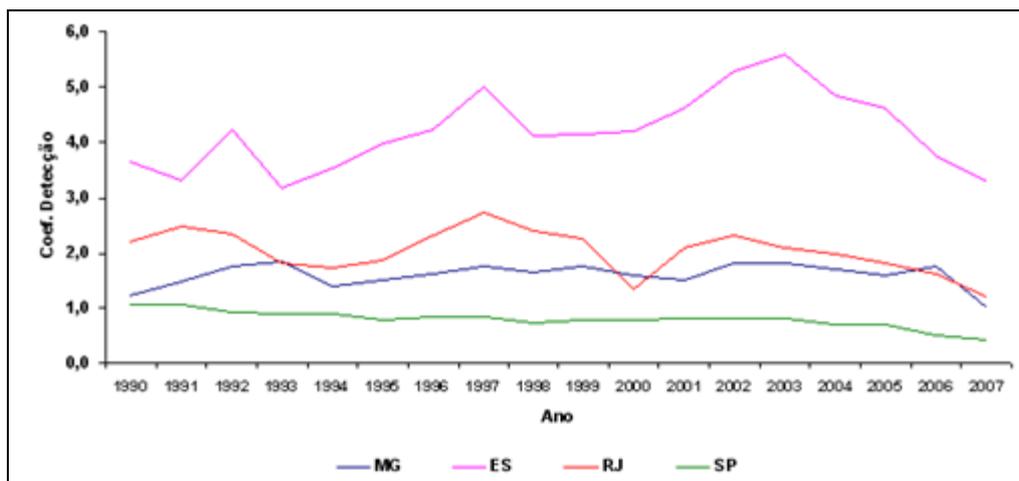


Figura 4 – Série histórica de coeficiente de detecção de casos novos de hanseníase (10^4), na região Sudeste - Brasil de 1990 a 2007.

Conceitos básicos da hanseníase

A hanseníase pode ser definida como doença infecciosa crônica, que tem como agente etiológico o *Mycobacterium leprae*, que afeta primariamente a pele e o sistema nervoso periférico (TALHARI e col., 2006).

O *M. leprae* é bacilo álcool-ácido-resistente, intracelular obrigatório, que apresenta algumas características únicas, tais como a incapacidade de ser cultivado em meio artificial, o longo tempo de reprodução e a alta especificidade por seus alvos celulares, os macrófagos e as células de Schwann, encontradas nos nervos periféricos (ALCAIS, 2005; TALHARI e col., 2006).

O homem é considerado, até o momento, o único reservatório da doença. A transmissão e a penetração dos bacilos ocorrem através das vias aéreas superiores, sendo os pacientes multibacilares não tratados considerados a principal fonte de infecção, responsáveis pela contaminação e disseminação da doença. Para que a transmissão ocorra, geralmente, é necessário o contato do indivíduo suscetível de forma íntima e prolongada com indivíduo doente não tratado, por isto, os habitantes intradomiciliares são os mais atingidos (ARAÚJO, 2003; PARKASH e col., 2006).

O período de incubação da hanseníase varia de dois a cinco anos, e suas diferentes manifestações clínicas, dependem da relação parasita / hospedeiro, tais como quantidade de bacilos adquiridos na infecção, da genética do indivíduo e do sistema imunológico. Portanto, como em outras doenças infecciosas, a conversão de infecção em doença depende de interações entre fatores individuais do hospedeiro, ambientais e do próprio *M. leprae* (TALHARI e col., 2006; WALKER & LOCKWOOD, 2006).

Classificação da hanseníase

Na prática clínica do Brasil adota-se a classificação de Madri (1953), onde a hanseníase é classificada em quatro formas: indeterminada, tuberculóide, dimorfa e virchowiana (ARAÚJO, 2003).

A hanseníase é doença de manifestação clínica espectral. Os pólos desse espectro são ocupados de um lado pela forma mais localizada, tuberculóide, associada à resposta imunológica Th-1 (celular) e do outro lado pela forma virchowiana, sistêmica, associada à resposta Th-2 (humoral) (MENDONÇA e col.,2008).

A classificação de Ridley e Jopling (1966) é a mais recomendada nos estudos imunológicos, sendo baseada no critério histopatológico e sugerindo a possibilidade das formas clínicas oscilarem no espectro da doença, ora para o pólo de resistência (tuberculóide), ora para o pólo de susceptibilidade (virchowiano). Entre os pólos, existe a forma clínica de instabilidade imunológica, denominada de dimorfa, subdividida em: dimorfa-tuberculóide, dimorfa-dimorfa e dimorfa-virchowiana. (GOULART e col., 2002; LOCKWOOD e col.; 2007).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) propôs para fins de orientação terapêutica uma classificação baseada primeiramente na baciloscopia, e posteriormente, no número de

lesões cutâneas, sendo: os casos paucibacilares aqueles que apresentam até cinco lesões e os casos multibacilares aqueles com mais de cinco lesões cutâneas (BEIGUELMAN, 2002).

Diagnóstico

A baciloscopia é o principal exame complementar no diagnóstico da hanseníase. Coleta-se o material a ser examinado (linfa) nos lóbulos direito e esquerdo das orelhas, cotovelos direito e esquerdo e na lesão suspeita. A coloração é feita pelo método de Ziehl-Neelsen e apresenta-se o resultado sob a forma de índice baciloscópico (IB), numa escala que varia de zero a seis cruces. A baciloscopia mostra-se negativa (zero) nas formas indeterminada, tuberculóide e dimorfa-tuberculóide, e positiva nas formas virchowiana, dimorfa-dimorfa e dimorfa-virchowiana (ARAÚJO, 2003; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Outros exames podem ser necessários, como o exame histopatológico das lesões cutâneas nos casos em que há dúvidas diagnósticas e/ou na recidiva da doença (ARAÚJO, 2003).

Tratamento

Em 1981, a OMS recomendou o tratamento com a poliquimioterapia (PQT), modificando radicalmente o perfil da hanseníase nos países endêmicos. No Brasil, a PQT foi implantada oficialmente de forma gradual a partir de 1986, alcançando expressão significativa em 1992. Os esquemas paucibacilares e multibacilares têm a finalidade de evitar o surgimento de resistência bacteriana. Os esquemas-padrão têm uma droga fortemente bactericida, que é a rifampicina, e duas drogas consideradas bacteriostáticas, a dapsona e a clofazimina (ARAÚJO, 2005).

A rifampicina é droga administrada sob supervisão em doses mensais. A PQT/PB prevê a auto-administração diária da dapsona e deve ser concluída após seis doses

supervisionadas em até nove meses. A PQT/MB prevê na dose supervisionada a tomada da clofazimina, além da rifampicina, e doses diárias auto-administradas de dapsona e clofazimina. A duração do tratamento foi inicialmente de 24 doses, sendo a partir de 1998, admitida sua realização com 12 doses em até 18 meses (FOSS, 1999; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005; TALHARI e col., 2006).

A alta por cura ocorre quando o paciente foi tratado de forma regular e pelo tempo estabelecido pelo tratamento padrão (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Aspectos genéticos da hanseníase

O papel de fatores genéticos tem sido avaliado há muito tempo, segundo a observação da distribuição da doença em conglomerados, famílias ou comunidades com antecedentes genéticos comuns. Esses fatores genéticos do hospedeiro parecem desempenhar papel relevante no desenvolvimento e no padrão clínico da hanseníase (ALCAIS e col. 2005; MENDONÇA e col. 2008).

A destruição e a multiplicação do bacilo no interior dos macrófagos podem ser determinadas por mecanismos imunológicos que envolvem a apresentação do antígeno (Complexo Maior de Histocompatibilidade - MHC) e pelo Antígeno de Histocompatibilidade (HLA), ambos geneticamente determinados (SILVA e col., 2006).

O complexo HLA tem sido estudado na tentativa de elucidar os mecanismos que levam ao direcionamento da imunidade na hanseníase. As moléculas HLA estão envolvidas com o reconhecimento e a apresentação de vários peptídeos diferentes aos linfócitos TCD4⁺. Portanto, dependendo do tipo de HLA, determinados antígenos serão apresentados, podendo gerar diferentes respostas das células TCD4⁺ (MORAES e col., 2006).

Na forma tuberculóide predomina o fenótipo HLA-DR2 e HLA-DR3, padrão de maior resistência à doença, pois a presença desses alelos induz forte resposta Th-1; nas formas

virchowiana e dimorfa-virchowiana predominam o fenótipo HLA-DQ1, relacionado à suscetibilidade, devido os mecanismos supressores da imunidade celular, como ativação de células Th-2 e indução de IL-10 (COOKE & HILL, 2001; ARAÚJO, 2003).

A maioria das pessoas que vivem em regiões nas quais a hanseníase é endêmica já esteve exposta ao bacilo *M. leprae*, mas apenas algumas delas desenvolvem a doença. Por isso, considerava-se provável que fatores genéticos sejam responsáveis pela resistência ou suscetibilidade à moléstia (TALHARI e col., 2006).

Polimorfismos e mutações em diversos genes relacionados ou não com a resposta imune têm sido associados com a hanseníase como, por exemplo: os receptores *toll-like* (*TLR*), lectina ligante de manose (*MBL-2*), laminina- $\alpha 2$ (*Lama 2*), *NRAMP1* e genes envolvidos com a doença de Parkinson, tais como *PARK2* e *PACRG* (PREVEDELLO & MIRA, 2007; MENDONÇA, 2008).

Os receptores *toll-like* (*TLR*) são proteínas transmembrana capazes de serem estimuladas por uma variedade de produtos bacterianos, resultando na produção de quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias. Polimorfismos no gene da proteína 1 do macrófago associado à resistência natural (*NRAMP1*- *natural resistance associated macrophage protein* 1) estão associados com a hanseníase multibacilar em pacientes africanos, e esse gene também tem sido relacionado com a resposta imune celular ao *M. leprae* (ALCAIS e col.; 2000; MEISNER e col.; 2001).

Uma pesquisa que reuniu cientistas canadenses, brasileiros, vietnamitas, franceses e holandeses mostrou que polimorfismos em uma região específica do cromossomo 6 estão ligados a uma maior suscetibilidade para a hanseníase. O objetivo foi descobrir polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) que fossem comuns nas famílias estudadas e que pudessem, portanto, estar relacionados à doença (SANTOS e col.; 2002; MIRA e col., 2003).

Foram encontrados seis SNPs nas famílias vietnamitas associados à hanseníase, dos quais quatro, incluindo os dois mais importantes, estavam nos genes PACRG e PARK2. Um estudo mais detalhado desses dois genes encontrou 81 polimorfismos, 19 deles associados à doença. Deste total, 17 estavam agrupados na região de PACRG e PARK2. Dos 17 SNPs associados à hanseníase na população vietnamita, 15 foram estudados no Brasil. Destes, 13 foram encontrados nos voluntários brasileiros e nove estavam associados à doença na população brasileira. Os dois polimorfismos mais importantes na população vietnamita também foram considerados os mais significativos nos brasileiros. O fato de os mesmos resultados terem sido obtidos em duas populações com origens étnicas tão diferentes permitiu classificar essas variações genéticas como fatores de risco comuns para a hanseníase (MIRA e col.,2004).

Os genes PACRG e PARK2 estão envolvidos com a eliminação de proteínas que não são mais necessárias à célula. A mutação desses genes está relacionada a uma produção anormal da enzima parkina, responsável por encaminhar as proteínas ao proteossomo, onde são destruídas. Tais genes controlam vias bioquímicas que interagem com proteínas da resposta imune, incluindo as envolvidas com a sinalização dos *TLR* e indução de anergia de células T. Variantes desses genes têm sido considerados como fatores de risco para o desenvolvimento da hanseníase (MIRA e col., 2004; MALHOTRA e col.; 2006).

Aspectos imunológicos da hanseníase

A hanseníase é doença polar, caracterizada por uma forma hiperérgica (tuberculóide), e uma forma anérgica (virchowiana), com predomínio, respectivamente, das respostas imunológicas Th-1 ou celular e Th-2 ou humoral e duas formas intermediárias: a indeterminada e a dimorfa. A alteração da resposta imune está associada com o

desenvolvimento dessas formas clínicas distintas (TALHARI e col., 2006). O padrão normal das citocinas produzido na hanseníase pode ser observado na figura 5.

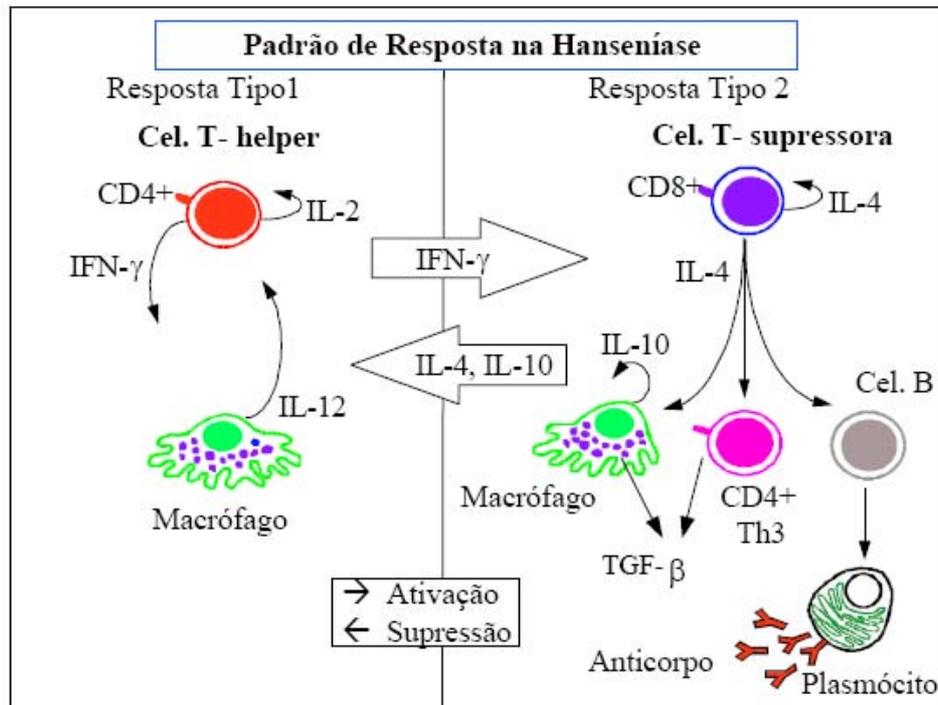
Acredita-se que as citocinas secretadas pelas células imunes frente aos diversos antígenos micobacterianos definem as formas clínicas da hanseníase (FOSS, 1999). Por exemplo: as formas tuberculóide e dimorfa-tuberculóide liberam antígenos micobacterianos de 10kDa que estimulam a resposta imune celular, com produção de IFN- γ ; o 28KDa é fraco estimulador das respostas celular e humoral, tanto nas formas tuberculóide, dimorfa-tuberculóide, quanto nas formas virchowiana e dimorfa-virchowiana; o 36KDa estimula grande produção de anticorpos desencadeando as formas virchowiana e dimorfa-virchowiana; o 65KDa é o melhor estimulador de secreção de IFN- γ levando à formação das formas tuberculóide e dimorfa-tuberculóide e induz a produção de anticorpos nas formas virchowiana e dimorfa-virchowiana; o LAM (antígeno lipoarabinomanana) não induz resposta tipo Th-1. Portanto, o tipo do antígeno é importante na indução da resposta imune do hospedeiro (SARNO, 1993; DOCKRELL e col., 1996; WILKINSON e col.,1999).

A capacidade de os linfócitos auxiliares (TCD4⁺), também conhecidos como linfócitos T *helper* (Th), em induzir a resposta celular ou humoral está relacionada com os tipos de citocinas secretadas, e proporcionará o desenvolvimento das respostas Th-1 ou Th-2 (IYER e col., 2007; MENDONÇA e col., 2008).

A subpopulação de linfócito Th-1 produz as citocinas pró-inflamatórias (IL-2, IFN- γ e TNF- α), responsáveis pela manutenção da resposta imune celular. Essas citocinas atuam sinergicamente, incrementando a ativação macrofágica (FOSS, 1997).

A subpopulação de linfócito Th-2 produz várias citocinas, entre elas a IL-4 e IL-10, que são supressoras da atividade macrofágica. A citocina TGF- β , encontrada em quantidades acentuadas nas lesões de hanseníase virchowiana e nas formas interpolares (dimorfa-virchowiana e dimorfa-dimorfa) em níveis decrescentes e ausente nas lesões de hanseníase

tuberculóide, é considerada supressora da atividade macrófágica, podendo favorecer a manutenção da supressão (FOSS, 1999; BARROS & OLIVEIRA, 2000).



FONTE: GOULART, PENNA, CUNHA, 2002.

Figura 5 – Padrão de citocinas produzidas na hanseníase.

Portanto, o padrão de citocinas produzido pelas células T contra os patógenos intracelulares é determinante para a natureza da resposta imunológica (GOULART e col., 2002; BRITTON & LOCKWOOD, 2004).

Imunologia nas formas clínicas

a) Imunologia da hanseníase indeterminada

A hanseníase indeterminada é a forma inicial da doença, que pode evoluir, espontaneamente, para a cura ou para as outras formas polares da hanseníase (tuberculóide ou virchowiana), ou ainda para a forma interpolar (forma dimorfa), de acordo com as características imunológicas do doente (OPROMOLLA e col., 2000).

Um dos fatores responsáveis pelo direcionamento para o padrão de citocinas tipo 1 é a IL-12, liberada após estimulação pelos antígenos bacterianos, pelas células apresentadoras de antígeno. Por outro lado, a liberação da citocina IL-10 promove inibição dos macrófagos, e bloqueia a produção de IL-12 por estas células, suprimindo a resposta Th-1 (JANEWAY e col., 2002).

A citocina imunossupressora IL-10 liberada pelos macrófagos inibe a proliferação de linfócitos TCD4⁺ e a liberação de citocinas (TNF- α e IFN- γ), inibindo a atividade macrófágica, havendo predomínio da resposta imune humoral ou Th-2 (OCHOA e col., 1996; GOULART e col., 2002). A liberação precoce do TGF- β , na ausência do IFN- γ , é essencial para o estabelecimento da evolução da hanseníase, ou seja, polarização para a resposta imune Th-2 e inibição da resposta Th-1 (GOULART e col.; 2002).

b) Imunologia da hanseníase tuberculóide

A hanseníase tuberculóide representa o pólo de resistência da hanseníase, caracterizada por potente resposta imunológica celular do hospedeiro, com liberação das citocinas Th-1 pelos linfócitos TCD4⁺, responsáveis pelo confinamento do bacilo e o aparecimento de poucas lesões clínicas. Os macrófagos parasitados pelo *M. leprae* na forma tuberculóide liberam as citocinas IL-2, TNF- α e IL-12 (SPELLBERG e col; 2001).

A IL-12 estimula células Natural Killer (NK) a liberarem IFN- γ , que por sua vez, ativa o macrófago, que vai liberar mais IL-12, mantendo forte a resposta Th-1 (FOSS, 1999; KIM e col.,2001).

O IFN- γ é produzido e liberado pelos linfócitos TCD4⁺ e células Natural Killer. Esta citocina estimula o macrófago a aumentar a produção de reativos intermediários do oxigênio (ROI) e do nitrogênio (RNI), no intuito de matar ou diminuir a proliferação do *M. leprae*. Também, o IFN- γ libera a enzima óxido nítrico sintetase, responsável pela produção do óxido

nítrico, que leva à destruição dos bacilos no interior dos macrófagos. Além disso, essa citocina exerce importante papel na inibição de células Th-2 (GOULART e col.; 2002; ALCAIS e col. 2005; SCOLLARD e col., 2006).

Garcia e colaboradores (2001) investigaram a função de uma glicoproteína transmembrana expressa pelos linfócitos T nas lesões de hanseníase, a SLAM (*Signaling Lymphocytic Activation Molecule*) que está relacionada ao direcionamento da resposta imunológica. Foi observada forte expressão de SLAM nas lesões de hanseníase tuberculóide, com estímulo de grande produção de IFN- γ e, conseqüentemente, forte resposta imune celular contra o *M. leprae*. Os pacientes virchowianos apresentam fraca expressão de SLAM nas lesões, o que está relacionado à incapacidade do linfócito T em responder aos antígenos micobacterianos.

O linfócito TCD4⁺ libera a IL-2, cuja função é a produção de clones de linfócitos T, mantendo a resposta Th-1. Paralelamente, estimula as células NK, com o objetivo de potencializar uma maior produção de IFN- γ (FOSS, 1999).

Na forma tuberculóide da doença, as citocinas IFN- γ , IL-2 e TNF- α são secretadas nas lesões, resultando em atividade fagocítica intensa dos macrófagos contra os bacilos (ROACH e col; 2002).

Belgaumkar e colaboradores (2007) mediram os níveis séricos de citocinas (IFN- γ e IL-6) em pacientes com hanseníase, previamente ao tratamento. Detectaram altos níveis de IFN- γ nos pacientes tuberculóides (imunoprotetor) e altos níveis de IL-6 nos virchowianos.

Os macrófagos liberam o TNF- α com a finalidade de estimular linfócitos TCD4⁺, mas também, ativar outros macrófagos e contribuir para a formação do granuloma tuberculóide. Macrófagos sob a influência dessas citocinas, juntamente com os linfócitos, formam o granuloma (KAUR e col., 2001; GOULART e col., 2002).

Portanto, na hanseníase tuberculóide, a forte resposta imunológica celular, representada pelos macrófagos, linfócitos TCD4⁺ e suas citocinas, contribui para manter a doença de forma localizada, e às vezes, eliminá-la (FOSS, 1999).

c) Imunologia da hanseníase virchowiana

A hanseníase virchowiana representa o pólo anérgico, multibacilar e contagiante da doença, caracterizada por deficiente resposta imunológica celular e exacerbação compensatória da resposta imune humoral com liberação das citocinas IL-4, IL-5, IL-10 e TGF- β . Nesta forma clínica, os macrófagos parasitados estimulam linfócitos Th-2 a produzirem e liberarem estas citocinas (OCHOA e col., 1996; ABULAFIA & VIGNALE, 1999).

A IL-4 está muito aumentada nas lesões de hanseníase virchowiana. É responsável por: a) estimular linfócitos B a produzir grande quantidade de anticorpos, principalmente anti-PGL-1; b) bloquear receptores de IL-2, inibindo a proliferação de linfócitos T; c) suprimir a atividade de macrófagos, por bloquear a função do IFN- γ nesta célula; d) inibir a produção de IL-1 β e TNF- α ; e) estimular os mastócitos a liberarem mais IL-4, aumentando a supressão macrofágica (FOSS, 1997; GOULART e col., 2002, ANTAS e col., 2004).

Os macrófagos liberam a citocina imunossupressora IL-10, muito encontrada nas lesões de hanseníase virchowiana. Esta citocina inibe a proliferação de linfócitos T e a liberação de citocinas TNF- α e IFN- γ , inibindo a atividade macrofágica. Tanto a IL-4 como a IL-10 inibem a ativação de macrófagos, favorecendo uma infecção progressiva na hanseníase (OCHOA e col., 1996; GOULART e col., 2002; SCOLLARD e col., 2006; BELGAUMKAR e col., 2007).

Ochoa e colaboradores (1996) mostraram que 91% dos pacientes virchowianos produzem IL-6, contrastando com apenas 33% dos tuberculóides. As citocinas padrão Th-2

sabidamente inibem a produção de citocinas padrão Th-1 (principalmente do IFN- γ) e vice versa, o que explica a significativa correlação negativa entre níveis séricos de IFN- γ e IL-6 em todos os pacientes com hanseníase. A IL-6, assim como a IL-10, representa uma molécula imunossupressora inibindo a ativação dos macrófagos que são os responsáveis pela destruição de patógenos intracelulares.

Os macrófagos também liberam um dos mais potentes imunossupressores, o TGF- β . Esta citocina bloqueia a ativação dos macrófagos, inibindo a produção do TNF- α . Também, inibe a ação bactericida dos produtos reativos do oxigênio e do nitrogênio (ROI e RNI) contribuindo para a permanência e multiplicação dos bacilos no interior dos macrófagos e estimula a proliferação dos linfócitos TCD8⁺ supressores, produtores das citocinas IL-4, IL-5 e IL-10, acentuando a supressão macrofágica (SAMPAIO & SARNO, 1998; FOSS, 1999; ADAMS e col., 2002; GOULART e col.; 2002).

Os linfócitos B são estimulados pelas citocinas IL-4 e IL-13 a produzirem grande quantidade de anticorpos contra o antígeno específico glicolípido-fenólico 1 (PGL-1, componente fosfolípido da parede celular do *M. leprae*) e contra os antígenos inespecíficos – lipoarabinomanana (LAM), encontrados em outras micobactérias, como o *M. tuberculosis* e as micobactérias atípicas (JACOBSON & KRAHENBUHL, 1999).

Em associação à ausência de imunidade celular específica, os pacientes virchowianos exibem resposta imune humoral com altos títulos de anticorpos contra o glicolípido-fenólico 1 (PGL-1). Esta resposta humoral não se associa com ativação macrofágica, embora exista grande quantidade de anticorpos na hanseníase virchowiana, estes são ineficazes no confinamento dos bacilos e na eliminação da doença (FOSS, 1997; GOULART e col.; 2002).

A falência da resposta imune celular na hanseníase virchowiana pode ser devida à baixa ativação de linfócitos T, à pequena liberação de citocinas ativadoras de macrófagos (IFN- γ e TNF- α), e ao funcionamento anormal dos macrófagos (GONZALEZ e col., 1999).

Portanto, a hanseníase virchowiana caracteriza-se por resposta imune celular deficiente, representada pelos níveis reduzidos de IL-2, IL-12 e IFN- γ , e uma resposta imune humoral compensatória, com o aumento da produção e liberação das citocinas IL-4, IL-5, IL-10 e TGF- β (ABULAFIA & VIGNALE, 1999; GOULART e col., 2002).

d) Imunologia da hanseníase dimorfa

A hanseníase dimorfa caracteriza-se pela instabilidade imunológica, onde o quadro clínico e os exames baciloscópicos e histopatológicos podem tender para o pólo de maior resistência imune, a forma dimorfa-tuberculóide (HDT), ao pólo de menor resistência imune, a forma dimorfa-virchowiana (HDV), e ainda uma forma intermediária as duas, a dimorfa-dimorfa (HDD), com tendência ao pólo multibacilar (JACOBSON & KRAHENBUHL, 1999).

As formas dimorfas do espectro da hanseníase são imunologicamente dinâmicas, ocorrendo oscilação entre as duas formas polares (MENDONÇA e col.; 2008).

Quimiocinas

As quimiocinas são proteínas de baixo peso molecular, com papel importante no recrutamento celular e estão envolvidas em muitos processos inflamatórios crônicos. Assim como as citocinas, essas proteínas têm papel fundamental na regulação do sistema imune. (SCAPINI e col., 2000; MENDONÇA e col., 2008).

As quimiocinas, pequenos polipeptídeos de 8 a 12 kDa contêm duas alças dissulfeto internas. Cerca de 50 quimiocinas foram identificadas e classificadas em quatro famílias com base no número e na localização dos resíduos de cisteína N-terminais. As duas principais famílias são: as quimiocinas CC, nas quais os resíduos de cisteína são adjacentes, e as CXC, na qual os resíduos são separados por um aminoácido. As quimiocinas CC atraem monócitos,

basófilos e linfócitos e as quimiocinas CXC são quimiotáticas para neutrófilos (CHARO & RANSOHOFF, 2006).

Atuam através de receptores transmembrana de alta afinidade expostos na superfície de células circulantes. Esses receptores possuem sítios de ligação que podem ser específicos, mas, geralmente, o mesmo receptor pode ser alvo de ligação de várias quimiocinas do mesmo grupo. Foram descritos onze receptores diferentes para as quimiocinas CC (chamadas CCR1 a CCR11) e seis para as quimiocinas CXC (chamadas CXCR1 a CXCR6). Os receptores, após serem ativados pelas quimiocinas, iniciam uma complexa cascata de sinalização que leva à ativação de integrinas na superfície celular, moléculas essenciais para que ocorra a adesão das células de defesa aos tecidos envolvidos nos processos inflamatórios (GONÇALVES e col.,2007).

As quimiocinas atuam na estimulação das células mononucleares que migram do sangue periférico para os tecidos, contribuindo para a resposta imune adaptativa e/ou na patogênese de várias doenças (CHARO & RANSOHOFF, 2006).

Quimiocinas na hanseníase

O papel das quimiocinas na hanseníase ainda não está bem esclarecido (MENDONÇA e col., 2008). Poucos estudos têm avaliado o perfil de algumas quimiocinas nas biópsias de pele de pacientes portadores de hanseníase, sendo encontrada correlação positiva entre o TNF- α e a CCL3/MIP-1 α nos pacientes paucibacilares, parecendo estar relacionado à formação do granuloma. Observou-se elevada expressão de CCL2/MCP-1 e CCL5/Rantes nos pacientes dimorfo-tuberculóides com reação reversa (KIRKALDYE e col., 2003).

Hasan e colaboradores (2006) observaram que a redução da expressão de CCL2 induzida por TNF- α nas culturas de células de pacientes virchowianos poderia contribuir para

a disseminação do bacilo. Lew e colaboradores (2002) observaram o aumento dos níveis séricos de CCL2 nos pacientes virchowianos.

Mendonça e colaboradores (2007) demonstraram o potencial da quimiocina eotaxina/CCL11 como marcador biológico na hanseníase. Os pacientes com hanseníase apresentaram aumento dos níveis plasmáticos da eotaxina/CCL11 em comparação com indivíduos não infectados e sugeriram que a sua dosagem poderá ser utilizada como recurso para o diagnóstico da doença.

RECIDIVA DA HANSENÍASE

Conceito

Recidiva da hanseníase é o reaparecimento de sinais e sintomas da doença, após o paciente ter recebido tratamento regular, preconizado pelo Ministério da Saúde e alta por cura, desde que afastada a possibilidade de reação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2000).

Fatores desencadeantes de recidiva

A recorrência da hanseníase pode acontecer devido à:

a) **Persistência do *Mycobacterium leprae*** é a capacidade do bacilo sobreviver no hospedeiro, apesar do tratamento quimioterápico adequado. Qualquer que seja o esquema de tratamento existe a possibilidade de sobrevivência e viabilidade dos chamados bacilos persistentes, mesmo após a negatividade baciloscópica observada em esfregaços ou mesmo biópsias cutâneas (JI & GROSSET, 1990). Essas formas viáveis do *M. leprae* podem sobreviver por muitos anos, sendo consideradas formas fisiologicamente dormentes (SEHGAL e col., 1996; GUPTA & KATOCH, 1997)

Acredita-se que os nervos sejam locais imunologicamente protegidos, sendo sítios favoráveis para a multiplicação de bacilos sólidos e viáveis. Tal fato foi demonstrado a partir de estudos histopatológicos comparando o acometimento neural com o cutâneo. Após quimioterapia prolongada, as lesões de pele caracterizaram-se pela ausência de bacilos, enquanto no nervo, alguns bacilos permaneciam viáveis, podendo ser causa de recidiva tempos após o término da terapia (SHETTY e col., 1992; LAS AGUAS, 1997; BARRETO e col., 2006).

Tanto nos indivíduos multibacilares quanto nos paucibacilares, os bacilos são englobados por células com capacidade fagocítica. Assim, principalmente nos multibacilares, nas fases ativas da infecção, os bacilos são encontrados no endotélio vascular, músculos eretores, na bainha epitelial do pêlo, parede muscular de vasos sanguíneos e em especial em ramos nervosos, provavelmente no interior de células de Schwann, que podem ser sede de bacilos persistentes (DESIKAN, 1995; JOB, 1995).

Algumas localizações viscerais são mais propícias à sobrevivência e proliferação bacilar, como mucosa nasal, laringe e testículos. Nestes locais, os bacilos podem permanecer relativamente protegidos da ação imunocelular, voltando a proliferar, estimulando a reatividade inflamatória e definindo recidivas após o tratamento (TRIFILIO, 1991).

A persistência microbiana é resultante de processo adaptativo, alguns bacilos reduzem seu metabolismo assumindo estado de dormência que coincide com a falta de susceptibilidade de ação da droga (TOMAN, 1981).

Em torno de 10% dos bacilos podem persistir nos pacientes com maior carga bacilar, mesmo após utilização de esquema poliquimioterápico corretamente, portanto, pensa-se numa possível causa, justificando a recidiva da doença (GALLO & OLIVEIRA, 1997).

b) Resistência do *Mycobacterium leprae* – pode acontecer por mutação espontânea do alvo da droga e transmitida posteriormente para pacientes que nunca fizeram uso de drogas

hansenostáticas. Resistência às drogas utilizadas na terapia da hanseníase envolve a substituição de um aminoácido no sítio de ligação das drogas (OLIVEIRA, 1997).

A resistência à droga pode ser determinada pelo seqüenciamento de regiões do DNA do *M. leprae*, alvo de drogas, através de técnicas da biologia molecular (MATSUOKA e col.,2007).

c) Reinfecção na hanseníase – embora de difícil comprovação científica, essa hipótese não deve ser esquecida. Tais dificuldades decorrem da impossibilidade de se cultivar o *M. leprae*. Contatos intradomiciliares, que adoeceram após a alta do paciente, podem ser fonte de bacilos, possibilitando o processo de reinfecção (MAGANJEET, 1996; BRITO e col., 2005; LINDER e col.,2008).

Alguns autores consideram que a reinfecção é uma causa de recidiva na hanseníase. Esta idéia pode ser aceita visto que a definição de recidiva segundo Rey (2003) inclui o reaparecimento da doença também por reinfecção exógena.

d) Imunossupressão – a associação das infecções pelo *M. leprae* e do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) não é inteiramente compreendida. Sabe-se que a incidência de hanseníase não é aumentada em pacientes infectados pelo HIV (ANDRADE e col., 1996; OPROMOLLA, 2000; TALHARI e col., 2007).

Apesar da controvérsia entre alguns autores, sabe-se que a infecção pelo HIV pode desencadear a hanseníase em pacientes com infecção subclínica pelo *M. leprae*, podendo o HIV levar à reativação endógena do bacilo (MILLER, 1991; SEHGAL e col, 1996; SCOLLARD e col., 2006; TALHARI e col., 2008).

e) Gravidez e lactação – são períodos de modificações hormonais na mulher, que podem desencadear o retorno da hanseníase por alterarem a imunidade celular (RAMU, 1995; LYDE, 1997; JAMIESON, 2006).

As alterações hormonais da gravidez causam diminuição da imunidade celular, fundamental na defesa contra o *M. leprae*. Portanto, é comum que os primeiros sinais de hanseníase, em uma pessoa já infectada, apareçam durante a gravidez e no puerpério, quando também podem ocorrer os estados reacionais e as recidivas (DUNCAN e col., 1981; SINGH & PERFECT, 2007).

f) Formas multibacilares avançadas – Oliveira e col. (2002) e Norman e col. (2004) citaram que o maior risco para o reaparecimento da doença é o paciente com carga bacilar inicial maior ou igual a quatro e final maior que dois ou três.

g) Fatores operacionais estão relacionados ao diagnóstico tardio, terapia inadequada por erro de classificação clínica e irregularidade de tratamento. Alguns pacientes ingerem apenas a rifampicina da dose mensal supervisionada e não fazem uso da medicação diária: dapsona e/ou clofazimina. Esse fato pode explicar casos de terapia insuficiente (RAMU, 1995; OLIVEIRA, 1997).

Las Águas (1997) define que o termo “recidiva” é o reaparecimento da doença após um correto tratamento, e não deve ser confundida com casos de terapia irregular, abandono ou tratamento feito com doses insuficientes.

h) Outro fator associado: nematóides intestinais - após estudos realizados no Núcleo de Doenças Infecciosas (NDI) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Diniz e colaboradores (2001) demonstraram maior frequência de infecção por nematóides intestinais em pacientes com hanseníase quando comparados aos controles, sendo esta relação mais significativa nas formas multibacilares.

Os nematóides intestinais estimulam forte resposta imune Th-2 ou humoral, evidenciada por aumento de IgE no sangue, eosinofilia circulante e tecidual e mastocitose tecidual (COOPER e col., 2000).

A resposta imune induzida pelos nematóides intestinais é direcionada pelas células tipo Th-2, as quais produzem e liberam IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, citocinas reconhecidamente supressoras da resposta imune Th-1 (COOPER e col., 2000).

A presença de nematóides intestinais cronicamente no homem pode desencadear hiperativação imunológica contínua, levando ao desequilíbrio do sistema imune (KALINKOVICH e col., 1998). Esta alteração imunológica levaria à resposta imune celular reduzida ou à anergia, podendo aumentar a suscetibilidade a infecções, tais como: tuberculose, hanseníase, HIV, ou à evolução mais rápida ou grave destas infecções (BORKOW e col., 2000).

Diniz e colaboradores (*submetido*) avaliaram a produção de citocinas por células mononucleares do sangue periférico e observaram que os pacientes hansenianos com nematóides intestinais apresentaram menor produção de IFN- γ e maior produção de IL-4 e IL-10, quando comparados aos hansenianos sem parasitas intestinais, favorecendo a idéia do direcionamento da resposta imune para Th-2 no primeiro grupo.

A hanseníase e a presença de nematóides intestinais são situações que interferem na resposta imune do hospedeiro. Se mesmo após a alta por cura da hanseníase, alguns bacilos permanecerem, será que a reinfestação por nematóides intestinais, durante o período após o tratamento da hanseníase, ao alterar a resposta imunológica, seria mais um fator a ser considerado para explicar o reaparecimento da doença?

Crêterios clínicos e laboratoriais para o diagnóstico de recidiva

Na suspeita de recidiva da hanseníase o paciente deve ser investigado através da história clínica, exame dermatológico detalhado, exame de nervos periféricos (teste de incapacidade), coleta de baciloscopia ( ndice morfológico e quantitativo dos bacilos), biópsia de lesão, e se possível, inocula o de material obtido de lesão, no coxim plantar de camundongo e/ou extra o e seqüenciamento de regiões alvo de drogas do *M. leprae* (GEBRE e col., 2000).

O Ministério da Saúde (2000) adota os seguintes critérios de suspeita para a recidiva de hanseníase:

1) Pacientes paucibacilares apresentam novas lesões cutâneas e/ou acometimento de nervos periféricos, após tratamento regular, alta por cura, e um período de incuba o. Nestes casos se faz necessário o diagnóstico diferencial com a rea o reversa, onde esta regride após a utiliza o de corticoterapia sist mica com doses e tempo adequados, e as lesões de recidiva permanecem inalteradas.

2) Pacientes multibacilares apresentam novas lesões cutâneas e/ou acometimento de nervos periféricos, após tratamento regular, alta por cura, e um período de incuba o. Assim como, pacientes que nunca desencadearam quadros reacionais (eritema nodoso, rea o reversa) durante o tratamento, mas o fazem após três anos da alta por cura, ou que se mant m nestes estados durante cinco anos após receberem alta por cura. Ou que a baciloscopia e/ou exame histopatológico evidenciem bacilos íntegros.

A ocorrência de manifesta es reacionais após o término do esquema poliquimioterápico preconizado   bastante freqüente, e referida por vários autores. Ocorre principalmente nos primeiros anos após a alta terapêutica e exige diagnóstico diferencial com recidiva (KATOCH, 1995; BRITO e col, 2005).

As reações geralmente ocorrem durante o tratamento ou nos primeiros três anos após a poliquimioterapia, diminuindo seu aparecimento de forma gradativa. Becx-Bleumink & Berhe (1992) afirmaram que o risco de reação após término do tratamento é maior durante o primeiro ano, particularmente durante os seis primeiros meses. Reação reversa tardia e eritema nodoso raramente ocorrem depois de cinco anos de término da poliquimioterapia, nestes casos deve-se pensar e investigar a recidiva da doença (LINDER e col., 2008).

A resposta às drogas anti-reacionais nos casos diagnosticados como reação é bastante favorável, portanto, o critério resposta aos esteróides é relevante para conclusão final diagnóstica entre reação reversa e recidiva (GALLO & OLIVEIRA, 1997).

Devido à possibilidade de dúvida diagnóstica entre a reação reversa e a recidiva nos casos paucibacilares, o Ministério da Saúde (2002) orientou a adoção das características observadas na tabela 1 para definir o caso.

Período de incubação da recidiva da hanseníase

O período entre a alta terapêutica por cura e o reaparecimento da doença é bastante variável de acordo com a literatura. Pode acontecer mais precocemente, nos casos de terapia inadequada, ou mais tardiamente, favorecendo a hipótese de reativação de bacilos persistentes ou reinfecção (ABDUL, 2000; GIRDHAR e col., 2000).

Os casos paucibacilares freqüentemente recidivam após três anos e os casos multibacilares após nove anos da alta terapêutica por cura (RAMU, 1995).

Tabela 1: Diagnóstico diferencial entre recidiva e reação reversa, descrito no Guia para controle da hanseníase, pelo Ministério da Saúde (2002).

Características	Reação reversa	Recidiva
Intervalo de tempo	Ocorre geralmente durante a quimioterapia ou dentro de seis meses depois de completado o tratamento.	Ocorre normalmente muito depois do término da quimioterapia, em geral, depois de um ano.
Aparecimento	Súbito e inesperado.	Lento e insidioso.
Distúrbios sistêmicos	Pode aparecer febre e mal estar.	Geralmente, sem febre e mal estar.
Lesões antigas	Algumas ou todas se tornam eritematosas, brilhantes e consideravelmente infiltradas.	Algumas com bordas eritematosas.
Lesões novas	Em geral, várias.	Poucas, exemplo: hansenomas, placas, etc.
Ulceração	Muitas vezes as lesões pioram e ulceram-se.	Raramente há ulceração.
Regressão	Com descamação.	Não há descamação.
Envolvimento dos nervos	Muitos nervos podem estar envolvidos rapidamente, ocorrendo dor, alteração da sensibilidade e perturbação motora.	Pode ocorrer em um único nervo. Perturbações motoras ocorrem muito lentamente.
Resposta a corticosteróide	Excelente.	Discreta.

Taxa de recidiva da hanseníase

A Organização Mundial de Saúde (1994) estimou que 0,77% dos casos multibacilares e 1,07% dos casos paucibacilares reapareceram com a hanseníase após a alta por cura terapêutica (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2000). Esta taxa varia muito dependendo do estudo e dos autores, observando-se que as taxas dos casos paucibacilares são mais altas que as dos multibacilares, devendo-se provavelmente à ocorrência de erros de classificação no momento do primeiro diagnóstico. (OLIVEIRA e col., 2002).

Não há uma homogeneidade na definição das taxas para recidiva da hanseníase, razão pela qual fica difícil a comparação de resultados de diferentes estudos.

Becx-Bleumink (1992) e Chen e colaboradores (1999) definiram a taxa de recidiva como sendo o número de pacientes que recidivam em relação ao número de pacientes curados ou liberados da medicação por ano de acompanhamento, sendo a taxa expressa em termos de pacientes recidivados-ano. Porém, poucos estudos aplicam esta taxa para o cálculo de recidiva da hanseníase.

Em 1995, Daumerie e Pannikar sugeriram que quando o número relativo de recidiva exceder a 1%, os casos devem ser confirmados e recomenda-se a realização de estudos de coortes. Estes autores propuseram três indicadores epidemiológicos (duas taxas e um risco cumulativo) que podem ser utilizados no estudo de recidiva da hanseníase. Estes autores utilizaram as seguintes definições para as taxas e para o risco cumulativo:

(a) Taxa bruta de recidiva = n° recidivas/ n° total de pacientes que completaram a PQT na época da análise X 100. O resultado é dado em percentagem. Apresenta como vantagem refletir uma dada situação num período de tempo, podendo ser utilizada como parâmetro indicativo de estudos elaborados. A desvantagem é não mostrar a evolução do risco para a recidiva, no decorrer do tempo, tendo um denominador grande e mal definido.

(b) Taxa pessoas-ano de recidiva = n° de recidivas X 1000/ n° de pessoas-ano do acompanhamento. Sua vantagem é considerar o tempo de acompanhamento dos indivíduos curados, refletindo melhor o risco de recidiva no período. Sua desvantagem é poder subestimar o risco de recidiva, quando não considera os pacientes perdidos no acompanhamento, ao estabelecer que todos foram revistos num tempo determinado, ou que os não observados não recidivaram.

(c) Risco cumulativo de recidiva, calculado por métodos estatísticos, tais como regressão de Cox e Kaplan Meier. Tem como vantagem expressar a probabilidade de recidiva

de um indivíduo e prever o risco de recidiva a cada determinado ponto do período do estudo. Tem como desvantagens requerer a observação de doentes por longo período de tempo, anotações sobre o início, final e término do tratamento, sendo difícil a inclusão dos pacientes perdidos durante o acompanhamento das coortes.

Aspectos imunológicos da recidiva da hanseníase

Poucos são os relatos sobre a imunologia da recidiva da hanseníase. Na década de 90, alguns trabalhos tentaram explicar a mudança da forma clínica da hanseníase nos pacientes com recidiva da doença, levando-se em consideração aspectos imunológicos envolvidos nesse processo. A alteração da resposta imune está associada com o desenvolvimento das formas clínicas distintas, em que o predomínio da resposta celular está relacionado à forma tuberculóide, e a resposta predominantemente humoral com deficiente resposta imunológica celular caracterizam a forma virchowiana (MENDONÇA, 2008).

Waters & Ridley em 1990 descreveram o caso de seis pacientes inicialmente virchowianos que vários anos após a poliquimioterapia e negativação do índice baciloscópico recidivaram apresentando a forma clínica dimorfa-tuberculóide. Para esses autores, a modificação da forma clínica em direção ao pólo tuberculóide, foi associada à resposta imunológica de resistência Th-1 (celular), referindo-se a uma reação reversa tardia e não necessariamente à recidiva da doença. Porém, o papel das reações nesse processo de melhoria da imunidade é questionável.

Em 1993 Saunderson & Waddell descreveram dois casos de pacientes virchowianos que recidivaram vários anos após término da poliquimioterapia e alta por cura apresentando a forma clínica dimorfa-tuberculóide. Ao exame dermatológico desses pacientes não se visualizava edema e eritema nas lesões e a avaliação dos nervos periféricos, não evidenciou dor ou déficit motor, características de quadros reacionais. Portanto, para esses autores os

pacientes não apresentavam quadro clínico compatível com reação reversa, assumindo que se tratava de recidiva da doença com modificação das formas clínicas.

Sengupta (1995) foi o que mais abordou sobre os aspectos imunológicos na recidiva da hanseníase. Descreveu que quando um paciente dimorfo–virchowiano ou virchowiano–virchowiano, recidiva apresentando as formas clínicas tuberculóide- tuberculóide ou dimorfa-tuberculóide significa que houve incremento da resposta imune celular, com ascensão dos níveis de IL-2, IFN- γ e anticorpos tipo IgG2. Quando ocorre o contrário, há predomínio da resposta imune Th-2 proporcionando aumento dos níveis de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e de anticorpos tipo IgG1, esperando-se diminuição de IL-2 e IFN- γ .

Terapia na recidiva da hanseníase

O Ministério da Saúde recomenda no caso de confirmação de recidiva da hanseníase devem ser reutilizados os esquemas poliquimioterápicos padrão paucibacilar e multibacilar, de acordo com a forma clínica do paciente, pois até o momento são raros os casos de retorno da doença por resistência medicamentosa (OLIVEIRA, 1997).

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Caracterizar clinicamente os casos de recidiva da hanseníase no Estado do Espírito Santo, dando ênfase aos aspectos imunológicos dos pacientes recidivados.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1 – Determinar a frequência da recidiva da hanseníase no Estado do Espírito Santo.
- 2 – Correlacionar os fatores desencadeantes com o aparecimento da recidiva da hanseníase.
- 3 – Avaliar os níveis de citocinas Th-1 e Th-2 (TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10) nas amostras do sangue periférico de pacientes com recidiva da hanseníase.
- 4 – Avaliar os níveis séricos das quimiocinas (CCL2/MCP-1, CCL10/IP-10, CXCL9/MIG, CCL5/RANTES e CXCL8/IL-8) nos pacientes com recidiva da hanseníase.

MÉTODOS

Pacientes

Os pacientes suspeitos de recidiva foram encaminhados dos diversos municípios do Estado do Espírito Santo ao Serviço de Dermatologia da Santa Casa de Misericórdia de Vitória para avaliação clínica e laboratorial, no período de março de 2006 a janeiro de 2009.

No caso da confirmação de recidiva da hanseníase, os pacientes foram convidados a participar da pesquisa e se aceitassem, assinavam o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE – ANEXO1) para a realização dos exames: dermatológico, baciloscopias de linfa, biópsia de lesão de pele para estudo histopatológico, teste sorológico (*ML Flow*), coleta de soro para estudo das citocinas e quimiocinas no sangue periférico e preenchida ficha detalhada do caso.

Métodos

Critérios de elegibilidade de pacientes

a) Pacientes com sinais e sintomas clínicos de hanseníase paucibacilar e multibacilar, que foram submetidos aos esquemas terapêuticos oficiais no país: DDS (Diamino-Difenil-Sulfona), DNDS (esquema da Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária), PQT (Poliquimioterapia) e ROM (Rifampicina, Ofloxacina, Minociclina), tratados regularmente e que receberam alta terapêutica por cura.

b) Pacientes na condição acima, que aceitassem participar do estudo e pudessem ser acompanhados por um ano no Centro de Referência Estadual em Hanseníase.

c) Os pacientes nas condições anteriores, que apresentassem critérios de diagnóstico clínico de recidiva na Unidade de Referência do estudo.

d) Pacientes maiores de 15 anos de idade.

Os critérios clínicos para suspeição de recidiva eram:

Formas Paucibacilares:

- a) Surgimento de lesões novas (pele e nervos) e/ou piora de lesões residuais antigas, após três anos da alta.
- b) Aparecimento de Reação Reversa (RR), cutânea e/ou neurite, após três anos da alta por cura.
- c) Manutenção das reações reversas, mas com reativação após a redução do corticosteróide com retirada lenta, após três anos da alta por cura.
- d) Correlação clínico-histopatológica: presença de granulomas típicos com células epitelióides, em lesões ativas, em pacientes que tiveram regressão total das lesões; ou presença de raros bacilos íntegros.

Formas Multibacilares:

- a) Surgimento de lesões novas (pele e nervos) e ou exacerbação de lesões residuais antigas, após a alta por cura.
- b) Manutenção ou agravamento de reação (Tipo I e Tipo II) após cinco anos da alta; que não responderem ao tratamento com corticosteróide e/ou talidomida.
- c) Exame baciloscópico com bacilos íntegros.
- d) Aumento de 2+ do índice baciloscópico (em qualquer sítio) em relação ao índice baciloscópico da alta, quando houver.
- e) Correlação clínico-histopatológica: macrófagos xantomizados; bacilos íntegros;
- f) Correlação sorológica: teste sorológico rápido *ML Flow* >1+.

Crêterios de sele o de controles

O grupo controle foi composto por pacientes sem hanseníase, porém com história pregressa da doença, diagnosticados, tratados regularmente e que receberam alta por cura, no mesmo período em que os casos no primeiro diagnóstico.

A sele o dos controles foi realizada através do Sistema Nacional de Informa o de Agravos de Notifica o Compulsória (SINAN). A partir de cada caso de recidiva, eram levantados no SINAN da Secretaria de Estadual de Saúde, casos curados da mesma coorte de tratamento para sorteio dos controles, utilizando os critérios de pareamento abaixo:

- a) Mesmo ano de entrada no sistema;
- b) Mesmo município de residência;
- c) Mesma classifica o operacional (PB/MB);
- d) Pacientes que receberam alta por cura;
- e) Pacientes maiores de 15 anos de idade;
- f) Pacientes na condi o acima, que aceitassem participar do estudo.

Foram sorteados três controles para cada caso, de modo a garantir a segunda ou terceira chance de investiga o, caso não fosse possível localizar o primeiro. Outra ressalva foi feita para Municípios pequenos, onde o caso de recidiva poderia ser o único da sua coorte de tratamento. Nessa situa o, poderiam ser selecionados casos de um Município vizinho, na mesma micro-região. Nas áreas de fronteira, deveria ser aventada a possibilidade de se avaliar o controle, mesmo em outro Estado.

Avalia o dos controles: os pacientes selecionados como grupo controle eram convidados a participar da pesquisa e se aceitassem, assinavam o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE – ANEXO2) e eram submetidos   avalia o clínica criteriosa. A partir de um exame dermatológico detalhado, verificava-se se o paciente preenchia ou não critérios clínicos para diagnóstico de recidiva. Caso não era incluído como controle sendo

realizado o teste sorológico rápido (teste de fluxo lateral - *ML-Flow*). Se o paciente apresentasse clínica de recidiva era classificado como caso e submetido ao protocolo (ANEXO 3).

Procedimentos

Registro do exame clínico e inclusão no estudo

Após avaliação clínica e conclusão diagnóstica de recidiva de hanseníase era preenchida a ficha completa do estudo. Caso o paciente tivesse sido tratado em outra unidade de saúde solicitava-se a ficha de notificação e o prontuário no arquivo central do Município ou do Estado.

As lesões eram fotografadas, incluindo o local da biópsia e arquivadas numa pasta.

Exame dermatológico

O exame dermatológico consistiu da observação de todo o tegumento, para evidenciar lesão de pele ou sua ausência, diagnosticando respectivamente, os doentes com lesão ativa de hanseníase.

No diagnóstico clínico de recidiva de hanseníase eram avaliados: número, extensão, características dermatológicas e localização das lesões. O teste de sensibilidade térmica era realizado com um algodão embebido em éter (frio) e outro seco (quente), para evidenciar a diminuição da sensibilidade térmica nas lesões.

Os principais nervos periféricos (facial, auricular, ulnar, radial, mediano, fibular e tibial posterior) eram palpados para avaliação do seu comprometimento (espessamento, dor, choque, etc.), refletindo o grau de incapacidade do paciente.

Os pacientes com lesão ativa de hanseníase eram classificados clinicamente nas formas: indeterminada, tuberculóide, dimorfa e virchowiana, seguindo-se as classificações

vigentes: Ridley Jopling e também a recomendação do Guia de Controle da Hanseníase da Coordenação Nacional de Dermatologia Sanitária do Ministério da Saúde (1994), avaliando-se as lesões e nervos periféricos. Tais classificações orientam:

1. Hanseníase indeterminada (HI)

Caracterizada por manchas hipocrômicas, com alteração de sensibilidade, ou simplesmente por áreas de hipoestesia na pele. As lesões são em pequeno número (até cinco) e podem se localizar em qualquer área da pele, mas principalmente em áreas expostas.

Não há comprometimento de troncos nervosos nesta forma clínica. A pesquisa de bacilos na linfa revela-se negativa.

A HI é considerada a primeira manifestação clínica da hanseníase e, após período de tempo que varia de poucos meses até anos, ocorre evolução para cura ou para outra forma clínica.

2. Hanseníase tuberculóide (HT)

Caracterizada por lesões bem delimitadas, com bordas discretamente elevadas, em número reduzido (até cinco) e de distribuição assimétrica. As lesões são eritematosas, eritemato-hipocrômicas ou eritemato-escamosas, em placas ou anulares com bordas papulosas, bem definidas externamente.

O comprometimento da sensibilidade varia desde hipoestesia até anestesia térmica, dolorosa e tátil. O acometimento de nervos é freqüente e geralmente de forma assimétrica. A baciloscopia encontra-se negativa.

Observa-se também a forma neural pura, não se encontram lesões cutâneas, mas sim espessamento do tronco nervoso e dano neural.

3. Hanseníase dimorfa (HD)

Caracterizada por instabilidade imunológica, havendo grande variação em suas manifestações clínicas, seja na pele, nos nervos, ou no comprometimento sistêmico. As lesões da pele em número e morfologia mesclam aspectos de HV e HT, podendo haver predominância ora de um, ora de outro tipo. Seu caráter instável faz-se assemelhar com as lesões bem delimitadas da hanseníase tuberculóide e/ou com as lesões disseminadas da hanseníase virchowiana. Compreendem placas eritematosas, eritemato-violáceas, edematosas, infiltradas, brilhantes, escamosas com contornos internos bem definidos e externos mal definidos, centro deprimido, hipocrômico ou com coloração de pele normal.

Apresentam hipoestesia ou anestesia. A infiltração assimétrica da face e dos pavilhões auriculares são elementos sugestivos desta forma clínica. As lesões neurais são precoces, assimétricas e, com frequência, levam a incapacidades físicas. A pesquisa de bacilos na linfa pode ser negativa ou positiva com índice bacilar variável, dependendo para qual pólo mais se assemelha.

4. Hanseníase virchowiana (HV)

Admite-se que a HV possa evoluir a partir da forma indeterminada ou se apresentar como tal desde o início. Sua evolução crônica caracteriza-se pela infiltração progressiva e difusa da pele, mucosas das vias aéreas superiores, olhos, testículos, nervos, podendo afetar, ainda, os linfonodos, o fígado e o baço. Na pele, descrevem-se numerosas lesões eritematosas, eritemato-acastanhadas, ferruginosas, infiltradas, brilhantes, coalescentes, mal definidas e de distribuição simétrica, além de pápulas e nódulos.

A infiltração é difusa e mais acentuada na face e nos membros. A pele torna-se xerótica, com aspecto apergaminhado. Há rarefação dos pêlos nos membros, cílios e supercílios (madarose). A infiltração da face, dos pavilhões auriculares, e a madarose, forma o

quadro conhecido como fácies leonina. São sinais precoces de HV, a obstrução nasal, rinorréia serossangüinolenta e edema de membros inferiores.

O acometimento de troncos nervosos e os distúrbios sensitivos cutâneos estão presentes, mas não são tão precoces e marcantes como nas lesões tuberculóides. A HV apresenta baciloscopia fortemente positiva e representa nos casos virgens de tratamento, importante foco infeccioso ou reservatório da doença.

No estudo adotou-se também, a classificação operacional estabelecida pela Organização Mundial de Saúde em 1982, que se baseia em critérios para fins de tratamento, dividindo os pacientes de hanseníase em paucibacilares aqueles que apresentam até cinco lesões cutâneas e em multibacilares aqueles com mais de cinco lesões cutâneas (SOUZA, 1997).

Exames laboratoriais

Baciloscopias

A baciloscopia é realizada para pesquisar a presença ou não dos bacilos, respectivamente, nos casos multibacilares (hanseníase dimorfa-dimorfa, hanseníase dimorfa-virchowiana e hanseníase virchowiana) e nos casos paucibacilares (hanseníase indeterminada, hanseníase tuberculóide e hanseníase dimorfa-tuberculóide).

Para a realização de exame baciloscópico foi seguida a técnica padronizada pela Coordenação Nacional de Dermatologia Sanitária do Ministério da Saúde (1989), que recomenda coleta de linfa em quatro sítios cutâneos: dois lóbulos e duas lesões (no caso de lesão única coletar do cotovelo), com lâmina de bisturi, estéril, descartável, após isquemia dos locais. A linfa foi colocada em lâmina estéril de vidro, fixada em bico de Bunsen, submetida à coloração pelo método de Ziehl-Neelsen e lida por técnico treinado nesta função. A leitura obedeceu ao índice baciloscópico de Ridley (1962) representada pela escala logarítmica, com avaliação quantitativa dos bacilos, representada na tabela 2.

Tabela 2 – Índice baciloscópico de Ridley (IB)

IB = 0	→ Não há bacilos em nenhum dos 100 campos examinados.
IB = 1+	→ 1 a 10 bacilos em 100 campos examinados.
IB = 2+	→ 1 a 10 bacilos em 10 campos examinados (11 a 99 bacilos em 100 campos).
IB = 3+	→ 1 a 10 bacilos em cada campo examinado (100 a 999 bacilos em 100 campos).
IB = 4+	→ 10 a 100 bacilos, em média, em cada campo examinado.
IB = 5+	→ 100 a 1000 bacilos, em média, em cada campo examinado.
IB = 6+	→ Mais de 1000 bacilos, em média, em cada campo examinado.

Também, foi avaliado o índice morfológico dos bacilos. Estes podem se apresentar como: bacilos isolados, bacilos agrupados, bacilos em globias, bacilos íntegros, e ainda bacilos granulados ou fragmentados. Estes últimos representam bacilos mortos geralmente pela medicação.

Biópsia de lesão: com punch de 4 mm, para estudo histopatológico.

O fragmento para estudo histopatológico foi fixado em formol a 10% e encaminhado ao laboratório, para inclusão em parafina e obtenção de cortes, que eram corados pelos métodos de rotina para o estudo da hanseníase: hematoxilina-eosina e Fite-faraco para identificação de bacilos.

Exame parasitológico de fezes

Todos os pacientes coletaram fezes para a realização do exame parasitológico em três amostras pelo método de sedimentação - Lutz, Kato-Katz e Baerman (PEREIRA-JÚNIOR, 2002). As fezes coletadas foram acondicionadas em recipiente plástico estéril com tampa e transportadas para o laboratório, onde foram examinadas no mesmo dia, por técnico treinado.

Teste Rápido *MLFlow*: é um teste para detecção de anticorpos contra o componente da parede celular (glicolípido fenólico-1 ou PGL-1) do *M. leprae*, identificados no soro ou no sangue humanos.

O teste é composto de um cartucho plástico retangular, achatado, com cerca de oito centímetros de comprimento, um centímetro e meio de largura e meio centímetro de espessura. Em uma das extremidades apresenta receptáculo redondo, onde se coloca o soro ou sangue do paciente. No centro do cartucho encontra-se uma abertura chamada de zona de teste e identificada com as letras T (teste) e C (controle). Na área onde se coloca a amostra, há o anticorpo marcado pelo reagente de detecção que é feito de partículas móveis de ouro coloidal rotuladas com IgM Anti-humana. Na outra extremidade da fita de nitrocelulose, os líquidos são absorvidos devido à presença de um papel de filtro, que facilita o fluxo do teste.

Para realização do teste, 50 µl de sangue dos pacientes foram colhidos após punção digital com lanceta descartável e foi adicionado 130 µl de solução tampão, em um receptáculo para amostras. O líquido foi absorvido, passando pelas linhas do antígeno e do controle negativo.

O reagente de detecção se ligará aos anticorpos IgM na amostra, e o substrato se deslocará pela membrana porosa até a zona do teste. Nos casos positivos, o anticorpo se ligará ao antígeno e uma segunda linha aparecerá na zona teste. Nos casos negativos, na ausência de anticorpo IgM específico ao *M. leprae*, não será observada a segunda linha na zona teste. De acordo com a intensidade da pigmentação na linha teste é que se quantifica a positividade em 1+, 2+, 3+ e 4+.

Quantificação dos níveis de citocinas e quimiocinas

Aproximadamente 30 ml de sangue foram coletados de cada paciente no momento do diagnóstico de recidiva, antes de ter sido iniciado o tratamento poliquimioterápico, utilizando-

se tubos VACUTAINER contendo EDTA. Os níveis de citocinas (IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10) e quimiocinas (CCL2/MCP-1, CCL10/IP-10, CXCL9/MIG, CCL5/RANTES e CXCL8/IL-8) foram quantificados em amostras de sangue periférico coletadas antes do início do tratamento dos pacientes com recidiva da hanseníase. A determinação dos níveis de citocinas e quimiocinas presentes nessas amostras foi realizada através do ensaio com Microesferas Fluorescentes utilizando Citometria de Fluxo – BDTM *Cytometric Bead Array* (CBA) com o kit para citocinas humanas Th1/Th2 (*Human Th1/Th2 Cytokine Kit* BD Biosciences, San Jose, CA, USA) e o kit para Quimiocinas humanas (*Human Chemokine Kit* - BD Biosciences, San Jose, CA, USA). O ensaio foi realizado de acordo com o protocolo proposto pelo fabricante modificado como descrito a seguir.

Alíquotas das amostras foram descongeladas em banho-maria a 37°C e centrifugadas a 14.000 rpm por 10 minutos e reservadas. Uma mistura das esferas de captura conjugadas com anticorpos monoclonais anti-IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, TNF- α e IFN- γ (*Human Th1/Th2 Cytokine CBA Kit*) foi preparada no volume desejado e, posteriormente, alíquotas de 15 μ l dessa mistura foram adicionadas em tubos de poliestireno de 12 x 75mm. Em seguida, foram acrescentadas alíquotas de 25 μ l de padrões previamente preparados em diluições seriadas com diluente G (*Human Th1/Th2 Cytokine CBA Kit*) nas concentrações 5000pg/ml (1:1), 2500pg/ml (1:2), 1250pg/ml (1:4), 625pg/ml (1:8), 312,5pg/ml (1:16), 156pg/ml (1:32), 80pg/ml (1:64), 40pg/ml (1:128) e 20pg/ml (1:256). Uma alíquota de 25 μ l contendo apenas o diluente G foi utilizada como controle negativo da reação. Vinte e cinco microlitros do sobrenadante de cultura foram coletados e transferidos para os mesmos tubos. Por último, foram adicionados 18 μ l do reagente de detecção – uma mistura de anticorpos monoclonais anti-citocinas humanas, conjugados com o fluorocromo PE (reagente B – *Human Th1/Th2 Cytokine CBA Kit*) e os tubos foram homogeneizados e incubados por 90 minutos a

temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após a incubação, as esferas de captura foram lavadas com 500 µl de tampão de lavagem F (*Human Th1/Th2 Cytokine CBA Kit*), centrifugadas a 600 x g, por 7 minutos a 18°C, o sobrenadante cuidadosamente aspirado e descartado. Após centrifugação, as esferas foram ressuspensas em 250 µl de reagente F e imediatamente adquiridas no citômetro de fluxo FACSort™ (BD Biosciences). Os tubos foram analisados em citômetro de fluxo FACSCalibur (*Becton Dickinson Biosciences, Mountain View, CA*) e os dados foram obtidos e analisados através do software *CellQuest* (*Becton Dickinson Biosciences, Mountain View, CA*).

O mesmo protocolo descrito acima foi realizado com o kit para Quimiocinas humanas (*Human Chemokine Kit* - BD Biosciences, San Jose, CA, USA).

Aspectos éticos

Todos os pacientes foram informados sobre os objetivos e procedimentos do estudo, inclusive aqueles aplicados nos projetos integrados (resistência e imunologia) e convidados a assinarem os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa: EMESCAM/ES: projeto N° 049/2005, em 03/04/2006).

Financiamento

O estudo fez parte do projeto multicêntrico “Magnitude e caracterização das recidivas de hanseníase em pacientes submetidos aos esquemas poliquimioterápicos/OMS e apoio à identificação de cepas resistentes do *M. leprae* em cinco estados brasileiros” que recebeu o financiamento do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis idade, sexo, forma clínica, resultado da baciloscopia, comunicante de hanseníase, ocorrência de reação, esquema terapêutico e resultado do teste *ML Flow* foram analisadas pelos aplicativos SPSS e STATA. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados significativos. Na análise do perfil de citocinas e quimiocinas todos os valores encontrados foram expressos como média \pm erro padrão da média.

RESULTADOS

Os pacientes suspeitos de recidiva foram encaminhados dos diversos municípios do Estado do Espírito Santo ao Serviço de Dermatologia da Santa Casa de Misericórdia de Vitória. Do total de 96 atendimentos, 45 pacientes enquadravam-se no diagnóstico de recidiva da hanseníase, e participaram do estudo.

A frequência de recidiva no Espírito Santo foi calculada a partir da soma do número de recidivas notificados no estado em 2006, 2007 e 2008 sobre o número de casos novos notificados no Espírito Santo nesse mesmo período multiplicado por cem. Isto significou uma frequência de recidiva durante o período do estudo igual a 2,41%. Importante ressaltar que nem todos os casos de recidiva notificados na Secretaria Estadual de Saúde (total de 85 indivíduos) compareceram ao Centro de Referência.

Do total de 956 controles enviados para o sorteio de pacientes anteriormente tratados para hanseníase, foram utilizados 120 destes controles na tentativa de busca, porém foram encontrados 19 indivíduos que compuseram o grupo controle.

No grupo de casos a idade variou de 18 a 72 anos, sendo a mediana de 44 anos. A distribuição dos casos segundo o sexo foi 16 pacientes (35,6%) eram femininos e 29 pacientes (64,4%) masculinos.

No grupo controle a mediana da idade foi de 40 anos, com a idade mínima de 16 anos e a máxima de 67 anos. Dos 19 controles, seis (31,6%) eram do sexo feminino e 13 (68,4%) do sexo masculino.

O período de incubação da recidiva da hanseníase (tempo entre a alta do primeiro diagnóstico e do início das novas lesões) variou de três a 20 anos, como mostra a tabela 3.

Tabela 3 – Distribuição dos casos quanto ao período de incubação da recidiva da hanseníase.

Período incubação (anos)	Casos de recidiva	
	N	%
3 a 5	10	22,2
>5 a 10	20	44,4
> 10	15	33,3
Total	45	100

O período de tempo após a alta por cura e a consulta de revisão dos controles encontra-se representado na tabela 4.

Tabela 4 – Distribuição dos controles quanto ao tempo de alta por cura da hanseníase até a consulta no Serviço de Dermatologia da Santa Casa de Vitória.

Tempo após alta (anos)	Controles	
	N	%
3 a 5	04	21,1
>5 a 10	10	52,6
> 10	05	26,3
Total	19	100

As diferentes formas clínicas no primeiro diagnóstico de hanseníase e na recidiva dos casos estão representadas na tabela 5.

Tabela 5 - Formas clínicas no primeiro diagnóstico e na recidiva de hanseníase dos 45 pacientes.

Formas clínicas iniciais	Formas clínicas na recidiva					
	HI	HT	HDT	HDD	HDV	HV
HI (11 casos)	0	0	3	4	3	1
HT (12 casos)	1	0	8	3	0	0
HDT (04 casos)	0	0	0	4	0	0
HDD (08 casos)	0	0	2	5	1	0
HDV (0)	0	0	0	0	0	0
HV (10 casos)	0	0	0	5	2	3
Total (45 casos)	1	0	13	21	6	4

Obs. HI (Hanseníase Indeterminada); HT (Hanseníase Tuberculóide); HDT (Hanseníase Dimorfa-Tuberculóide); HDD (Hanseníase Dimorfa-Dimorfa); HDV (Hanseníase Dimorfa-Virchowiana); HV (Hanseníase Virchowiana).

A tabela 6 compara as características clínicas, resultados das baciloscopias de linfa e terapêutica dos casos no primeiro diagnóstico com os controles.

Tabela 6 – Comparação das características dos casos (no primeiro diagnóstico) e dos controles.

Características	Casos (1º diagnóstico)			Controles		
	N	%	IC95%	N	%	IC95%
Forma Clínica						
HI	11	24,4	(15,3- 33,5)	08	42,1	(29,9-54,3)
HT	12	26,7	(21,9-31,5)	07	36,8	(25,3-48,2)
HDT	04	8,90	(5,98- 11,8)	-	-	-
HDD	08	17,8	(9,80 -25,6)	03	15,8	(8,40-23,3)
HDV	-	-	-	-	-	-
HV	10	22,2	(13,5 -30,9)	01	5,30	(0,79-9,73)
Baciloscopia						
Positiva	18	41,9	(30,4-53,3)	04	22,3	(13,3-31,3)
Negativa	25	58,1	(45,2-71,0)	14	77,7	(93,7)
Não realizada	02	-	-	01	-	-
Tratamento						
DNDS	06	13,3	(6,37-20,2)	02	10,5	(6,41-14,5)
PQT/PB	18	40,0	(28,7-51,2)	13	68,4	(52,2-83,5)
PQT/MB	20	44,4	(32,7-56,1)	04	21,1	(12,3-29,9)
ROM	01	2,23	(0,75- 3,71)	-	-	-
Total	45	100		19	100	

Obs. HI (Hanseníase Indeterminada); HT (Hanseníase Tuberculóide); HDT (Hanseníase Dimorfa-Tuberculóide); HDD (Hanseníase Dimorfa-Dimorfa); HDV (Hanseníase Dimorfa-Virchowiana); HV (Hanseníase Virchowiana); DNDS (esquema da Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária); PQT/PB (poliquimioterapia paucibacilar); PQT/MB (poliquimioterapia multibacilar); ROM (Rifampicina ,Ofloxacina, Minociclina).

A comparação dos casos na recidiva com os controles em relação ao sexo, a existência de contato intradomiciliar e ao desencadeamento de episódios reacionais após a alta nos dois grupos encontra-se na tabela 7.

Tabela 7 – Comparação do sexo, contato intradomiciliar e reação de hanseníase após a alta nos grupos caso (na recidiva) e controle.

Características	Casos (Recidiva)			Controles			OR (IC95%)	P
	N	%	IC95%	N	%	IC95%		
Sexo							0,83 (0,26-2,62)	1,00
Feminino	16	35,5	(24,8-46,2)	06	31,5	(20,9-42,1)		
Masculino	29	64,4	(51,2-77,6)	13	68,4	(53,3-83,5)		
Contato							3,84 (0,77-18,92)	0,08
Sim	14	31,1	(21,0-41,2)	02	10,5	(6,41-14,5)		
Não	31	68,8	(55,3-82,3)	17	89,5	(72,7-106,3)		
Reação							1,28 (0,12-13,2)	0,83
Sim	03	6,70	(1,72-11,8)	01	5,30	(0,79-9,73)		
Não	42	93,3	(78,8-107,7)	18	94,7	(77,5-111,9)		
Total	45	100		19	100			

Obs. Teste Exato de Fisher. Nível de significância de $p \leq 0,05$.

A frequência dos 45 casos de acordo com a classificação clínica, os resultados das baciloscopias e do teste sorológico *ML Flow* na recidiva estão representados na tabela 8.

Todos os controles apresentaram testes sorológicos *ML Flow* negativos e não realizaram baciloscopias no momento da consulta de revisão.

Tabela 8: Distribuição dos casos de recidiva de acordo com as formas clínicas em comparação com o índice baciloscópio (IB) e o teste *ML Flow*.

Forma Clínica	Índice baciloscópio		<i>ML Flow</i>	
	N (+)	N (-)	N (+)	N (-)
HI	-	01	-	01
HT	-	-	-	-
HDT	-	13	02	11
HDD	09	12	15	06
HDV	06	-	06	-
HV	04	-	03	01
Total	19	26	26	19

Obs. (+) positivo e (-) negativo. HI (Hanseníase Indeterminada); HT (Hanseníase Tuberculóide); HDT (Hanseníase Dimorfa-Tuberculóide); HDD (Hanseníase Dimorfa-Dimorfa); HDV (Hanseníase Dimorfa-Virchowiana); HV (Hanseníase Virchowiana)

A tabela 9 mostra a distribuição dos casos quanto ao esquema terapêutico utilizado no primeiro diagnóstico e na recidiva.

Tabela 9 – Distribuição dos 45 casos em relação ao tipo de tratamento no primeiro diagnóstico e o adotado na recidiva.

Terapia	1º diagnóstico			Recidiva		
	N	%	IC95%	N	%	IC95%
PQT/PB	18	40,0	(34,2 - 45,7)	08	17,7	(9,8 - 25,6)
PQT/MB	20	44,4	(32,8 - 56,0)	37	82,2	(68,1 - 96,3)
DNDS	06	13,3	(9,76 - 16,8)	-	-	-
ROM	01	2,2	(0,75 - 3,71)	-	-	-
Total	45	100		45	100	

Obs. PQT/PB (poliquimioterapia paucibacilar); PQT/MB (poliquimioterapia multibacilar); DNDS (esquema da Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária); ROM (Rifampicina ,Ofloxacina, Minociclina).

A tabela 10 mostra a comparação entre os esquemas terapêuticos utilizados nos casos (no primeiro diagnóstico) com os controles, obtendo-se a razão de chance (OR).

Tabela 10 – Comparação dos casos (no primeiro diagnóstico) e dos controles quanto ao esquema terapêutico utilizado.

Terapia	Casos		Controles		OR (IC95%)	<i>p</i>
	N	%	N	%		
PQT/PB	18	40,0	13	68,4	0,27 (0,07-1,00)	0,07
PQT/MB	20	44,4	04	21,0		
DNDS	06	13,3	02	10,5	2,16 (0,37-12,5)	0,32
PQT/PB	18	40,0	13	68,4		
DNDS	06	13,3	02	10,5	0,60 (0,08-4,12)	0,47
PQT/MB	20	44,4	04	21,0		

Obs. Teste Exato de Fisher. Nível de significância de $p < 0,05$; PQT/PB (poliquimioterapia paucibacilar); PQT/MB (poliquimioterapia multibacilar); DNDS (esquema da Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária); ROM (Rifampicina, Ofloxacina, Minociclina).

Dentre os casos, 39 realizaram o exame parasitológico de fezes. Na tabela 11 está a frequência de nematóides intestinais nos pacientes com recidiva da hanseníase distribuídos em grupos paucibacilares (baciloscopias negativas) e multibacilares (subdivididos em baciloscopias positivas e baciloscopias negativas). O grupo controle não foi submetido ao exame parasitológico de fezes.

Se for considerado somente o grupo de pacientes multibacilares com índice baciloscópico positivo (total de 17 pacientes), os quatro pacientes com positividade para os nematóides intestinais representam 23,5%.

Tabela 11- Frequência de nematóides intestinais entre os 39 casos de recidiva distribuídos de acordo com a classificação operacional em paucibacilar (PB) e multibacilar (MB).

Grupos	Nematóides intestinais					
	N(+)	%	IC95%	N(-)	%	IC95%
PB	-	-	-	12	30,7	(20,5-40,9)
MB (IB=0)	-	-	-	10	25,6	(16,2-35,0)
MB (IB>0)	04	10,2	(4,05-16,3)	13	33,3	(22,8-43,8)
Total	04			35		

Obs. PB (paucibacilar); MB (multibacilar);IB (índice baciloscópico).

A análise dos níveis de citocinas (IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10) foi feita através da comparação entre os grupos de pacientes com recidiva da hanseníase, onde foi adotado o seguinte parâmetro: MB total (todos os pacientes multibacilares, independente do índice baciloscópico constituído por 31 pacientes), MB IB=0 (multibacilares com índice baciloscópico igual a zero composto por 12 pacientes), MB IB>0 (multibacilares com índice baciloscópico positivo composto por 19 pacientes) e PB (paucibacilares num total de 14 pacientes), que podem ser observados nas figuras 6, 7, 8 e 9. O grupo controle não foi submetido à coleta de sangue para análise de citocinas.

Figura 6 - Níveis séricos de IFN- γ nos pacientes com recidiva da hanseníase.

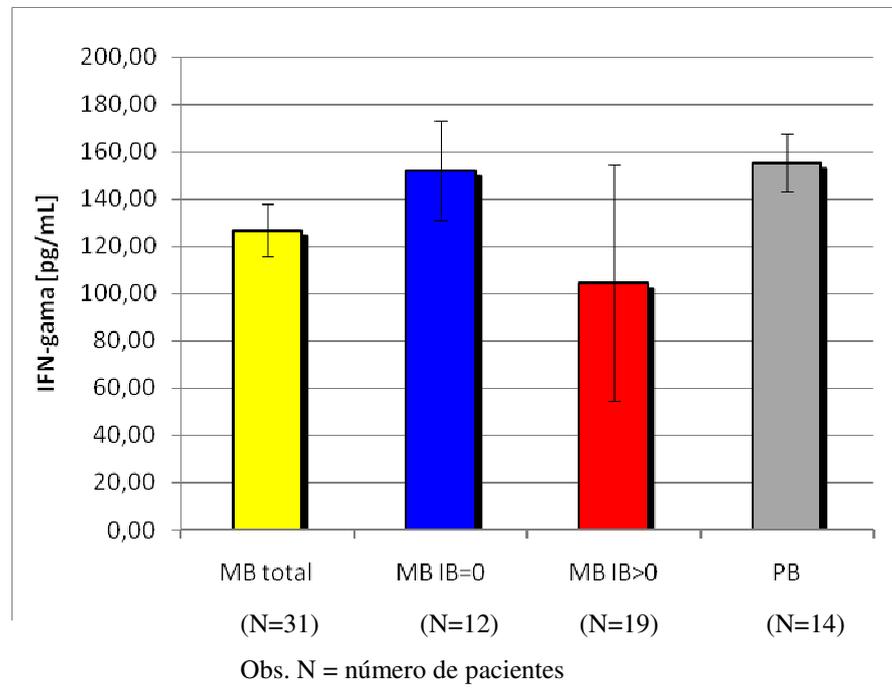


Figura 7 – Níveis séricos de TNF- α nos pacientes com recidiva da hanseníase.

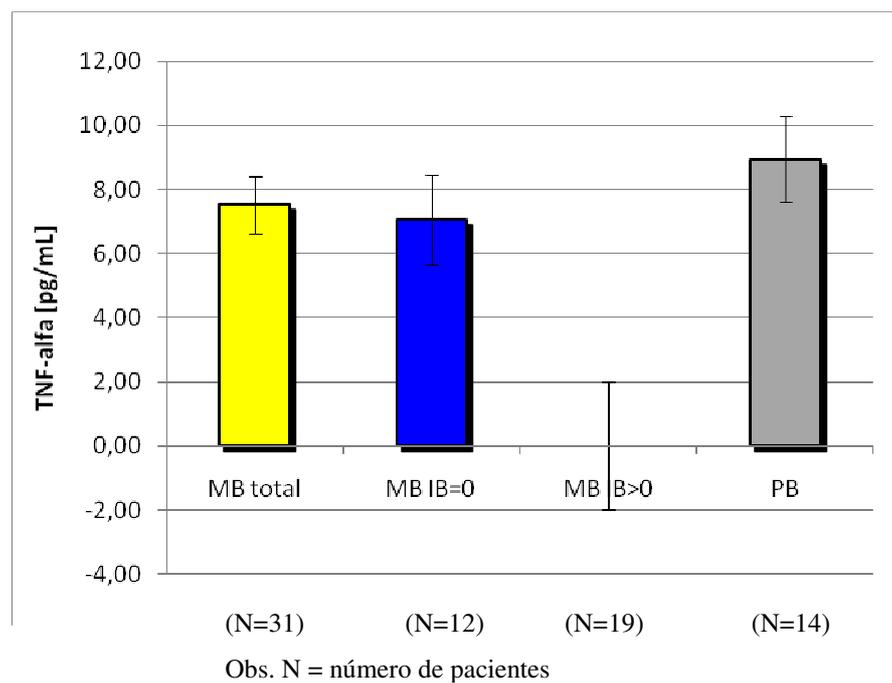


Figura 8 – Níveis séricos de IL-10 nos pacientes com recidiva da hanseníase.

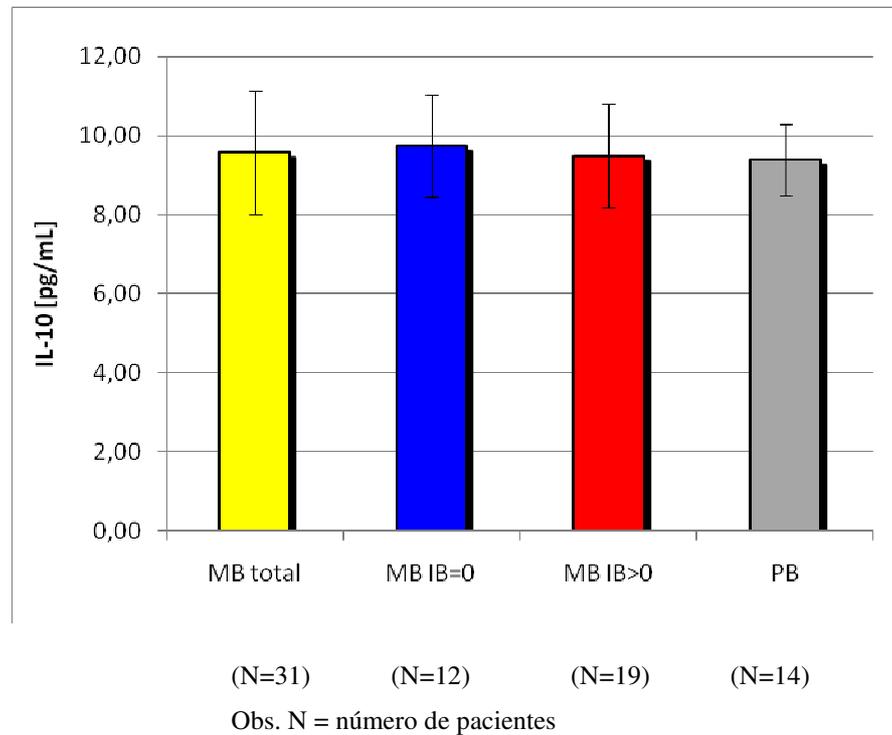
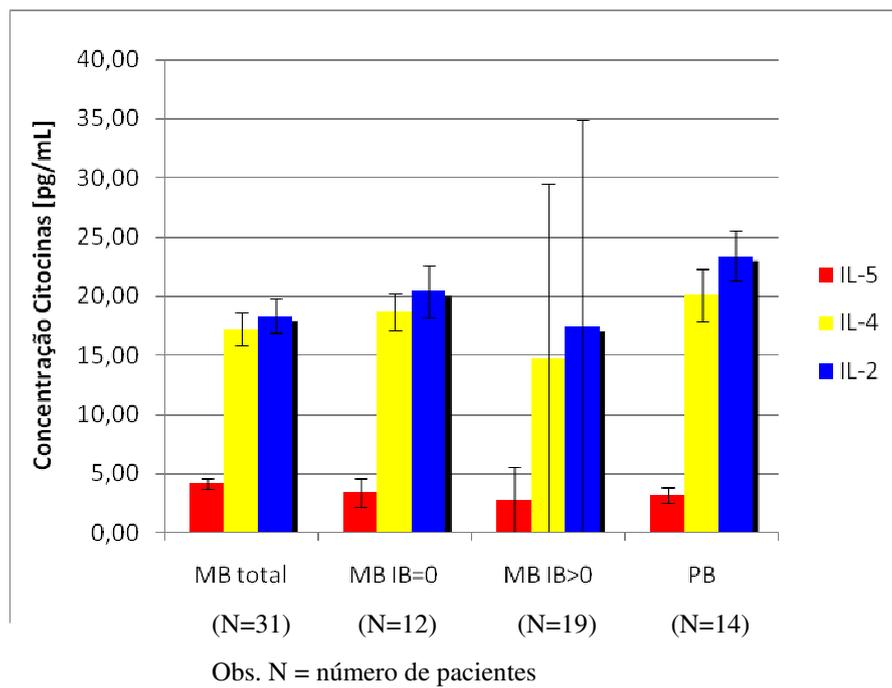


Figura 9 – Níveis séricos de IL-2, IL-4 e IL-5 nos pacientes com recidiva da hanseníase.



Avaliou-se o perfil de quimiocinas (CCL10/IP-10, CCL2/MCP-1, CXCL9/MIG, CCL5/RANTES e CXCL8/IL-8) através da comparação entre os grupos de pacientes com recidiva da hanseníase, sendo: MB total (todos os pacientes multibacilares, independente do índice baciloscópico), MB IB=0 (multibacilares com índice baciloscópico igual a zero), MB IB>0 (multibacilares com índice baciloscópico positivo) e PB (paucibacilares), que estão ilustrados nas figuras 10, 11, 12, 13 e 14. O grupo controle não foi submetido à coleta de sangue para análise de quimiocinas.

Figura 10 – Níveis séricos de CCL10/IP-10 nos pacientes com recidiva da hanseníase.

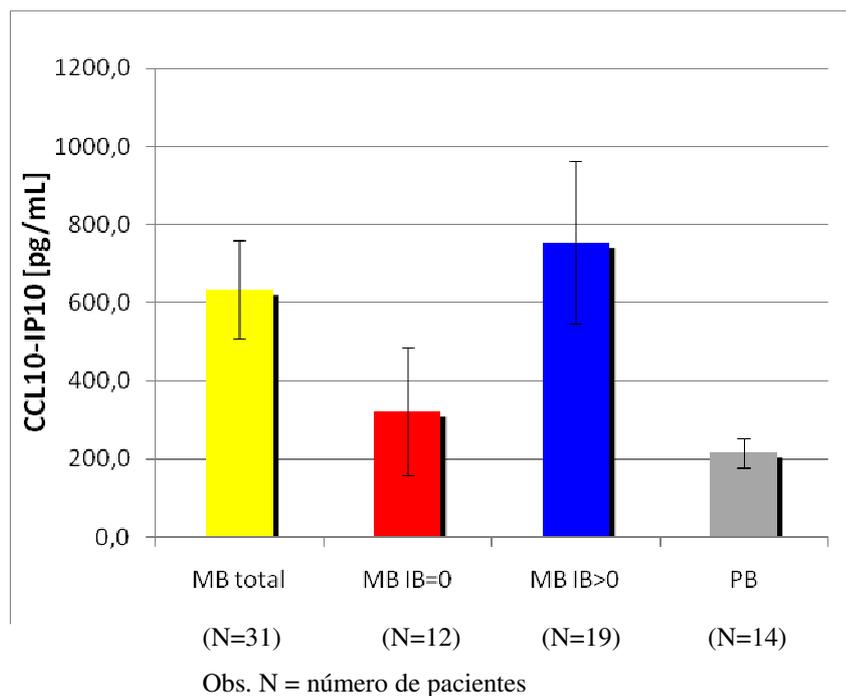


Figura 11 – Níveis séricos de CCL2/MCP-1 nos pacientes com recidiva da hanseníase.

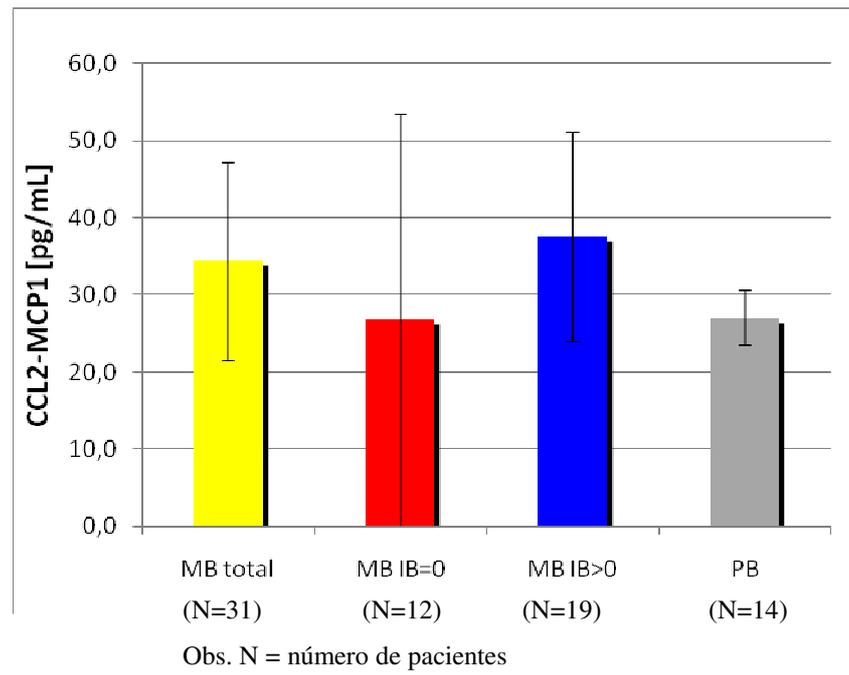


Figura 12 – Níveis séricos de CXCL9/MIG nos pacientes com recidiva da hanseníase.

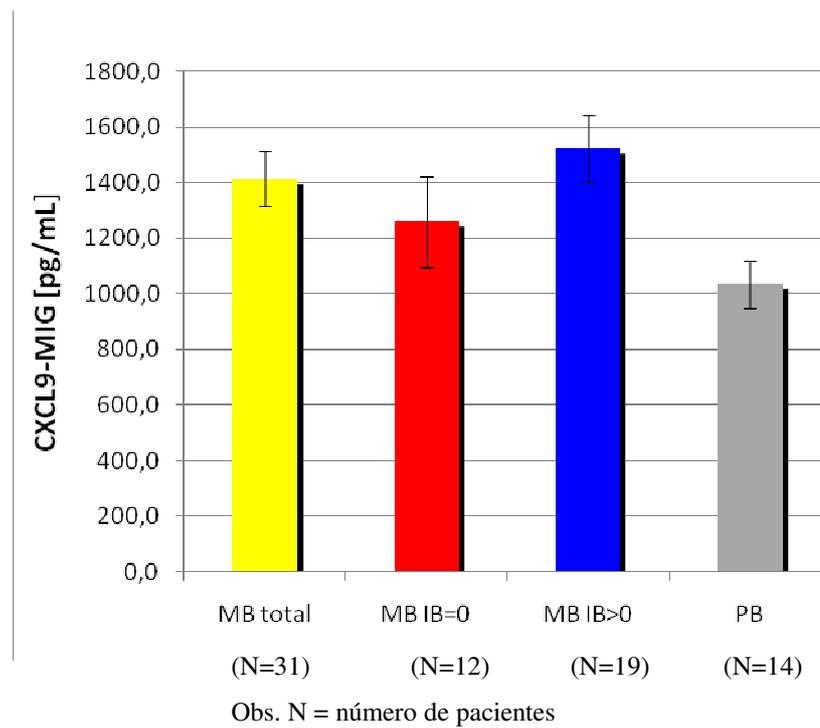


Figura 13 – Níveis séricos de CCL5/RANTES nos pacientes com recidiva da hanseníase.

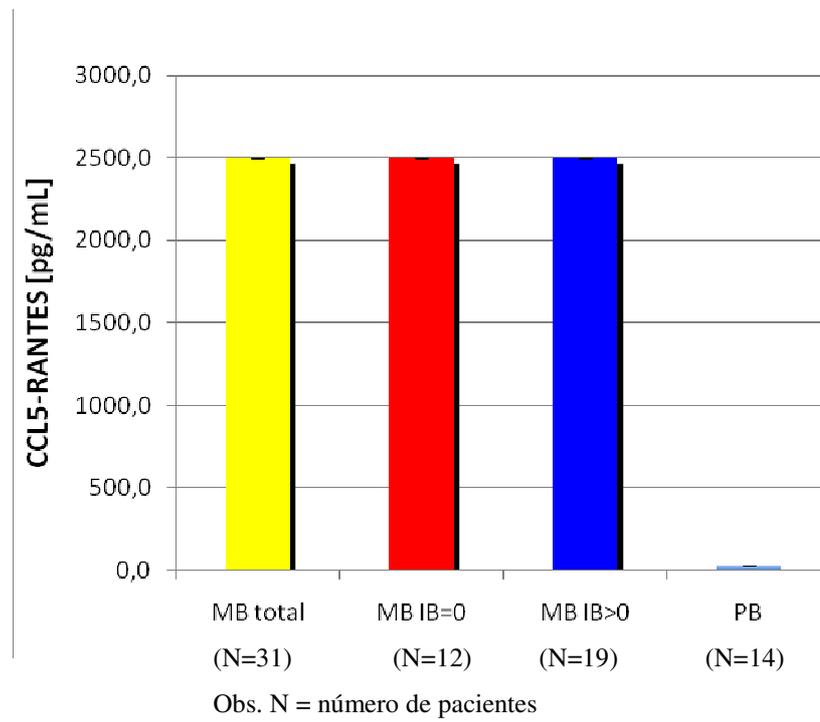
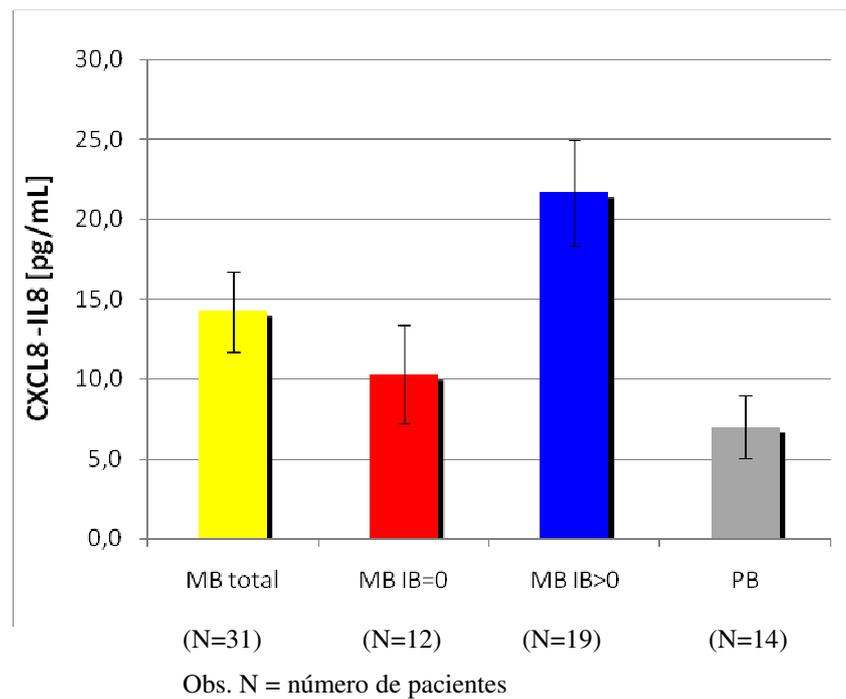


Figura 14 – Níveis séricos de CXCL8/ IL-8 nos pacientes com recidiva da hanseníase.



DISCUSSÃO

O estudo analisou um total de 45 pacientes com recidiva da hanseníase e 19 indivíduos controles, sem hanseníase, porém com história pregressa da doença, diagnosticados e tratados no mesmo período em que os casos receberam o primeiro diagnóstico.

Na seleção do grupo controle, muitas dificuldades foram encontradas, tais como: 1) recusa a participar do estudo (muitos anos se passaram após alta do paciente, sem demonstração de interesse sobre a doença); 2) idade avançada dos pacientes coincidindo com outras co-morbidades (seqüelas neurológicas e doenças degenerativas) dificultando o acesso do paciente ao Serviço de Dermatologia; 3) pacientes que não queriam lembrar a doença; 4) mudança de endereço; 5) perda de prontuários; 6) falecimento. Todos esses fatores contribuíram para o tamanho reduzido da amostra do grupo controle. De qualquer forma, a busca por esse grupo de pacientes ao longo de todo o período foi contínua e supervisionada pela assistente social do Programa de Hanseníase do Centro de Referência da Santa Casa de Misericórdia de Vitória que não mediu esforços na obtenção dos mesmos, porém sem o sucesso esperado pelo estudo.

O Espírito Santo possui cinco Municípios prioritários para a hanseníase: Cariacica, Linhares, Serra, Vila Velha e Vitória, porque são locais com mais de cinco casos de hanseníase por 10 mil habitantes, áreas de alto coeficiente de prevalência (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). No estudo, a distribuição geográfica dos grupos (casos e controles) foi semelhante já que um dos critérios de inclusão era pertencer ao mesmo Município de residência. A maioria dos casos e controles advinha do Município de Cariacica, área endêmica de hanseníase no Estado do Espírito Santo com taxa de prevalência de 3,77 casos por 10.000 habitantes e taxa de detecção de 4,24 casos por 10.000 habitantes segundo SINAN em 2006.

Foi adotado como critério de inclusão neste protocolo o paciente ter idade maior de 15 anos, devido a hanseníase ser infecção crônica, com período de incubação longo, portanto

mais freqüente em adultos, esperando-se que a recidiva da doença seja mais comum nesta faixa etária.

A distribuição segundo a idade mostrou que a mediana entre os grupos estudados foi semelhante, sendo de 44 anos para os casos e de 40 anos para os controles. Brito (2004) realizou um estudo de recidiva da hanseníase em Pernambuco e encontrou a mediana de idade nos pacientes de 32 anos. Gelber e colaboradores (2004) observaram a mesma proporção de recidivas quando avaliaram o número de casos para cada grupo etário, considerando que o risco de recidiva da hanseníase foi o mesmo entre os 22 pacientes estudados, independente da idade.

Em relação ao sexo, não houve diferença estatística na distribuição para os grupos caso e controle ($p=1,00$). Porém, pode-se dizer que houve mais indivíduos do sexo masculino (quase o dobro) que recidivaram. Haldar e colaboradores (2003) estudaram 128 pacientes com recidiva e encontraram 61% dos casos no sexo masculino. Brito (2004) encontrou distribuição semelhante entre os grupos (caso e controle) avaliados, sendo 49,7% dos pacientes do sexo masculino e 50,3% do sexo feminino. Dos 22 casos de recidiva avaliados por Gelber e colaboradores (2004) 19 eram homens e três eram mulheres.

De acordo com a literatura, há um ligeiro predomínio das formas paucibacilares entre as mulheres e das formas multibacilares entre os homens. A razão do predomínio das formas mais graves entre pacientes do sexo masculino poderia estar relacionada a: a) os homens são, geralmente, mais susceptíveis a infecções, porque os andrógenos diminuem a competência imunológica; b) os estrógenos protegem as mulheres de determinadas infecções, pois aumentam as respostas imunes celular e humoral e podem diminuir a apoptose linfocitária por apresentarem receptores para estrógenos no citosol de células T CD8⁺, enquanto os andrógenos não têm receptores nestas células; c) fatores comportamentais podem fazer o homem demorar mais a procurar assistência médica na suspeita da doença, o que leva ao

diagnóstico mais tardio, contribuindo para o aumento na frequência das formas mais graves (KLEIN, 2000). Do ponto de vista epidemiológico, as diferenças comportamentais e culturais entre os sexos, podem ter como consequência a desigualdade quanto aos riscos de adoecer. Entre as mulheres, por exemplo, é mais freqüente a adesão aos esquemas terapêuticos e à procura por serviços de saúde (ROUQUAIROL, 1993).

Segundo Ramu (1995), o período de incubação na recidiva da hanseníase nos casos paucibacilares, corresponde a três anos ou mais e nos casos multibacilares, freqüentemente, após nove anos. Las Águas (1997) descreveu que as recidivas acontecem entre seis e dez anos após a alta. De acordo com Gebre e colaboradores (2000) as recidivas usualmente ocorrem dois a três anos após término do tratamento. Nery e colaboradores (2002) observaram que o intervalo entre a alta e a recidiva foi de três a oito anos. Maroja e colaboradores (2002) demonstraram um período médio de quatro anos para os paucibacilares e de sete anos para os casos multibacilares. Brito (2004) encontrou uma média de tempo entre a alta até a recidiva de três anos e oito meses para os paucibacilares e de três anos e quatro meses para os multibacilares, sendo que 54,1% dos pacientes recidivaram após três anos da alta e 28,4% apresentavam mais de seis anos de alta do tratamento. Gelber e colaboradores (2004) estudando 22 casos de recidiva demonstraram que a maioria dos pacientes (63,6%) apresentou a recidiva da doença num período de tempo igual ou superior a 10 anos e os demais recidivaram entre seis e nove anos. No nosso estudo a maioria encontrava-se com cinco ou mais anos de alta do primeiro tratamento quando foi estabelecido o diagnóstico de recidiva da hanseníase. Todos os paucibacilares recidivaram após três anos, e a maioria dos multibacilares (61,3%) recidivaram após nove anos, conforme a literatura. O período de incubação longo dos casos paucibacilares e dos multibacilares favorecem o diagnóstico de recidiva da doença.

Os estudos sobre a recidiva da hanseníase demonstram que no retorno da doença a maioria dos casos mantém a forma clínica do primeiro diagnóstico, assim como a distribuição dos pacientes nos grupos paucibacilar e multibacilar. Quando na recidiva ocorre a mudança nessa classificação é mais freqüente os casos paucibacilares evoluírem para multibacilares, o contrário ocorre numa minoria dos casos (RAMU, 1995; ABDUL, 2000).

Li e colaboradores (1997) estudaram 8307 pacientes de 1986 a 1995 e diagnosticaram 16 recidivas, sendo que dos onze casos inicialmente paucibacilares, três recidivaram com a hanseníase dimorfa-tuberculóide e os demais como multibacilares. Haldar e colaboradores (2003) detectaram 128 casos de recidiva, sendo que dos 102 casos inicialmente paucibacilares 94 casos permaneceram neste espectro. Brito (2004) ao estudar 155 pacientes com recidiva classificou 65,2% dos pacientes como multibacilares na recidiva, porém 47,7% apresentavam esta classificação no tratamento inicial. No nosso estudo a maioria dos casos manteve a classificação operacional, ou seja, 17 indivíduos multibacilares no momento do primeiro diagnóstico permaneceram com esta classificação na recidiva e o mesmo ocorreu com 12 paucibacilares. Quinze pacientes paucibacilares recidivaram como multibacilares, denotando uma evolução dos casos com hanseníase e o contrário ocorreu em um paciente, corroborando os dados da literatura. É possível que esse paciente, por conhecer a doença, tenha buscado atendimento logo nos primeiros sinais clínicos da hanseníase, tendo sido feito o diagnóstico de hanseníase indeterminada na recidiva, considerada forma inicial da hanseníase que pode evoluir para cura ou para outra forma clínica, dependendo das condições imunológicas do paciente.

A forma clínica predominante nos casos de recidiva foi a dimorfa (88,9%), caracterizada pela instabilidade imunológica justificando a grande variação em suas manifestações clínicas, seja na pele e nos nervos. No estudo de Brito (2004) a hanseníase dimorfa representou 29,6% do total de casos estudados (155 recidivas).

Alguns autores relatam que o anti PGL-1 pode ser detectado em percentual que varia de 5% a 40% nos casos paucibacilares e até 97% nos casos multibacilares (LEFFORD e col.,1991). Buhner-Sékula e col. (2003) demonstraram sensibilidade do teste *ML Flow* de 97,4% nos multibacilares e 40% nos paucibacilares. No estudo, o teste *ML Flow* foi positivo em 92,3% dos casos multibacilares e positivo em 7,7% dos casos paucibacilares.

Estudos têm demonstrado que o anticorpo anti-PGL-1 se correlaciona ao nível da baciloscopia. O teste sorológico *ML Flow* demonstrou maior sensibilidade do que a baciloscopia para indicar a presença do bacilo no nosso estudo (tabela 8).

O exame parasitológico de fezes demonstrou que houve uma frequência maior de infecção por nematóides intestinais no grupo multibacilar com recidiva. Este achado corrobora os dados de Diniz e colaboradores (*submetido*) que estudaram a associação entre nematóides intestinais e a hanseníase em 105 pacientes e 146 controles sadios, encontrando a frequência de infecção por nematóides intestinais significativamente maior nos pacientes com hanseníase, especialmente nos multibacilares, quando comparada a um grupo controle sem hanseníase. Ainda que o número de pacientes no estudo tenha sido limitado, encontramos uma alta frequência de parasitose intestinal entre os multibacilares (4/17). Dentre os fatores que podem ter afetado o resultado da frequência de pacientes com nematóides intestinais temos: a) os exames foram realizados em diversos laboratórios e não somente no laboratório de referência, o que pode afetar a homogeneidade dos resultados; b) alguns pacientes não forneceram três amostras de fezes e c) seis pacientes não trouxeram o resultado do exame. Porém, mesmo tendo sido o tamanho da amostra reduzido, podemos dizer que as formas multibacilares na recidiva da hanseníase apresentaram mais nematóides intestinais.

A hanseníase tem sido um modelo para o estudo de doenças imunológicas uma vez que sua polaridade é determinada pelo tipo e intensidade da resposta imune à agressão pelo *M. leprae* (BRITO, 2004).

A defesa e/ou resistência à infecção estão relacionadas à presença de citocinas. Foss e colaboradores (1995) observaram que pacientes com hanseníase virchowiana apresentavam uma redução na concentração de TNF- α , IL-1 e IFN- γ , levando a uma menor atividade macrofágica e ao aumento da produção de citocinas supressoras (IL-4 e TGF- β); enquanto nos pacientes com hanseníase tuberculóide não foram detectadas as citocinas supressoras, mas elevadas concentrações de TNF- α e IL-1. Moubasher e colaboradores (1998) evidenciaram o aumento dos níveis séricos das citocinas (IFN- γ , TNF- α , IL-2R, IL-10 e IL-1 β) em 55 pacientes com hanseníase quando comparados com controles sadios através da técnica de ELISA. Ao comparar os pólos da doença entre si, o pólo tuberculóide mostrou níveis significativamente altos de IFN- γ e TNF- α correlacionando-se ao índice baciloscópico negativo, enquanto o pólo virchowiano revelou níveis séricos elevados de IL-2R, IL-10 e IL-1 β nos casos com o índice baciloscópico positivo. Os resultados destes autores corroboram com hipótese de que as citocinas IFN- γ e TNF- α apresentam um efeito imunoprotetor, e IL-2R, IL-10 e IL-1 β um efeito imunossupressor. Gonzalez e colaboradores (1999) demonstraram pequena liberação de TNF- α e IFN- γ , citocinas ativadoras de macrófagos, nos pacientes virchowianos, explicando a falência da resposta imune celular nesses pacientes. Spellberg e colaboradores (2001) demonstraram que os macrófagos parasitados pelo *M. leprae* liberavam as citocinas IL-2, TNF- α e IL-12 principalmente nos pacientes com a forma tuberculóide da hanseníase. Belgaumkar e colaboradores (2007) mediram os níveis séricos de IFN- γ e IL-6 nos pacientes com hanseníase, antes de iniciado o tratamento. Detectaram altos níveis de IFN- γ nos pacientes tuberculóides (imunoprotetor) e altos níveis de IL-6 nos virchowianos.

Nosso estudo demonstrou uma produção elevada de TNF- α no grupo paucibacilar quando comparada com os multibacilares com índice baciloscópico positivo, os quais não produziram essa citocina. Por outro lado, os níveis de IFN- γ encontrados foram semelhantes

entre os grupos avaliados, porém quando se faz a comparação entre os pacientes com baciloscopia positiva e os paucibacilares nota-se que esta citocina foi mais produzida no último grupo.

Os resultados encontrados para os níveis das citocinas TNF- α e IFN- γ estão de acordo com os encontrados na literatura em relação aos pacientes com hanseníase nunca tratados, pois até o momento não existem estudos mostrando o nível e o perfil de citocinas na recidiva da doença.

Com relação à citocina imunossupressora IL-10 houve produção semelhante nos grupos paucibacilar e multibacilar na recidiva da hanseníase. A IL-10 liberada pelos macrófagos, inibe a proliferação de linfócitos TCD4⁺ e a liberação de TNF- α e IFN- γ , inibindo a atividade macrofágica, a responsável pela destruição de patógenos intracelulares (OCHOA e col., 1996; GOULART e col., 2002), sendo assim, esperávamos encontrar um aumento dessa citocina no grupo multibacilar, o que não foi observado.

Os níveis de IL-2, IL-4 e IL-5 também foram analisados no estudo, sendo observados níveis semelhantes dessas citocinas tanto no grupo paucibacilar como no multibacilar. Os pacientes multibacilares com baciloscopia positiva mostraram níveis mais baixos dessas citocinas, com valores de IL-2, IL-4 e IL-5 indetectáveis em alguns indivíduos. Uma explicação para esse padrão de resposta imune diferente do encontrado na hanseníase pode ser devido a maioria dos casos de recidiva estudados pertencerem a forma clínica dimorfa, caracterizada pela instabilidade imunológica, podendo oscilar entre as duas formas polares.

A hanseníase virchowiana caracteriza-se por resposta imune celular deficiente, representada pelos níveis reduzidos de IL-2, IL-12 e IFN- γ , e uma resposta imune humoral compensatória, com o aumento da produção e liberação das citocinas IL-4, IL-5, IL-10 e TGF- β (ABULAFIA & VIGNALE, 1999; GOULART e col., 2002). Considerando os estudos sobre a imunologia da hanseníase, os multibacilares deveriam apresentar níveis elevados de

IL-4 e IL-5 e níveis baixos de IL-2, o contrário ocorreria para os pacientes paucibacilares (OCHOA e col., 1996; FOSS, 1997; GOULART e col., 2002).

O estudo avaliou as citocinas no soro dos pacientes com recidiva da hanseníase, sem realizar nenhuma técnica de estimulação das células mononucleares do sangue periférico, já que estas não mais estavam no material encaminhado para a análise imunológica. A maioria dos estudos sobre imunologia da hanseníase analisa as citocinas produzidas pelo paciente após estimulação das células mononucleares do sangue periférico. Como a idéia de uma pesquisa imunológica na recidiva da hanseníase foi posterior ao início do estudo de base (multicêntrico) e o sangue coletado dos pacientes era submetido a um processo para obtenção de soro, somente foi possível a avaliação do nível das citocinas no soro dos pacientes e a comparação entre os casos paucibacilares e multibacilares.

A produção das quimiocinas CCL2/MCP-1, CCL10/IP-10, CXCL9/MIG, CCL5/RANTES e CXCL8/IL-8 nas amostras de soro de pacientes multibacilares com recidiva da hanseníase se mostrou elevada quando comparadas com amostras oriundas de pacientes com recidiva paucibacilares, sendo a quimiocina CCL5/RANTES não detectada nas amostras do grupo paucibacilar. Poucos são os estudos avaliando o papel das quimiocinas na hanseníase. Conforme os resultados do estudo Lew e colaboradores (2002) também observaram o aumento dos níveis séricos de CCL2 nos pacientes virchowianos. Pode-se interrogar: quais células essas quimiocinas estão atraindo para o infiltrado dos pacientes multibacilares? Os linfócitos TCD8⁺ (imunossupressoras)?

Segundo Gonçalves (2007) as quimiocinas e seus receptores são importantes elementos envolvidos no processo de migração celular para os tecidos inflamados, por isso essas proteínas estão sendo identificadas como importantes mediadores da resposta inflamatória. As quimiocinas têm como função primordial direcionar as células do sistema imune, principalmente os leucócitos, para os sítios de inflamação no organismo.

Katsantonis (2000) ao estudar o papel das quimiocinas e sua correlação com a doença de Behçet evidenciou que as quimiocinas podem ser utilizadas como marcadores da atividade inflamatória em determinadas doenças de forma mais específica do que aqueles atualmente utilizados, tais como, a proteína C reativa ou a velocidade de hemossedimentação.

Estudos sobre a atividade imunológica na recidiva da hanseníase são escassos e até o presente não encontramos nenhuma referência à análise de quimiocinas em pacientes com recidiva independente da forma clínica observada.

Segundo a Coordenação Nacional de Dermatologia Sanitária do Ministério da Saúde (CNDS/MS), estudos realizados nos Centros de Referência, têm mostrado que 27% dos pacientes apresentam reações após o término do tratamento (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1994). A ocorrência de manifestações reacionais após a alta terapêutica é referida por vários autores (BECX-BLEUMINK, 1992; SCOLLARD, 1994; GALLO & OLIVEIRA, 1997).

Sabe-se que os episódios reacionais geralmente ocorrem durante o tratamento ou nos primeiros três anos após a poliquimioterapia, diminuindo seu aparecimento de forma gradativa. Para Jesudasan e colaboradores (1989) as reações podem aparecer até dois anos nos paucibacilares e até cinco anos nos multibacilares após o término do tratamento. Becx-Bleumink & Berhe (1992) afirmaram que o risco de reação após término do tratamento é maior durante o primeiro ano, particularmente durante os seis primeiros meses. Caso as reações persistam ou ocorram depois de cinco anos de término da poliquimioterapia, deve-se pensar e investigar a recidiva da doença (LINDER e col., 2008). No estudo não houve diferença na frequência de episódios reacionais após a alta para os grupos caso e controle ($p=0,83$), portanto a reação não pode ser considerada fator de risco para a recidiva da hanseníase. Brito (2004) avaliou o perfil clínico epidemiológico das recidivas da hanseníase no estado de Pernambuco e demonstrou que quadro reacional após a alta foi aproximadamente

quatro vezes mais freqüente entre os casos do que entre os controles estudados, constituindo fator de risco para a recidiva da doença.

A análise da presença do contato intradomiciliar após o término do primeiro tratamento dos casos, provavelmente não contribuiu para o risco de recidiva da doença neste estudo. Apesar de não apresentar significância estatística ($p=0,08$), 31,1% dos casos apresentaram contato com doentes de hanseníase após a alta, porém a maioria destes contatos era paucibacilar. Na literatura o maior risco de contrair a doença ocorre entre contatos intradomiciliares de doentes de formas multibacilares, seguido de contatos extradomiciliares de doentes multibacilares, e por fim os contatos de doentes das formas paucibacilares, que normalmente não funcionam como via de transmissão da infecção pela ausência ou reduzido número de bacilos (TALHARI e col., 2006). A reinfeção é considerada um dos fatores desencadeantes da recidiva da hanseníase (MAGANJEET, 1996; BRITO e col., 2005; LINDER e col., 2008). Haldar e colaboradores (2003) mostraram que a chance de recidiva pode ser 2,6 vezes maior entre os pacientes que mantém contato com casos ativos de hanseníase. Brito (2004) observou que os casos eram diferentes dos controles quanto à história de contato com doente com hanseníase. Os pacientes com comunicantes portadores de hanseníase após a alta apresentaram duas vezes mais chance de ter recidiva, sinalizando para a possibilidade de reinfeção, constituindo fator de risco para a recidiva da doença.

O Ministério da Saúde preconiza no caso de confirmação de recidiva da hanseníase reutilização dos esquemas poliquimioterápicos padrão, medida adotada no estudo. Os pacientes que apresentaram classificações clínicas de hanseníase indeterminada e tuberculóide receberam poliquimioterapia paucibacilar com seis doses, enquanto os virchowianos, dimorfo-virchowianos e dimorfo-dimorfos utilizaram o esquema multibacilar com doze doses. De acordo com Oliveira (1997), raros são os casos de retorno da doença por resistência medicamentosa, não justificando a alteração do esquema terapêutico.

Dos doze casos dimorfo-tuberculóides, seis pacientes foram tratados com PQT/PB, conforme orienta a OMS, considerando as características clínicas (tipo e número de lesões cutâneas - menos que cinco) e laboratoriais (baciloscopia e teste *ML Flow* negativos). Os outros seis, receberam PQT/MB baseado no tipo, número (mais que cinco lesões), extensão das lesões cutâneas e resultado do teste sorológico *ML Flow* (positivos). A decisão por iniciar o esquema multibacilar nesses casos também se apoiou no fato de se tratarem de recidivas da doença.

O tipo de tratamento (monoterapia, PQT/PB, PQT/MB) instituído no primeiro diagnóstico não demonstrou diferença estatisticamente significativa no nosso estudo para a recidiva da hanseníase (tabela 10), conforme observado por Brito em 2004. Durante muitos anos a monoterapia sulfônica foi empregada, porém o tratamento muito prolongado e sem perspectivas de alta, fizeram com que os pacientes o abandonassem ou o fizessem de forma irregular, podendo posteriormente contribuir para a recidiva da doença. Além disso, a possibilidade de resistência motivou o fim da monoterapia e a implantação da poliquimioterapia (LAS ÁGUAS, 1997).

CONCLUSÕES

1. No nosso estudo, a maioria dos casos de recidiva da hanseníase no Estado do Espírito Santo foi observada entre pacientes do sexo masculino, com a forma clínica dimorfa e com um período de incubação igual ou superior a cinco anos.
2. A frequência da recidiva da hanseníase no estado do Espírito Santo foi de 2,41%.
3. A presença de reações hansênicas após término do tratamento, o contato com o doente com hanseníase após a alta e os esquemas terapêuticos utilizados no primeiro tratamento (monoterapia, PQT/PB, PQT/MB) não foram fatores de risco para a recidiva da hanseníase.
4. O teste sorológico *ML Flow* apresentou para a população estudada uma sensibilidade maior do que a baciloscopia para indicar a presença do bacilo.
5. A frequência de infecção por nematóides intestinais foi maior nos pacientes multibacilares com recidiva da hanseníase.
6. Pacientes paucibacilares apresentaram uma produção de TNF- α elevada quando comparada aos pacientes multibacilares com índice baciloscópico positivo.
7. A avaliação dos níveis de IFN- γ foi semelhante entre os grupos avaliados (PB e MB); porém, quando comparamos os pacientes com baciloscopia positiva com os paucibacilares verificamos que esta citocina era produzida em maior concentração no último grupo.
8. Os níveis séricos da IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10 observados para os grupos paucibacilar e multibacilar foram semelhantes. Entretanto, os pacientes multibacilares com baciloscopia positiva apresentaram níveis mais baixos dessas citocinas, com valores de IL-2, IL-4 e IL-5 indetectáveis em alguns indivíduos.

9. A avaliação dos níveis séricos das quimiocinas demonstrou que pacientes multibacilares apresentaram níveis de CCL2/MCP-1, CCL10/IP-10, CXCL9/MIG, CCL5/RANTES e CXCL8/IL-8 elevados quando comparados aos paucibacilares, sendo que a quimiocina CCL5/RANTES não foi detectada nas amostras do grupo paucibacilar.

ABDUL KS. An analysis of relapsed leprosy cases. Indian Journal Dermatology Venereology and Leprology. 2000; 66:126-8.

ABULAFIA J & VIGNALE RA. Leprosy: pathogenesis updated. International Journal of Dermatology. 1999; 38(5): 321-34.

ADAMS LB, SCOLLARD DM, RAY NA, COOPER AM, FRANK AA, ORMI IM, KRAHENBUHL JL. The study of *Mycobacterium leprae* infection in interferon- γ gene-disrupted mice as a model to explore the immunopathologic spectrum of Leprosy. The Journal of Infectious Diseases. 2002; 185 (Suppl 1): S1-8.

ALCAIS A, SANCHEZ FO, THUC NV, LAP VD, OBERT J, LAGRANGE PH, SCHURR E, ABEL L. Granulomatous reaction to intradermal injection of lepromin (Mitsuda reaction) is linked to the human NRAMP1 gene in Vietnamese leprosy sibships. The Journal of Infectious Diseases. 2000; 181 (1):302-8.

ALCAIS A, MIRA M, CASANOVA JL, SCHURR E, ABEL L. Genetic dissection of immunity in leprosy. Current Opinion in Immunology. 2005; 17: 44-8.

ANDRADE V, ALVES TM, AVELLEIRA JCR, BAYONA M. Prevalência de HIV-1 em pacientes de hanseníase no Rio de Janeiro. Hansenologia Internationalis. 1996; 21(1): 22-33.

ANTAS PRZ, SALES JS, PEREIRA KC, OLIVEIRA EB, CUNHA KS, SARNO EM, SAMPAIO EP. Patterns of intracellular cytokines in CD4 and CD8 T cells from patients with mycobacterial infections. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2004; 37(8): 1119-29.

ARAÚJO MG. Hanseníase no Brasil - Artigo de atualização. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2003; 36(3): 373-82.

ARAÚJO MG. 1925 - 2005 Evolution and current status of leprosy chemotherapy. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2005; 80 (2): 199-202.

BARRETO J A, GOYA F, MIRANDA R M C. Hanseníase dimorfa reativada: recidiva ou tratamento insuficiente em paciente imunologicamente suscetível? *Hansenologia Internationalis*. 2006; 31 (2): 35-8.

BECX-BLEUMINK M. Relapses among leprosy patients treated with multidrug therapy: experience in the leprosy control program of the All Africa Leprosy and Rehabilitation Training Center (ALERT) in Ethiopia *International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases*. 1992; 60: 421-35.

BECX-BLEUMINK M, BERHE D. Occurrence of reactions, their diagnosis and management in leprosy patients treated with multidrug therapy; experience in the leprosy control program of the All Africa Leprosy and Rehabilitation Training Center (ALERT) in Ethiopia. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases*. 1992; 60: 173-84.

BEIGUELMAN B. Genética e hanseníase. *Ciência e Saúde Coletiva*. 2002; 7(1): 117-28.

BELGAUMKAR VA, GOKHALE NR, MAHAJAN PM, BHARADWAJ, PANDIT DP & DESHPANDE S. Circulating cytokine profiles in leprosy patients. *Leprosy Review*. 2007; 78, 223–30.

BORKOW G, LENG Q, WEISMAN Z, STEIN M, GALAI N, KALINKOVICH A, BENTWICH Z. Chronic immune activation associated with intestinal helminth infections results in impaired signal transduction and anergy. *The Journal of Clinical Investigation*. 2000; 106: 1053-1060.

BRITO MFM. O retratamento em hanseníase: identificação de fatores de risco – um estudo caso-controle. 2004. 68f. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2004.

BRITO MFM, GALLO MEN, XIMENES RAA. O retratamento por recidiva em hanseníase. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2005; 80(3): 255-60.

BRITTON WJ, LOOCKWOOD DNJ. Leprosy. *Lancet*. 2004; 363: 1209-19.

BUHRER – SÉKULA S, SMITS HL, GUSSENHOVEN GC, LEEUWEN J V, AMADOR S, FUJIWARA T, KLATSER PR, OSKAM . 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*. 2003; 41:1991-95.

CHARO IF, RANSOHOFF RM. The roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *New England Journal of Medicine*. 2006; 354:610-21.

CHEN XS, LI WZ, JIANG C, YE GY. Studies on risk of leprosy relapses in China: relapses after treatment with multidrug therapy. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases*. 1999; 67: 379–87.

COOKE GS, HILL AVS. Genetics of susceptibility to human infectious disease. *Nature Reviews Genetics*. 2001; 2: 967-77.

COOPER PJ, CHICO ME, SANDOVAL C, ESPINEL I, GUEVARA A, KENNEDY MW, URBAN JR. JF, GRIFFIN GE, NUTMAN TB. Human infection with *Ascaris lumbricoides* is associated with a polarized cytokine response. *The Journal of Infectious Diseases*. 2000; 182: 1207-13.

DAUMERIE D, PANIKAR V. Issues in evaluating information on relapse in leprosy. *Indian Journal of Leprosy*. 1995; 67 (1): 27-33.

DESIKAN KV. Relapse, reactivation or reinfection? *Indian Journal of Leprosy*. 1995; 67: 3-11.

DINIZ LM, ZANDONADE E, DIETZE R, PEREIRA FEL, RODRIGUES RR. Short report: do intestinal nematodes increase the risk for multibacillary Leprosy? *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2001; 65(6): 852 – 54.

DINIZ LM, MAGALHÃES EFL, PEREIRA FEL, DIETZE R & RIBEIRO-RODRIGUES R.

Presence of intestinal helminths increase the risk for multibacillary leprosy. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* (Submetido).

DOCKRELL HM, YOUNG SK, BRENNAN PJ, RIVOIRE B, WATERS MFR, LUCAS SB, SHAHID F, DOKJI M, CHIANG TJ, EHSAN Q, McADAM KPWJ, HUSSAIN R. Induction of Th-1 cytokine responses by mycobacterial antigens in leprosy. *Infection and Immunity*. 1996; 64(10): 4385-89.

DUNCAN ME, MELSOM R, PEARSON JM, RIDLEY DS. The association of pregnancy and leprosy. I. New cases, relapse of cured patients and deterioration in patients on treatment during pregnancy and lactation– results of a prospective study of 154 pregnancies in 147 Ethiopian women. *Leprosy Review*. 1981;52:245–62.

FOSS NT. Aspectos imunológicos da hanseníase. *Simpósio: Hanseníase. Capítulo II*. 1997; 30: 335-39.

FOSS NT. Hanseníase: aspectos clínicos, imunológicos e terapêuticos. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 1999; 74(2): 113-19.

FOSS NT, OLIVEIRA MAS, SILVA CL. Avaliação da atividade macrofágica na hanseníase virchowiana e tuberculóide. *Hansenologia Internationalis*. 1995; 20(1): 5-10.

GALLO MEN, OLIVEIRA MLW. Recidivas e Reinfecção em Hanseníase. *Medicina, Ribeirão Preto*. 1997; 30: 351-57.

GARCIA VE, QUIROGA MF, OCHOA MT, OCHOA L, PASQUINELLI V, FAINBOIN L, OLIVARES LM, VALDEZ R, SORDELLI DO, AVERSA G, MODLIN RI, SIELING PA. Signaling Lymphocytic Activation Molecule Expression and Regulation in Human Intracellular Infection Correlate with Th-1 Cytokine Patterns. *The Journal of Immunology*. 2001; 167: 5719-24.

GEBRE S, PAUL S, PETER B. Relapses after fixed duration multiple drug therapy: the AMFES cohort. *Leprosy Review*. 2000; 71: 325-31.

GELBER RH, BALAGON MVF, CELLONA RV. The relapse rate in MB leprosy patients treated with 2-years of WHO-MDT is not low. *International Journal of Leprosy*. 2004; 72:493-500.

GIRDHAR BK, GIRDHAR A, KUMAR A. Relapses in multibacillary leprosy patients: effect of length of therapy. *Leprosy Review*. 2000; 71: 144-53.

GONÇALVES RM, TEIXEIRA AL, CAMPOS WR, ORÉFICE F. O papel das quimiocinas nas uveítes. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 2007; 70(2): 363-70.

GONZALEZ ACO, SILVA TC, BARBOSA JÚNIOR AA, SADIGURSKY M. Immunohistologic appraisal of infiltrating cells in skin biopsies from young patients clinically suspected of having various forms of leprosy. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 1999; 74(4): 365-71.

GOULART IMB, PENNA GO, CUNHA G. Imunopatologia da hanseníase: a complexidade dos mecanismos da resposta imune do hospedeiro ao *Mycobacterium leprae*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2002; 35: 365-75.

GUPTA UD, KATOCH VM. Understanding the phenomenon of persistence in Mycobacterial infections. Indian Journal of Leprosy. 1997; 69(4): 385-93.

HALDAR A, MAHAPATRA BS, MUNDLE M, HALDAR S, SAHA AK. A study of relapse after MDT in a district in West Bengal, India. 2003; 75(1):1-8.

HASAN Z, JAMIL B, ZAIDI I, ZAFAR S, KHAN AA, HUSSAIN R. Elevated serum CCL2 concomitant with a reduced Mycobacterium-induced response leads to disease dissemination in leprosy. Scandinavian Journal of Immunology. 2006; 63 (3): 241-47.

IYER A, HATTA M, USMAN R, LUITEN S, OSKAM L, FABER W, GELUK A, DAS P. Serum levels of interferon- γ , tumor necrosis factor- α , soluble interleukin-6R and soluble cell activation markers for monitoring response to treatment of leprosy reactions. Clinical Experimental Immunology. 2007; 150: 210-216.

JACOBSON RR, KRAHENBUHL JL. Leprosy. The Lancet. 1999; 353: 655-60.

JAMIESON DJ, THEILER RN, RASMUSSEN SA. Emerging Infections and Pregnancy. Emerging Infectious Diseases. 2006; 12 (11): 1638-43.

JANEWAY CA, TRAVERS P, WALPORT M, SHLOMCHIK M. *Imunobiologia: o sistema imune na saúde e na doença*. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

JESUDASAN K, PANIKKAR UK, NANI MN, CHRISTIAN M. Relapse rates in paucibacillary – WHO regiment versus dapsone monotherapy. *International Journal of Leprosy and other Mycobacterium*. 1989; 57: 615-21.

JI B & GROSSET JH. Recent advances in the chemotherapy of leprosy. *Leprosy Review*. 1990; 61: 313-29.

JOB CK. Histopathological features of relapsed leprosy. *Indian Journal of Leprosy*. 1995. 67: 69-80.

KALINKOVICH A, WEISMAN Z, GREENBERG Z, NAHMIAS J, EITAN S, STEIN M. Decreased CD4 and increased CD8 counts with T cell activation is associated with chronic helminth infection. *Clinical Experimental Immunology*. 1998; 114: 414-21.

KATOCH VM. Microbiological aspects of relapse in leprosy. *Indian Journal of Leprosy*. 1995; 67(1):85-97.

KATSANTONIS J, ADLER Y, ORFANOS CE, ZOUBOULIS CC. Adamantiades-Behçet's disease: serum IL-8 is a more reliable marker for disease activity than C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate. *Dermatology*. 2000; 201(1): 37-9.

KAUR I, AGNIHOTRI N, MEHTA M, DOGRA S, GANGULY NK. Tumor Necrosis Factor (TNF) Production in Leprosy Patients. *International Journal of Leprosy*. 2001; 69(3): 249-50.

KIM J, UYEMURA K, VAN DYKE ML, LEGASPI AJ, REA TH, SHAUI K, MODLIN RL. A role for IL-12 receptor expression and signal transduction in host defense in leprosy. *Journal of Immunology*. 2001. 167(2): 779-86.

KIRKALDY AA, MUSONDA AC, KHANOLKHAR-YOUNG S, SUNEETHA S, LOCKWOOD DN. Expression of CC and CXC chemokines and chemokine receptors in human leprosy skin lesions. *Clin Exp Immunol*. 2003; 134: 447–53.

KLEIN SL. The effects of hormones on sex differences in infection: from genes to behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2000; 24: 627-38.

LAS AGUAS JT. Recaídas en hanseniasis: experiencia personal. *Hansenologia Internationalis*. 1997; 22 (2): 5-9.

LEFFORD MJ, HUNEGNAW M, SIWIK E. The value of IgM antibodies to PGL-I in the diagnosis of leprosy. *International Journal of Leprosy*. 1991; 59:432-40.

LEW W, CHANG S, TADA Y, NAKMURA K, TAMAKI K. Serum monocyte chemoattractant protein-1 is elevated in lepromatous leprosy patients with high bacterial indices. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases*. 2002; 70: 129-31.

LI HY, HU LF, WU PW, LUO JS, LIU XM. Fixed-duration multidrug therapy in multibacillary leprosy. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases*. 1997; 65(2): 230-37.

LINDER K, ZIA M, KERN WV, PFAU RKM, WAGNER D. Relapses vs. reactions in multibacillary leprosy: proposal of new relapse criteria. *Tropical Medicine and International Health*. 2008, 13(3): 295-309.

LOCKWOOD DNJ, SARNO E, SMITH WC. Classifying leprosy patients - searching for the perfect solution? *Leprosy Review*. 2007; 78: 317–20.

LYDE CB. Pregnancy in patients with Hansen disease. *Archives of Dermatology*. 1997; 133: 623-27.

MAGANJEET, BHARTI R. Relapse, reinfection or inadequate MDT ?. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*. 1996; 62:45-6.

MALHOTRA D, DARVISHI K, LOHRA M, KUMAR H, GROVER C, SOOD S, REDDY BSN, BAMEZAI RNK. Association study of major risk single nucleotide polymorphisms in the common regulatory region of PARK2 and PACRG genes with leprosy in an Indian population. *European Journal of Human Genetics*. 2006; 14: 438–42.

MARTELLI CMT, STEFANI MMA, PENNA GO, ANDRADE ALSS. Endemias e epidemias brasileiras, desafios e perspectivas de investigação científica: hanseníase. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. 2002; 5: 273-85.

MAROJA MF. As recidivas com a poliquimioterapia. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2000; 55: 73-74.

MATSUOKA M, BUDIAWAN T, AYE KS, KYAW K, TAN EV, CRUZ ED, GELBER R, SAUNDERSON P, BALOGON V & PANNIKAR V. The frequency of drug resistance mutations in *Mycobacterium leprae* isolates in untreated and relapsed leprosy patients from Myanmar, Indonesia and the Philippines. *Leprosy Review*. 2007; 78: 343-52.

MEISNER SJ, MUCKLOW S, WARNER G, SOW SO, LIENHARDT C, HILL AV. Association of NRAMP1 polymorphism with leprosy type but not susceptibility to leprosy per se in west Africans. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2001; 65:733-35.

MENDONÇA VA, MALAQUIAS LC, BRITO-MELO GEA, CASTELO-BRANCO A, ANTUNES CM, RIBEIRO AL, ET AL. Short report: differentiation of patients with leprosy from non-infected individuals by the chemokine eotaxin/CCL11. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2007; 77: 547-50.

MENDONÇA VA, COSTA RD, BRITO-MELO GE, ANTUNES CM, TEIXEIRA AL. Imunologia da Hanseníase. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2008; 83(4): 343-50.

MILLER RA. Leprosy and AIDS: a review of the literature and speculations on the impact of CD4+ lymphocyte depletion on immunity to *Mycobacterium leprae*. Editorial. *International Journal of Leprosy*. 1991; 59(4): 639-44.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria Nacional de Programas Especiais de Saúde. Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária. Normas técnicas e procedimentos para exame baciloscópico em hanseníase. Brasília. 1989, 32pp.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia - CNDS. Guia de controle de hanseníase. 2ª Ed. Brasília, 1994.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Elaborada pela Área Técnica de Dermatologia Sanitária. Legislação sobre o Controle da Hanseníase no Brasil – Brasília, 2000, 48pp.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia para o Controle da Hanseníase. Cadernos de atenção básica nº10. Série A. Normas e Manuais Técnicos; nº111. Brasília, DF. 2002, 89pp.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de Vigilância Epidemiológica. Série A. Normas e Manuais Técnicos. 6ª ed. Brasília, DF. 2005, 364-394pp.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Plano Nacional de Eliminação da Hanseníase em nível municipal 2006-2010. Brasília, DF. 2006, 1-31pp.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema Nacional de Vigilância em Saúde- Relatório de Situação: Espírito Santo. Brasília, DF. 2006, 7pp.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. SINAN/Banco de dados. Brasília, 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. SINAN/Banco de dados. Brasília, 2008.

MIRA MT, ALCAIS A, PIETRANTONIO T, THUC NV, PHUONG M C, ABEL L, SCHURR E. Segregation of HLA/TNF region is linked to leprosy clinical spectrum in families displaying mixed leprosy subtypes. *Genes and Immunity*. 2003; 4: 67-73.

MIRA MT, ALCAIS A, THUC NV, MORAES MO, SARNO E, MONTPETIT A, VERNER A, HUDSON TJ, ABEL L, SCHURR E. Susceptibility to leprosy is associated with PARK2 and PACRG. *Nature*. 2004; 427 (6975): 636-640.

MORAES MO, CARDOSO CC, VANDERBORGHT PR, PACHECO AG. Genetics of host response in leprosy. *Leprosy Review*. 2006; 77: 189–202.

MOUBASHER AEDA, KAMEL NA, ZEDAN H, RAHEEM DEDA. Cytokines in leprosy, I. Serum cytokine profile in leprosy. *International Journal of Dermatology*. 1998; 37(10): 733-40.

NERY JAC, GARCIA CC, WANZELLER SHO, SALES AM, GALLO MEN, VIEIRA LMM. Características clínico-histopatológicas dos estados reacionais nos pacientes submetidos à poliquimioterapia (PQT). *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 1999; 74(1): 27-33.

NORMAN G, JOSEPH G, RICHARD J. Relapses in multibacillary patients treated with multi-drug therapy until smear negativity: findings after twenty years. *International Journal of Leprosy*. 2004; 72(1): 1- 7.

OCHOA MT, VALDERRAMA L, OCHOA A, ZEA A, ESCOBAR CE, MORENO LH, FALABELLA R. Lepromatous and Tuberculoid Leprosy: clinical Presentation and Cytokine Responses. *International Journal of Dermatology*. 1996; 35(11): 786-90.

OLIVEIRA MLW. A cura da hanseníase X magnitude das recidivas. *Anais brasileiros de Dermatologia*. 1997; 72: 63-9.

OLIVEIRA MLW, PIERRO APS, SILVEIRA PAM, CAMPOS MMC, VILELA MF. Relapse of lepromatous leprosy after WHO/MDT with rapid bacterial growth. *Leprosy Review*. 2002; 73: 386-88.

OPROMOLLA DVA. *Noções de Hansenologia*. Bauru: Centro de Estudos Dr. Reynaldo Quagliato. Brasil. 2000; 126pp.

PARKASH O, KUMAR A, NIGAM A, GIRDHAR BK. Detection of antibodies against *Mycobacterium leprae* culture filtrate protein-10 in leprosy patients. *Journal of Medical Microbiology*. 2006; 55: 1337-41.

PEREIRA JÚNIOR DB. *Principais Técnicas Laboratoriais em Exames Parasitológicos de Fezes*. 3ª Edição. Vitória. Brasil. 2002; 66pp.

PREVEDELLO FC, MIRA MT. Hanseníase: uma doença genética? Anais Brasileiros de Dermatologia. 2007; 82(5): 451-9.

RAMU G. Clinical features and diagnosis of relapses in Leprosy. Indian Journal of Leprosy. 1995; 67(1): 45-59.

RIDLEY DS, JOPLING WH. Classification of leprosy according to immunity. International Journal of Leprosy. 1966; 34:255-73.

REY L. Dicionário de termos técnicos de medicina e saúde. 2ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003; 950p.

ROACH DR, BEAN AGD, DEMANGEL C, FRANCE MP, BRISCOE H, BRITTON WJ. TNF regulates chemokine induction essential for cell recruitment, granuloma formation, and clearance of Mycobacterial infection. Journal of Immunology. 2002; 168:4620-7.

ROUQUAIROL MZ, KERR P. A medida da saúde coletiva. In: ROUQUAIROL MZ. Epidemiologia e Saúde. Brasil. 4ª edição. Rio de Janeiro: Medsi, 1993; 23-76p.

SAMPAIO EP & SARNO EM. Expression and cytokine secretion in the states of immune reactivation in leprosy. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 1998; 31: 69-76.

SANTOS AR, SUFFYS PN, VANDERBORGHT PR, MORAES MO, VIEIRA LM, CABELLO PH, et al. Role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 promoter gene polymorphisms in leprosy. Journal of Infection Disease. 2002; 186:1687-91.

SARNO EN. Imunologia da lepra: mecanismos imunológicos envolvidos na determinação do espectro clínico. Setor de hanseníase. Instituto Oswaldo Cruz. Fundação Oswaldo Cruz. 1993, 19pp.

SAUNDERSON P & WADDELL K. Tuberculoid relapse in lepromatous leprosy – Letter to the editor. *Leprosy Review*. 1993. 64: 170-1.

SCAPINI P, LAPINET-VERA JA, GASPERINI S, CALZETTI F, BAZZONI F, CASSATELLA M. The neutrophil as a cellular source of chemokines. *Immunology Review*. 2000; 177:195-203.

SCOLLARD DM, ADAMS LB, GILLIS TP, KRAHENBUHL JL, TRUMAN RW, WILLIAMS DL. The continuing challenges of leprosy. *Clinical Microbiology*. 2006; 19(2): 338-81.

SCOLLARD DM. Epidemiologic characteristics of leprosy reactions. *International Journal of Leprosy and other Mycobacteria*. 1994; 62: 559-69.

SEHGAL VN, JAIN S, CHARYA SNB. Persisters, Relapse (Reaction), Drug resistance and Multidrug Therapy (MDT): Uniform Diagnostic Guidelines for Leprosy are Needed. *Journal of Dermatology*. 1996; 23: 905-7.

SENGUPTA U. Immunological aspects of relapse in leprosy. *Indian Journal of Leprosy*. 1995; 67:81-3.

SHETTY VP, SUCHITRA K, UPLEKAR MW, ANTIA NH. Persistence of *Mycobacterium leprae* in the peripheral nerve as compared to the skin of multidrug-treated leprosy patients. *Leprosy Review*. 1992; 63: 329-36.

SILVA SMUR, CARVALHO CPM, MARCOS EVC, SOUZA FC, URA S, ALMEIDA RAM B. Identificação dos alelos HLA de classe I e classe II em pacientes co-infectados com hanseníase e Aids. *Hansenologia Internationalis*. 2006; 31 (2): 29-34.

SINGH N & PERFECT JR. Immune Reconstitution Syndrome and Exacerbation of Infections after Pregnancy. *Clinical Infectious Diseases*. 2007; 45:1192–9.

SPELLBERG B, EDWARDS JE Jr. Type 1/Type 2 immunity in infectious diseases. *Clinical Infectious Disease*. 2001; 32:76-102.

TALHARI C, MACHADO PRL, FERREIRA LC, TALHARI S. Shifting of the clinical spectrum of leprosy in an HIV-positive patient: a manifestation of immune reconstitution inflammatory syndrome? *Leprosy Review*. 2007; 78:151–4.

TALHARI C, FERREIRA LCL, ARAÚJO JR, TALHARI AC, TALHARI S. Immune reconstitution inflammatory syndrome or upgrading type 1 reaction? Report of two AIDS patients presenting a shifting from borderline lepromatous leprosy to borderline tuberculoid leprosy. *Leprosy review* 2008; 79(4):429-35.

TALHARI S, NEVES RG, PENNA GO, OLIVEIRA MLW. Hanseníase. Manaus. Brasil. 4ª Ed. 2006; 216pp.

TOMAN K. Bacterial persistence in leprosy. International Journal of Leprosy. 1981; 49: 205-17.

TRIFILIO MO. Avaliação baciloscópica da hanseníase virchowiana: estudo de 60 autópsias. 1991. Tese de Mestrado, Universidade de São Paulo, Bauru.1991.

WALKER SL, LOCKWOOD DNJ. The clinical and immunological features of leprosy. British Medical Bulletin. 2006; 1-19.

WATERS MFR & RIDLEY DS. Tuberculoid relapse in lepromatous leprosy. Leprosy Review. 1990. 61: 353-65.

WENG X, WANG Z, KIMURA M, BLACK WC, HUANYING L, VISSA VD. Identification and distribution of *Mycobacterium leprae* Genotypes in a Region of High Leprosy Prevalence in China: a 3-Year Molecular Epidemiological Study. American Society for Microbiology. 2007; 45(6): 1728-34.

WILKINSON KA, KATOCH K, SENGUPTA U, SINGH M, SARIN KK, IVANYI J, WILKINSON RJ. Immune Responses to Recombinant Proteins of *Mycobacterium leprae*. The Journal of Infectious Diseases. 1999; 179: 1034-37.

ANEXO 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (CASO)

Instituição: Serviço de Dermatologia da Santa Casa de Misericórdia de Vitória (ES) e Núcleo de Doenças Infecciosas da Universidade Federal do Espírito Santo.

Título do Projeto: Caracterização das recidivas hansênicas no estado do Espírito Santo

Responsável: Karina Demoner de Abreu.

Nome do paciente

Eu estou sendo convidado a participar de um estudo que reúne pessoas que fizeram tratamento de poliquimioterapia para hanseníase, receberam alta no tempo correto, e agora estão apresentando suspeita de retorno (recidiva) da doença.

Informações sobre o estudo: a hanseníase é doença infecciosa crônica, causada por um bacilo, que tem tratamento através da poliquimioterapia e cura. Mas, por fatores ligados ao bacilo, ao paciente e ao meio ambiente social, 8% dos doentes, podem permanecer com bacilos latentes no corpo, ou receber bacilos de outros doentes, e a doença reaparecer (recidiva). Poucos pacientes podem apresentar resistência aos medicamentos poliquimioterápicos. O Ministério da Saúde admite que menos de 1% dos pacientes recidivam a doença, portanto é rara. Este estudo tem o objetivo de conhecer as características dos pacientes que recidivam e a minha participação se deve a esta suspeita diagnóstica. Para tanto, o estudo submeterá os participantes aos procedimentos de biópsia de pele, retirada de sangue, baciloscopias de pele, exame parasitológico de fezes por médicos e profissionais de saúde experientes.

Benefícios oferecidos para quem participa: diagnóstico baseado em exames mais complexos e modernos; acompanhamento mais próximo e maior atenção a qualquer complicação pela unidade de saúde.

Riscos potenciais: entendo que a doação de uma amostra de meu sangue para a realização dos testes diagnósticos poderá causar dor e pequena reação local. A biópsia de pele é um procedimento simples e rápido, realizado em ambulatório, mas poderá deixar pequena cicatriz.

Garantias oferecidas: o cumprimento do que foi informado acima; gratuidade de todos os procedimentos; e sigilo da identidade do participante do estudo.

Maiores informações: entrar em contato com Dra. Karina Demoner de Abreu, no telefone 3323 00 32, ambulatório da Santa Casa de Misericórdia de Vitória (ES) de segunda a sexta feiras, no horário de 08:00 às 11:00 horas.

Declaro que estou ciente e de acordo com todas as informações contidas neste Termo de Consentimento e após ter obtido as respostas às minhas perguntas, decidi participar deste estudo. Estou também ciente que poderei fazer quantas perguntas desejar durante o estudo e que receberei uma cópia deste Termo.

Assinatura:

CI.....anos, em pleno gozo de minhas faculdades mentais, concordo em participar do projeto.

Local:....., **data:**

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (CONTROLE)

Instituição: Serviço de Dermatologia da Santa Casa de Misericórdia de Vitória (ES).

Título do Projeto: Características da recidiva na hanseníase no estado Espírito Santo-2006-2009.

Responsável: Karina Demoner de Abreu

Nome do controle:

Informações sobre o estudo: a hanseníase é uma doença crônica, causada pelo bacilo de Hansen, que tem tratamento e cura. A poliquimioterapia (PQT) é utilizada para o tratamento da hanseníase desde o início dos anos oitenta, com sucesso em todo o mundo. Entretanto, por fatores, ao que parece, mais ligados ao bacilo, ao paciente e seu ambiente social, cerca de 8% dos que adoeçam podem permanecer com alguns bacilos latentes no corpo. Também, pode ocorrer que a pessoa receba novos bacilos no seu ambiente social, o que pode favorecer o reaparecimento da doença, que é chamada **recidiva**, ainda pouco freqüente em nosso meio. Uma outra causa de recidiva seria a resistência dos bacilos aos medicamentos da PQT. A hanseníase também pode apresentar reações agudas, mesmo após a alta do tratamento e, em alguns pacientes essas reações podem demorar anos e serem confundidas com a recidiva.

Esse estudo tem o objetivo de conhecer as características dos pacientes que recidivam e a participação de cada um se deve a essa suspeita diagnóstica e seus controles. Ou seja, o sr. (a) está sendo convidado como uma pessoa que apresentou o diagnóstico e tratamento de hanseníase no mesmo período e região de uma outra pessoa que está novamente com os sintomas da doença. Foi sorteado para ser examinado como controle saudável, para comparação, por sorteio. Além do exame clínico, o sr. (a) será submetido (a) a uma punctura no dedo para retirada de 1 gota de sangue por médicos e profissionais de saúde experientes, com a finalidade de um teste de identificação da presença indireta da presença da bactéria em seu organismo.

Benefícios oferecidos para quem participa: avaliação clínica e certificação da ausência de evidências de hanseníase, em uma consulta apenas.

Riscos potenciais: o teste tem resultado imediato, sem riscos. A punctura é com uma lanceta e causa a dor de uma picada.

Garantias oferecidas: o cumprimento do que foi informado acima, gratuidade de todos os procedimentos e que as informações do estudo sejam divulgadas preservando o sigilo da identidade dos participantes. Os resultados dos exames e dados da pesquisa serão de responsabilidade dos coordenadores locais de cada unidade estadual e da coordenação nacional da pesquisa.

Maiores informações: entrar em contato com entrar em contato com Dra. Lucia Martins Diniz, no telefone 3323 00 32, ambulatório da Santa Casa de Misericórdia de Vitória (ES) de segunda a sexta feiras, no horário de 08:00 às 11:00 horas.

Nome do controle Eu-----

-----estou sendo convidado a participar de um estudo que reúne pessoas que fizeram tratamento de poliquimioterapia para hanseníase, em diferentes estados brasileiros, receberam alta e não apresentam sinais e sintomas da doença, para comparar com outras pessoas, com esses sintomas.

Declaro que estou ciente e de acordo com todas as informações contidas neste Termo de Consentimento e após ter obtido respostas às minhas perguntas decidi participar deste estudo. Estou também ciente que poderei fazer quantas perguntas desejar durante o estudo e que receberei uma cópia desse Termo.

Assinatura:-----,CI.....

.anos, em pleno gozo de minhas faculdades mentais, concordo em participar do projeto.

Local:.....**Data:**.....

ANEXO 3

Projeto RECHANE/IFRJ-Processo N 401296/2005-B-Edital MCT-CNPq/ME-SCITEB-NE15/2005

ANEXO 3

INVESTIGAÇÃO DE CASO DE RECIDIVA DE HANSENÍASE

1-Grupo: Caso() Controle()

2) Nº _____ 3) UF _____ 4) U.S.atual _____ 5) U.S. trat.inicial _____

6) Nome: _____ 7) Pront: _____ 8) SINAN: _____

9) D.Nasc. ___/___/___ 10) Sexo F () M () 11) Escolaridade: ___anos 12) Ocupação _____

13) Endereço _____ 14) Tel: _____

15) Tempo de residência _____ 16) Residência anterior (bairro) _____

17) Nº cômodos na casa: _____ 18) Convívio caso hansen (últimos 5 anos) S () N ()

19) Tipo contato: Pai/Mãe/Irmão () Parentes de sangue () Parentes não sangue () Afetivos ()

20) Nome _____ Dt diag: ___/___/___ F.Clinica: MB () PB ()

21) Nome _____ Dt diag: ___/___/___ F.Clinica: MB () PB ()

1)

2) Tto inicial: 22) Dt. diag. ___/___/___ 23) FC: I () T () BT () BB () BV () V () FNP () PB () MB () PC ()

3) 24) G.L.Física: 0 () 1 () 2 () NR () 25) Baciloscopia: Pos () Neg () NR () Índice IB: _____

4)

5) 26) Histopatologia: I () T () BT () BB () BV () V () NC () NR () CC () 27) ILE _____

28) Esquema de tratamento: PQT/PB 6 DS () PQT/MB 12 DS () PQT/MB 24 DS ()

ROM () DNDS+PQT () DNDS () Outros _____

29) Reação hanseniana no tratamento: S () N () 30) Tipo I () Tipo II () Mista () Neurite isolada ()

31) Dt alta/cura: ___/___/___ 32) GIF: 0 () 1 () 2 () NR () 33) Nº troncos nervosos afetados/alta: _____

Pós Alta: 34) Reação: S () N () 35) Tipo: I () II () Mista () Neurite isolada ()

36) Data 1º surto recidival: ___/___/___ 37) Data último surto recidival: ___/___/___

38) Tratamento para reação: Pred () Tabid () P+T () Outros _____

39) Nº meses tratamento: Prednisona _____ 40) Tabidomida _____ 41) Clofazimina _____

Projeto RECHANS/UFRJ-Processo N 401296/2005-9-Edital MCT-CNPq/MS-SCTIE-N35/2005

42) Resposta: Boa () Ruim () 43) Crit clínico Recidiva: S () N () 44) Lesões: mácula () pápula () infiltração difusa () nódulos () Placas infiltradas () úlceras () área hipostésica ()

45) Respoão: S () N () 46) Tipo: I () II () Mista () Neurite isolada ()
 47) Comp geral: S () N () 48) GIF: 0 () 1 () 2 () NA () 49) Nº troncos nervosos afetados/total: ..
 50) Re-Teste PQT: S () N () 51) Espessura ímpulsional: PQT/TS GDS () PQT/MS LENS ()
 PQT/MS 240S () Outro _____ 52) Data última avaliação: ___/___/___

53) Et. diag. respoãve: ___/___/___ 54) Local diagnóstico: Própria US () US de referência ()

55) Lesões: mácula () pápula () infiltração () difusa () nódulos () Placas infiltradas ()
 úlceras () área hipostésica ()

56) RC: I () T () BT () BS () BV () V () RNP () NC ()

57) GIF: 0 () 1 () 2 () NA () 58) respoãve: S () N ()

59) Tipo: I () II () mista () neurite isolada () 60) Comp geral: S () N ()

61) N. troncos nervosos afetados: ___ 62) N. ulnar () radial () tibular () Típicos () outros: ___

63) Baciloscopia: Pos () Neg () NR () 64) Desc. Morph. Glóbulos () agrupados () isolados ()
 65) Infeção: M () S ()
 longos () fragmentados ()

66) Histoquímica: I () T () BT () BS () BV () V () CC () NC ()

67) Local hist. Pda () Nervo ()

68) Descric. glóbulos () agrupados () íntegros () fragmentados () isolados () 69) ILB: _____

70) Sorologia: 1) ANFLCW _____ 2) Etilos atual: _____ 3) anterior: _____ 4) posterior: _____ 5) NR

Data: ___/___/___ Origem Teste: _____

71) Co-morbidades DM S () N () HAS S () N () HIV S () N () Outras: _____

Hep. C S () N () TB S () N () Neo S () N ()

72) Sensibilidade medicamentosa- seq Sanstamentos

rhoB mutação Não Sim Tipo: _____

FoxP1 mutação Não Sim Tipo: _____

GynA mutação Não Sim Tipo: _____

Outr: _____

73) Sensibilidade medicamentosa: inoculação: _____

Projeto RECHANS/UFRJ-Processo N 40.1296/2003-9-Etapa1 MCT-CNPq/MB-SCTIE-N35/2003

74) Data de Início de re-tratamento: ___/___/___

75) Esq. de tratamento: PQT/PB 6DS() PQT/MB 12DS() PQT/MB 24DS() Outros _____

Avaliação clínica e neurológica 3º mês de tratamento

76) Quadro cutâneo Melhorado () inalterado () piorado () 77) reação S () N () _____

Medicação

78) Avaliação neurológica: Melhorado () inalterado () piorado () (preencher ficha em anexo)

Obs: _____

Médico responsável _____ Função: _____ Data ___/___/___

Avaliação clínica e neurológica 6º mês de tratamento

79) Quadro cutâneo: melhorado () inalterado () piorado () 80) reação S () N () Tipo() I ()

II () mista () neurite isolada ()

Médico responsável _____ Função: _____ Data

___/___/___

Projeto RECHANS/UFRJ-Processo N 401296/2005-9-Edital MCT-CNPq/MS-SCTIE-N35/2005
Avaliação clínica e neurológica 12º mês de tratamento

81) Dt alta/curar: ___/___/___ 82) GIF 0 () 1 () 2 () NA () 83) Nº troncos nervosos afetados: _____

84) Reação S () N () 85) Tipo: I () II () mista () neurite isolada ()

Descrição de garras e seqüelas-----

86) Baciloscopia: Pos () Neg () NR () 87) Morfol. Globias agrupados () isolados ()

Íntegros () fragmentados () 88) Índice: ___NR 89) Serologia: MLFLCW _____

90) Quadro cutâneo: lesões residuais () lesões infiltradas () ulcerações () garras ()

Médico responsável _____ Função: _____ Data ___/___/___

Avaliação clínica e neurológica 12º mês de tratamento

78) Dt alta/curar: ___/___/___ 81) GIF 0 () 1 () 2 () NA () 82) Nº troncos nervosos afetados: _____

83) Reação N () S () Tipo: I () II () mista () neurite isolada ()

Descrição de garras e seqüelas-----

84) Baciloscopia: Pos () Neg () NR () 85) Morfol. Globias agrupados () isolados ()

Íntegros () fragmentados () 86) Índice: ___NR 87) Serologia: MLFLCW _____

88) Quadro cutâneo: lesões residuais () lesões infiltradas () ulcerações () garras ()

Médico responsável----- Função:----- Data ----/--/--

FICHA DE AVALIAÇÃO NEUROLÓGICA SIMPLIFICADA

Esco	1	2	3
Quilha principal			
Resistência (S/N)			
Ferida (S/N)			
Perforação de agulha (S/N)			
Quilha principal			
Fecha olhos / força (mm)			
Fecha olhos c/ força (mm)			
Tríplice (S/N) / Extensão (S/N)			
Força. man. supra (S/N)			
Capacidade ocular (S/N)			
Capacidade (S/N)			
Atividade visual			

Membros Superiores	1	2	3
Quilha principal			
Ulnar			
Mediana			
Radial			

Legenda: N = normal; R = rigidez; D = dor

	1	2	3
Maneja dedos mínimos			
Abdução do 5º dedo (nervo ulnar)			
Flexão do polegar			
Abdução do polegar (nervo mediano)			
Flexão do punho			
Extensão do punho (nervo radial)			

Legenda: F=forte; D=diminuída; P=paralisação ou 5=forte; 4=Resistência parcial; 3=Movimento completo; 2=Movimento parcial; 1=Coarção; 0=Limitado.

INSPEÇÃO E AVALIAÇÃO SENSITIVA

1ª		2ª		3ª	
D	E	D	E	D	E

Legenda: Características (da 1ª): Garra / Não usar R ou Manuseio: usar man

Garra Móvel: M Garra Rígida: R Reabsorção: Ferida:

Projeto RECHANS/UFRJ-Processo N 401296/2005-9-Edital MCT-CNPq/MG-ECTIB-N15/2005

MEMBROS INFERIORES	1ª		2ª		3ª	
Queda principal						
Palpação de nervos	D	E	D	E	D	E
Fibular						
Tibial posterior						

Legenda: N = normal E = espessado D = dor

Avaliação da Força		1ª		2ª		3ª	
		D	E	D	E	D	E
Elevar o hálux							
Extensão de hálux (nervo fibular)							
Elevar o pé							
Dorsiflexão de pé (nervo fibular)							

Legenda: F=Força D=Diminuída P=Paralisado ou 5=Força 4=Resistência Parcial 3=Movimento completo, 2=Movimento Parcial, 1=Contração, 0=Paralisado

INSPEÇÃO E AVALIAÇÃO SENSITIVA

1ª		2ª		3ª	
D	E	D	E	D	E

Legenda: Carveta/filamento lã (3g): Sente ✓ Não sente X ou Monofilamentos: seguir cores
 Gama Móvel: M Gama Rígida: R Ressecção: Ferida:

CLASSIFICAÇÃO DO GRAU DE INCAPACIDADE (OMS)

DATA DA AVALIAÇÃO	OLHOS		MÃOS		PÉS		MAIOR GRAU	ASSINATURA
	D	E	D	E	D	E		
Aval. diagnóstico ___/___/___								
Aval. acompanhamento ___/___/___								
Aval. acompanhamento ___/___/___								
Aval. de alta ___/___/___								

OBS:

Prof. Responsável: Função: Data: ___/___/___

Fig 1) Lesões início de tratamento

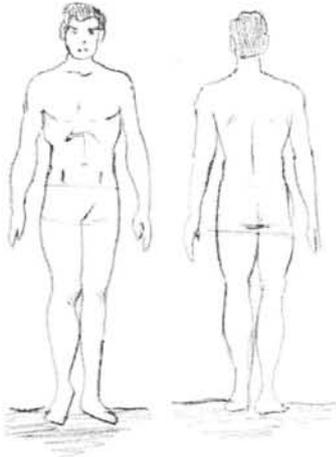


Fig 2) Final de tratamento

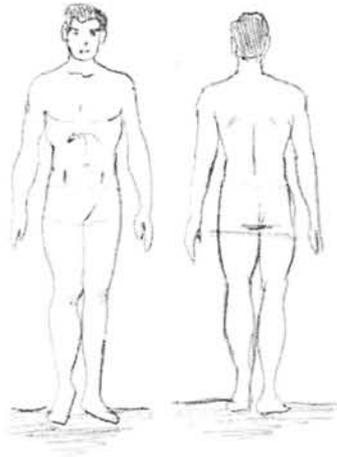


Fig.3) Lesões recidiva

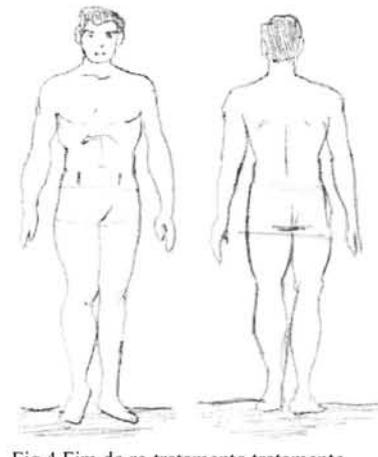
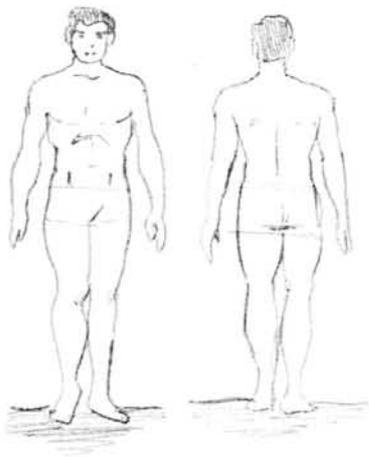


Fig.4 Fim do re-tratamento tratamento

O Caso não seja possível obter o registro das lesões do início de 1º tratamento assinalar apenas as Fig. 3 e 4.

Médico responsável-----Função:-----

Data de preenchimento----/----/-----

Projeto RECHANS/UFRJ-Processo N 401296/2005-9-Edital MCT-CNPq/MS-SCTIE-N35/2005

ANEXO 5 - FICHA DE INVESTIGAÇÃO DE RECIDIVA DE HANSENÍASE (INSTRUCIONAL)

Dados demográficos e história epidemiológica

- 1) Assinalar se caso de recidiva ou controle
 - 2) Nº - preenchimento banco de dados. Deixar em branco na unidade. Preenchimento centralizado
 - 3) LE - estado do diagnóstico de recidiva atual
 - 4) US - unidade de saúde do diagnóstico de recidiva atual
 - 5) unidade de saúde do tratamento inicial (se for outra)
 - 6) Nome completo
 - 7) Nº Procuradoria local
 - 8) Nº que a unidade registra pacientes no SINAN (Secretaria Municipal e Estado-EMSE)
 - 9) Data de nascimento
 - 10) Sexo
 - 11) Nº de anos que frequenta a escola
 - 12) Casado(a) (se não casado(a) preencher esta)
 - 13) endereço completo
 - 14) Nº de telefones ou referências
 - 15) Tempo de residência atual na municipalidade/estado
 - 16) Estado de residência anterior, se mudou nos últimos 10 anos.
 - 17) Caracterizar quais as condições (nº de contatos, duração e natureza)
 - 18) Se conviveu ou convive com caso de Hanseníase no domicílio ou predominantemente, por mais de 3 meses
- 19) Se conviva, colorar o n correspondente ao tipo de contato: 1= pai/mãe, irmão/irmã; 2=todos os demais parentes e sangue (avós, tios de sangue, primo até 1º grau); 3=parentes que não são de sangue (cunhadas, sogras/genro/nora, cunhados, tios af consanguinidade, filhos adotivos, enteados), 4=afetivos (amigos, colegas, namorados, noivos, vizinhos, inquilinos)
- 20/21)- Registrar nome completo e data de diagnóstico (pelos menos ano) até dois conviventes

Diagnóstico e tratamento inicial

- 22)- Registrar a data de tratamento do 1º diagnóstico, pelo menos o ano (último tratamento regular)
- 23)- Fazer esboços para levantar a firma clínica do paciente. Se de todo não for possível incluir PB/MB
- 24)- O grau de incapacidade física no diagnóstico
- 25)- Resultado da bacterioscopia, se houver
- 26)- Resultado da histopatologia. Se e laudo não foi concluído mediante (NC), se foi compatível com a doença (CC)
- 27)- Índice I. regular do Higiene: se realizado ou se há possibilidade de se fazer com a firma anterior.
- 28)- De acordo com os critérios de inclusão/exclusão vão entrar todos os seguintes quinoloterápicos oficiais, desde que o paciente tenha completado o esquema de tratamento. Se for uso de esquemas alternativos, assinalar outros e detalhar as drogas utilizadas.
- 29)- Se houve reação durante o tratamento específico
- 30)- Qual o tipo de reação
- 31)- Data de alta do tratamento
- 32)- Grau de incapacidade física na alta
- 33)- Nº de troncos nervosos afetados na alta

Pós Alta

- 34)- Se apresentou reação pós-alta
- 35)- Qual o tipo de reação
- 36)- Data 1º surto reacional
- 37)- Data último surto reacional
- 38)- Tratamento para reação
- 39)- Nº de meses que fez uso de PREDNISONA
- 40)- Nº de meses que fez uso de TALIDOMIDA
- 41)- Nº de meses que fez uso de CLOFAZIMINA
- 42)- Resposta aos tratamentos efetivados (sem reação com a suspensão do medicamento >3 meses)
- 43)- Se houve suspeita de recidiva
- 44) assinalar as lesões apresentadas, mesmo que mais de um tipo de lesão
- 45)- Se havia lesões reacionais em suspeita de recidiva anterior
- 46) Tipo de reação
- 47)- Se houve comprometimento geral (febre, anorexia, mal estar)
- 48)- Grau de incapacidade física (último avaliação antes da suspensão do tratamento ou pós-alta)
- 49)- Nº de troncos nervosos afetados nessa avaliação (preencher registros de envolvimento truncular)