

CENTRO UNIVERSITÁRIO SAGRADO CORAÇÃO

ISABELA SILVA CARRILHO

HANSENÍASE: ASPECTOS IMUNOLÓGICOS E DIAGNÓSTICO

BAURU

2020

ISABELA SILVA CARRILHO

HANSENÍASE: ASPECTOS IMUNOLÓGICOS E DIAGNÓSTICO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como parte dos requisitos
para obtenção do título de bacharel em
Biomedicina - Centro Universitário
Sagrado Coração.

Orientadora: Prof.^a Dra. Ana Paula Fávaro
Trombone Garlet.

BAURU

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com
ISBD

C317h	<p>Carrilho, Isabela Silva</p> <p>Hanseníase: aspectos imunológicos e diagnóstico / Isabela Silva Carrilho. -- 2020. 56f. : il.</p> <p>Orientadora: Prof.^a Dra. Ana Paula Fávaro Trombone Garlet</p> <p>Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Centro Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO - Bauru - SP</p> <p>1. Hanseníase. 2. Mycobacterium leprae. 3. Resposta imunológica. 4. Diagnóstico. I. Garlet, Ana Paula Fávaro Trombone. II. Título.</p>
-------	---

ISABELA SILVA CARRILHO

HANSENÍASE: ASPECTOS IMUNOLÓGICOS E DIAGNÓSTICO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como parte dos requisitos
para obtenção do título de bacharel em
Biomedicina - Centro Universitário
Sagrado Coração.

Aprovado em: ___/___/___.

Banca examinadora:

Prof.^a Dra. Ana Paula Fávaro Trombone Garlet (Orientadora)
Centro Universitário Sagrado Coração

Prof.^a Dra. Michelle de Campos Soriani Azevedo
Faculdade de Odontologia de Bauru (FOB) – Universidade de São Paulo (USP)

Dedico este trabalho aos meus pais, por todo amor, paciência, incentivo, compreensão e apoio durante todo o Curso de Graduação e a todas as pessoas acometidas pela hanseníase.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo privilégio da vida, por me conceder saúde e força para vencer os obstáculos encontrados ao longo do curso.

À Professora Doutora Ana Paula Fávaro Trombone Garlet, que me acolheu como sua orientanda, por ser um exemplo em minha formação acadêmica e pelos conhecimentos compartilhados.

Aos meus pais, Antonio Nunes Carrilho e Angela Maria Gomes da Silva Carrilho que sempre estiveram ao meu lado me apoiando ao longo de toda a minha trajetória.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê” (Arthur Schopenhauer).

RESUMO

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica, que afeta a pele e o sistema nervoso periférico, causada pelo *Mycobacterium leprae*, apresentando uma situação preocupante, na maioria dos estados brasileiros. Este estudo corresponde à uma revisão de literatura a respeito da hanseníase, com ênfase nos aspectos clínicos e imunológicos, além das principais técnicas utilizadas no diagnóstico desta doença. Para isto, foram realizadas buscas por publicações relevantes ao tema nas bases de dados Google Acadêmico, Scielo, PubMed e LILACS. A pesquisa bibliográfica considerou artigos, livros e manuais publicados em inglês e português, em qualquer ano de publicação, utilizando os seguintes descritores: hanseníase, hanseníase e imunologia, hanseníase e imunopatologia, hanseníase e diagnóstico, teste ML Flow hanseníase, teste ELISA hanseníase, ELISA e hanseníase e MPLA hanseníase. Foram utilizados 45 artigos, que juntamente com os livros e manuais totalizaram 53 referências. As manifestações expressas pelos indivíduos estão associadas à resposta imune desenvolvida e as incapacidades provenientes da doença reduzem a qualidade de vida dos portadores, sendo assim, o diagnóstico precoce, o tratamento adequado e o conhecimento da resposta imunológica envolvida são fatores relevantes. Tal trabalho contribui para o conhecimento da importância do apoio aos avanços no campo das pesquisas e acesso às informações sobre a doença, a fim de reduzir o total de novos casos diagnosticados por ano.

Palavras-chave: Hanseníase. *Mycobacterium leprae*. Resposta imunológica. Diagnóstico.

ABSTRACT

Leprosy is a chronic infectious disease that affects the skin and the peripheral nervous system, caused by *Mycobacterium leprae*, presenting a worrying situation in most Brazilian states. This study corresponds to a literature review about leprosy, with an emphasis on clinical and immunological aspects, in addition to the main techniques used in the diagnosis of this disease. For this, searches for publications relevant to the topic were carried out in the Google Scholar, Scielo, PubMed and LILACS databases. The bibliographic search considered articles, books and manuals published in English and Portuguese, in any year of publication, using the following descriptors: leprosy, leprosy and immunology, leprosy and immunopathology, leprosy and diagnosis, ML Flow leprosy test, leprosy ELISA test, ELISA and leprosy and MPLA leprosy. 45 articles were used, which together with books and manuals totaled 53 references. The manifestations expressed by the individuals are associated with the developed immune response and the disabilities resulting from the disease reduce the quality of life of patients, therefore, early diagnosis, adequate treatment and knowledge of the immunological response involved are relevant factors. Such work contributes to the knowledge of the importance of supporting advances in the field of research and access to information about the disease, in order to reduce the total of new cases diagnosed per year.

Keywords: Leprosy. *Mycobacterium leprae*. Immunological response. Diagnosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Sinais hanseníase indeterminada (A) e tuberculóide (B)	18
Figura 2- A imunidade celular (IC) é inversamente proporcional ao índice baciloscópico (IB)	20
Figura 3- Inspeção dos olhos	27
Figura 4- Palpação dos principais nervos dos membros superiores	28
Figura 5- Palpação dos principais nervos dos membros inferiores	28
Figura 6- Pontos que devem ser testados e respectiva legenda	30
Figura 7- Estesiômetro	31
Figura 8- O teste é pontuado positivo quando uma coloração na linha teste é observada (faixas 1+ a 4+) e negativo quando nenhuma coloração (faixa -) ou fraca (faixa +/-) é observada.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Escala logarítmica referente à quantidade de bacilos por campo microscópico.	36
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DCs	Células dendríticas
DD	Dimorfo-dimorfo
DT	Dimorfo-tuberculóide
DV	Dimorfo-virchowiano
ELISA	Técnica de imunoabsorção ligada a enzima
ENH	Eritema nodoso hansênico
HT	Hanseníase tuberculóide
HV	Hanseníase virchowiana
IB	Índice baciloscópico
IFN- γ	Interferon-gama
IL-2	Interleucina-2
IL-4	Interleucina-4
IL-5	Interleucina-5
IL-10	Interleucina-10
IL-12	Interleucina-12
IL-17	Interleucina-17
IL-21	Interleucina-21
IL-22	Interleucina-22
MB	Multibacilar
MHC	Complexo de histocompatibilidade principal
<i>M. leprae</i>	<i>Mycobacterium leprae</i>
MPLA	Teste de aglutinação de partículas
NK	Células <i>Natural Killer</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PB	Paucibacilar
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PGL-1	Glicolípido fenólico 1
PRR	Receptores de reconhecimento padrão
T CD4+	Linfócito T auxiliar
T CD8+	Linfócito T citotóxico
TGF- β	Fator de transformação do crescimento beta
Th0	Linfócito T virgem

Th1	Linfócito T <i>helper</i> 1
Th2	Linfócito T <i>helper</i> 2
Th17	Linfócito T <i>helper</i> 17
TLRs	Receptores <i>Toll-like</i>
TLR1	Receptor <i>Toll-like</i> 1
TLR2	Receptor <i>Toll-like</i> 2
TNF- α	Fator de necrose tumoral- α
TNF- β	Fator de necrose tumoral- β
Treg	Células T regulatórias
TT	Tuberculóide-tuberculóide
VV	Virchowiano-virchowiano

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVO	14
3	METODOLOGIA	14
4	DESENVOLVIMENTO	15
4.1	A DOENÇA.....	15
4.2	ASPECTOS IMUNOLÓGICOS.....	20
4.3	DIAGNÓSTICO	25
4.3.1	Diagnóstico clínico	26
4.3.2	Avaliação neurológica	26
4.3.3	Eletroneuromiografia	28
4.3.4	Testes de sensibilidade cutânea	29
4.3.5	Prova da histamina	32
4.3.6	Prova da pilocarpina	33
4.3.7	Baciloscopia	33
4.3.8	Teste de Mitsuda	36
4.3.9	Histopatologia	38
4.3.10	Biologia molecular	41
4.3.11	Sorologia utilizando PGL-1	42
4.3.11.1	<i>Teste ML Flow</i>	43
4.3.11.2	<i>Técnica de imunoabsorção ligada a enzima (ELISA)</i>	45
4.3.11.3	<i>Teste de aglutinação de partículas (MPLA)</i>	46
4.3.11.4	<i>Teste dipstick ou de fita simples</i>	46
4.3.12	Diagnóstico diferencial de reação reversa e recidiva	47
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
	REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica, causada por um bacilo intracelular, o *Mycobacterium leprae*, o qual apresenta predileção por macrófagos da pele e células de Schwann (sistema nervoso periférico). A doença é transmitida de pessoa para pessoa, através do contato íntimo e prolongado, principalmente pelo contato familiar e com indivíduos multibacilares, sem tratamento, sendo as principais vias de transmissão as vias aéreas superiores e mucosas (MARCIANO *et al.*, 2018; TALHARI *et al.*, 2015).

A doença se apresenta como um amplo espectro clínico. A mesma é dividida em duas formas polares, tuberculóide e virchowiana, e há ainda os subtipos intermediários, sendo eles dimorfo-tuberculóide, dimorfo-dimorfo e dimorfo-virchowiano. A fim de facilitar o tratamento, a Organização Mundial de Saúde classificou em paucibacilar e multibacilar, fazendo parte da classificação paucibacilar a hanseníase tuberculóide indeterminada, tuberculóide e dimorfo-tuberculóide, e a multibacilar abrange dimorfo-dimorfo, dimorfo-virchowiano e virchowiano (ROMERO-MONTOYA *et al.*, 2014).

As manifestações apresentadas pelos indivíduos estão associadas à resposta imune. Na pele pode levar à formação de lesões variadas, podendo variar de manchas, pápulas, placas, nódulos, até infiltração difusa. Quanto melhor a resposta celular Th1 desenvolvida, mais limitada será a doença, com um menor número de lesões e bacilos. Quando há predominância de resposta celular perfil Th2, células T regulatórias e resposta imune humoral, mais difusa e simétrica a doença será, com maior número de lesões e bacilos. Sendo assim, os indivíduos paucibacilares apresentam um acometimento neural mais precoce e grave quando comparado com indivíduos multibacilares (TALHARI *et al.*, 2015).

O diagnóstico é inicialmente clínico, baseado em anamnese e exame dermatológico, a fim de verificar lesões ou áreas com alteração de sensibilidade (FREITAS; CORTELA; FERREIRA, 2017).

As crianças fazem parte de um grupo de alto risco, sendo mais susceptíveis a contraírem a infecção e desenvolverem a doença se comparadas com membros adultos da família, isso ocorre em razão da inexperiência do sistema imune (CORTÉS; RODRÍGUEZ, 2004; ROMERO-MONTOYA *et al.*, 2014).

Quanto ao tratamento, atualmente, são considerados medicamentos de primeira linha, a Sulfona (Dapsona), a Clofazimina e a Rifampicina. Tanto a Sulfona quanto a Clofazimina são drogas bacteriostáticas, enquanto a Rifampicina é bactericida. A poliquimioterapia é o melhor esquema de que se dispõe hoje contra a doença (OPROMOLLA, 1997).

A hanseníase é doença de cuja existência se tem notícia desde a mais remota antiguidade, requerendo dos poderes públicos uma efetiva presença, ações específicas para o combate à mesma, oferecendo aos pacientes atenção e tratamento adequado. Apesar do sucesso obtido com o tratamento recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), a situação da hanseníase é preocupante, na maioria dos estados brasileiros. Sendo assim, para que se atinja a redução total de casos novos diagnosticados por ano, é de extrema importância apoio aos avanços no campo das pesquisas e acesso às informações sobre a doença, fatos que justificam o presente trabalho (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; TALHARI *et al.*, 2015).

2 OBJETIVO

Este estudo tem por objetivo realizar uma revisão de literatura sobre a hanseníase, com ênfase nos aspectos clínicos e imunológicos, além das principais técnicas utilizadas no diagnóstico desta doença.

3 METODOLOGIA

O presente estudo corresponde à uma revisão de literatura a respeito da hanseníase. Para isto, foram realizadas buscas por publicações relevantes ao tema nas bases de dados Google Acadêmico, Scielo, PubMed e LILACS. A pesquisa bibliográfica considerou artigos, livros e manuais publicados em inglês e português, em qualquer ano de publicação, utilizando os seguintes descritores: hanseníase, hanseníase e imunologia, hanseníase e imunopatologia, hanseníase e diagnóstico, teste ML Flow hanseníase, teste ELISA hanseníase, ELISA e hanseníase e MPLA hanseníase. Foram utilizados 45 artigos, que juntamente com os livros e manuais totalizaram 53 referências.

4 DESENVOLVIMENTO

4.1 A DOENÇA

A hanseníase, por muito tempo conhecida pela designação lepra, cuja existência se dá desde a antiguidade, foi descrita como uma doença que causava espanto, em razão das incapacidades e deformidades físicas relacionadas ao doente não tratado. O sujeito doente era considerado um objeto de exclusão e ao mesmo tempo, de piedade. Era tida como referência de uma doença contagiosa, fato que obrigava o afastamento social de seus portadores. Para os hebreus, por exemplo, não se tratava de uma enfermidade, mas sim de uma maldição, castigo divino. Todo esse preconceito sobre os enfermos acarretou graves problemas psicossociais (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; SILVA JÚNIOR *et al.*, 2008).

Da crença de ser uma doença contagiosa e incurável, surgiu a repulsa pelos seus portadores. Regras sociais eram impostas aos hansenianos, deveriam andar com as cabeças cobertas e de calçado, não podiam lavar suas roupas em lugares públicos, sofriam castigos se entrassem em padarias, mercados, ou se tocassem em algum alimento, eram proibidos a exercerem algumas profissões e viviam isolados em hospitais-colônias, separados de pessoas sadias. O isolamento compulsório contribuiu para reforçar a marginalidade já existente, contribuindo assim para reforçar também a identidade de “o leproso” (EIDT, 2004; MONTEIRO, 1987).

Na era pré-microbiológica acreditava-se que a hanseníase era uma doença hereditária, já que agregação familiar era observada com frequência. No século XVII Armauer Hansen identificou o bacilo causador da doença, confirmando ser uma doença infecciosa (PREVEDELLO; MIRA, 2007).

Sendo assim, sabe-se hoje que a hanseníase é uma doença infecciosa crônica, de evolução lenta, cujo agente etiológico é o *Mycobacterium leprae*, também conhecido como bacilo de Hansen. Trata-se de um bacilo álcool-ácido resistente, parasita intracelular, com tempo de multiplicação de 10 a 16 dias e, depois de 7 dias, somente 1% permanece viável no ambiente, com tropismo pela pele e nervos periféricos, parasitando macrófagos e células de Schwann. Uma de suas características marcantes é o fato de não se reproduzir em meios de cultura artificiais ou celulares, desta forma, para manutenção dos bacilos e realização de estudos experimentais são utilizados animais como tatu e camundongos

imunocompetentes ou imunodeficientes, fato este que dificulta o avanço das pesquisas relacionadas ao patógeno (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; ARAÚJO, 2003; TALHARI *et al.*, 2015).

Acreditava-se que o *Mycobacterium leprae* era o único agente etiológico da hanseníase, até que em 2008 foi identificado o *Mycobacterium lepromatosis* em uma forma rara de hanseníase, conhecida como hanseníase lepromatosa difusa, através de um ensaio de cadeia da polimerase aninhada em dois pacientes mexicanos. Há relatos de identificação do *M. lepromatosis* também no Canadá, Brasil, Cingapura e Mianmar (SHARMA *et al.*, 2019).

A doença é transmitida de pessoa para pessoa, pelo convívio íntimo e prolongado de indivíduo susceptível, principalmente, com doentes multibacilares, sem tratamento, visto que após setenta e duas horas do início do tratamento, os bacilos eliminados pelo paciente não são capazes de se multiplicar no novo hospedeiro. As principais formas de eliminação do *Mycobacterium leprae* e com isso de transmissão, são as vias aéreas superiores e mucosas. Urina, fezes, suor, leite materno, secreções vaginais e esperma também são vias de transmissão, porém, são consideradas irrelevantes na epidemiologia se comparadas com a via área superior (LASTÓRIA; ABREU, 2012; LYON; GROSSI, 2013; TALHARI *et al.*, 2015).

Sabe-se que a maioria dos indivíduos são resistentes ao bacilo e não desenvolvem a doença, portanto, devem ser considerados os fatores genéticos do hospedeiro, resposta imune e fatores ambientais para avaliar a susceptibilidade dos indivíduos. O modo de vida da população, como aglomeração, falta de higiene, condição geral de nutrição, acesso aos serviços de saúde inadequados, condições sanitárias e habitacionais precárias, são fatores os quais algumas pesquisas têm dado importância quando se refere à transmissão da hanseníase (EVANGELISTA, 2004; LYON; GROSSI, 2013; SOUZA, 1997).

A infecção ativa por *M. leprae* é caracterizada por um amplo espectro, podendo variar de uma doença paucibacilar com presença de poucos bacilos a uma doença multibacilar, com uma grande carga bacilar nas lesões (GOULART; PENNA; CUNHA, 2002).

Segundo o Ministério da Saúde, PORTARIA Nº 3.125, DE 7 DE OUTUBRO DE 2010, a classificação operacional da hanseníase, visando o tratamento poliquimioterápico, é baseada no número de lesões cutâneas, sendo paucibacilar

(PB) casos com até 5 lesões de pele, e multibacilar (MB) casos com mais de 5 lesões (BRASIL, 2010).

A classificação de Madri divide a hanseníase em indeterminada, dimorfa, tuberculoide e virchowiana polares. Já a classificação proposta por Ridley e Jopling, empregada em pesquisas, introduz o conceito espectral. Considera as formas polares tuberculóide-tuberculóide (TT) e virchowiana- virchowiana (VV), e subdivide a dimorfa em dimorfa-tuberculóide (DT), dimorfa-virchowiana (DV) e dimorfa-dimorfa (DD). Adicionalmente, considera-se critérios clínicos, baciloscópicos, imunológicos e histopatológicos, visto que a classificação apenas por lesões pode implicar em erros no diagnóstico e tratamento (LASTÓRIA; ABREU, 2012; TALHARI *et al.*, 2015).

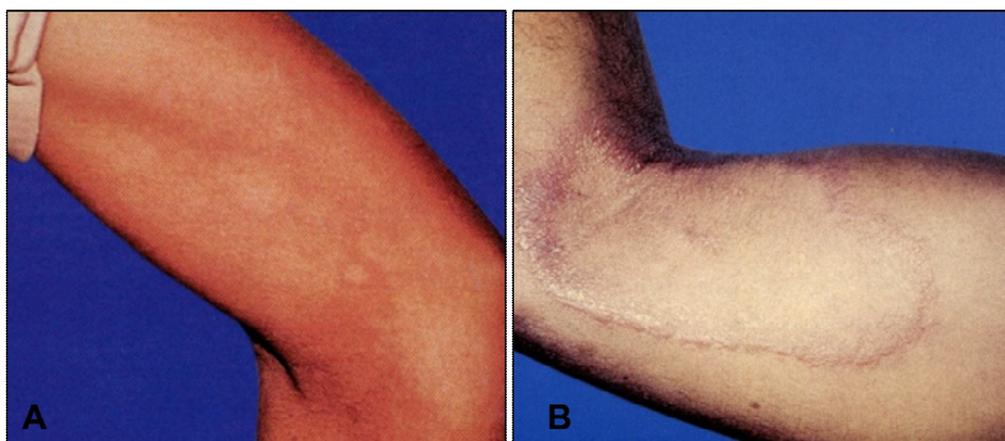
As manifestações clínicas da hanseníase são muito variáveis e estão mais relacionadas com a resposta imune do indivíduo frente à infecção pelo *M. leprae* do que a capacidade de multiplicação bacilar. A hanseníase se manifesta, principalmente, mas não somente, por lesões ou áreas de pele com comprometimento de sensibilidade. Os sinais e sintomas são tardios, podendo aparecer em um intervalo de 2 a 10 anos, ou mais (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; LYON; GROSSI, 2013; OPROMOLLA, 2000).

Manifestações neurológicas podem ocorrer e é a causa mais frequente de neuropatia periférica tratável. Inicialmente ocorre a invasão dos nervos dérmicos e superficiais resultando na diminuição de sensibilidade térmica, tátil, dolorosa, perda da sudorese e pelos, e com a evolução da doença pode ocorrer paralisia muscular. Sabe-se também do envolvimento das estruturas otorrinolaringológicas, apresentando a mucosa nasal espessada, ressecamento nasal, obstrução nasal, voz anasalada, destruição do septo nasal. O comprometimento das estruturais bucais é lento, mais presente em indivíduos virchowianos, sendo o palato duro o mais acometido. No aparelho auditivo somente o pavilhão auricular é acometido (TALHARI *et al.*, 2015).

A hanseníase indeterminada é a manifestação inicial da doença, pode evoluir para as formas polares e intermediárias, a qual pode manifestar-se com distúrbios de sensibilidade, sem alteração da cor da pele; as lesões podem permanecer estáveis, regredir ou evoluir para outras formas, podendo ser confundidas com pitíriase versicolor, eczemátide, dermatite seborreica, nevo hipocrômico ou vitiligo, como pode ser observado na Figura 1A. Na forma tuberculóide as lesões tendem a ser bem delimitadas, havendo quase sempre anidrose e perda de pelos, como

mostra a Figura 1B, a lesão neural pode ser precoce e grave. As doenças de pele que podem ser confundidas com hanseníase tuberculóide são dermatofitose, psoríase, dermatite seborreica, lúpus eritematoso discoide, esclerodermia em placa, sífilis, doença de Jorge Lobo, entre outras. A hanseníase virchowiana é observada em indivíduos com resposta imune celular deprimida para o *M. leprae*, pode evoluir a partir da indeterminada ou se apresentar desde o início, alguns exemplos das manifestações variadas apresentadas são infiltração progressiva e difusa da pele, mucosas das vias aéreas superiores, nervos, olhos; queda dos pelos dos membros, cílios e supercílios; obstrução nasal; edema dos membros inferiores; pápulas, nódulos e máculas na pele; comprometimento nervoso. A forma dimorfa apresenta manifestações intermediárias entre os polos, são instáveis (LYON; GROSSI, 2013; OPROMOLLA, 2000; TALHARI *et al.*, 2015).

Figura 1 - Sinais hanseníase indeterminada (A) e tuberculóide (B)



Fonte: OPROMOLLA, D.V.A., 2002.

As reações hansênicas são caracterizadas por manifestações cutâneas e neurais, principalmente, podendo ocorrer antes, durante ou após o tratamento da doença, em todas as formas clínicas, exceto na indeterminada. São responsáveis por importantes danos teciduais e podem ser divididas em reação hansênica tipo 1 ou reação hansênica tipo 2 (OPROMOLLA, 2000; TALHARI *et al.*, 2015).

A reação reversa ou reação hansênica tipo 1, ocorre principalmente em indivíduos dimorfo-tuberculóide, dimorfo-virchowiano e dimorfo-dimorfo e está associada à imunidade mediada por células, sendo possivelmente desencadeada por reação aos antígenos bacilares fragmentados e súbito aumento da imunidade

mediada por células; caracterizada pela exacerbação das lesões pré-existentes e o aparecimento de novas lesões. A reação do tipo 1 pode resultar em melhora ou piora da hanseníase, ao longo do espectro dimorfo; a reação de piora surge na ausência de tratamento e a de melhora surge após a instituição da poliquimioterapia (OPROMOLLA, 2000; SOUZA, 1997; TALHARI *et al.*, 2015).

A reação hansênica tipo 2 ou tipo eritema nodoso é considerada uma síndrome de imunocomplexos, ocorre em pacientes multibacilares, é um fenômeno sistêmico não sendo restrito à pele e as lesões pré-existentes permanecem inalteradas. Sabe-se que há tendência à recuperação da resposta imune celular durante a reação do tipo 2, com aumento de TNF- α e IFN- γ (OPROMOLLA, 2000; SOUZA, 1997; TALHARI *et al.*, 2015).

Segundo o Ministério da Saúde é considerado um caso de hanseníase a pessoa que apresenta um ou mais dos seguintes sinais cardinais, necessitando de tratamento poliquimioterápico: lesão/área da pele com alteração de sensibilidade; acometimento de nervos periféricos, com ou sem espessamento, associado a alterações sensitivas e/ou motoras e/ou autonômicas; baciloscopia positiva de esfregaço intradérmico. É uma doença de notificação compulsória em todo o território nacional e de investigação obrigatória (BRASIL, 2010).

As incapacidades provenientes da doença reduzem a qualidade de vida dos portadores, prejudicam a estabilidade emocional, social e produtiva dos mesmos. Assim, o diagnóstico precoce e o tratamento feito de forma correta são formas essenciais de interromper a transmissão e diminuir as consequências trazidas pela doença. Vale ressaltar que a hanseníase é curável. O tratamento é facilitado por existir drogas eficazes, de fácil aplicação e baixo custo, além da prática de autocuidados pelos pacientes, prevenindo incapacidades provocadas pela doença. Por outro lado, o diagnóstico, em grande parte dos estados do Brasil, ainda é tardio, cerca de dois anos após o aparecimento dos sintomas (ARANTES *et al.*, 2010; FELICIANO; KOVACS; ALZATE, 1998; LIMA *et al.*, 2018).

Pacientes que fizeram o tratamento inadequado apresentam alta probabilidade de recidivas, visto que a maioria das recidivas ocorre com microrganismos sensíveis a poliquimioterapia (FOSS, 2003).

No Brasil a hanseníase ainda representa um grande problema de saúde pública, marcada por deformidades e incapacidades, que por mais que exista cura seu controle é dificultado por várias razões como classificação inadequada,

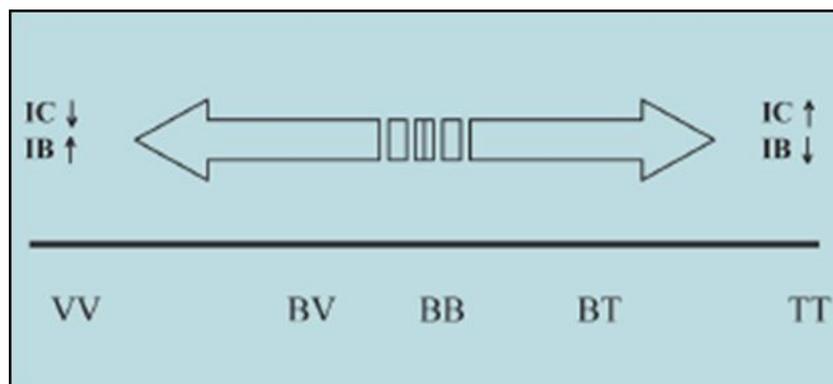
diagnóstico tardio, tratamento inadequado, acesso à atenção integral dificultada e o grande número de pessoas sequeladas (SILVA *et al.*, 2019).

4.2 ASPECTOS IMUNOLÓGICOS

A resposta imune é de extrema importância para a defesa do indivíduo frente ao *Mycobacterium leprae*. A alteração da resposta imune está relacionada com o desenvolvimento das variadas manifestações clínicas apresentadas pelos portadores da doença, sendo assim, quando há uma resposta imune adequada o desenvolvimento da doença é mais brando, enquanto que, no caso de uma resposta imune ineficiente a doença normalmente é mais grave (MENDONÇA *et al.*, 2008).

Pacientes pertencentes ao pólo tuberculóide apresentam boa resposta imune celular (Th1), limitando a doença a poucas lesões, enquanto indivíduos pertencentes ao pólo virchowiano apresentam concentrações elevadas de anticorpos no soro, associado com a deficiência da imunidade celular perfil Th1, predominando o perfil Th2, células T regulatórias e resposta imune humoral, sendo ineficiente para a eliminação dos bacilos, ocorrendo proliferação do *M. leprae* e presença de muitas lesões, como mostra a Figura 2 (FOSS, 1997; MENDONÇA *et al.*, 2008).

Figura 2– A imunidade celular (IC) é inversamente proporcional ao índice baciloscópico (IB)



Fonte: MENDONÇA *et al.*, 2008.

- Resposta imune inata frente ao *M. leprae*

Uma baixa virulência do *M. leprae* associada a uma efetiva resposta imune inata, refletem a uma resistência para o desenvolvimento da doença. A resposta

imune inata é caracterizada por mecanismos que já existem antes da ocorrência de uma infecção, resultando assim em uma resposta rápida contra os patógenos (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; MENDONÇA *et al.*, 2008).

A interação entre o *M. leprae* e o homem é mediada por receptores de reconhecimento padrão (PRR) presentes nas células do hospedeiro, os quais reconhecem padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs); sendo os receptores *Toll-like* (TLRs) exemplos de PRR. Os TLRs são expressos principalmente em monócitos, macrófagos e células dendríticas, que são as células apresentadoras de antígenos (MENDONÇA *et al.*, 2008; TALHARI *et al.*, 2015).

Os receptores TLR1, TLR2 e TLR6 são responsáveis por reconhecer componentes micobacterianos, incluindo o *M. leprae*, e produzem citocinas como TNF e interleucina 12. TLR1 e TLR 2 são mais encontrados em lesões de pacientes com hanseníase tuberculóide, se comparado com pacientes com hanseníase virchowiana. Curiosamente o comprometimento da expressão de TLR1 está associado com a resistência à hanseníase (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014).

O *M. leprae* é fagocitado por macrófagos, os quais produzem reativos intermediários de oxigênio e nitrogênio que são eficientes para a eliminação do patógeno, por meio do *burst oxidativo*, contudo, a fagocitose do *M. leprae* não leva a um intenso *burst oxidativo*. Os pacientes tuberculóides apresentam macrófagos que sofrem transformação em células epitelióides, sendo capazes de eliminar o bacilo. Nos pacientes virchowianos os macrófagos comportam um grande número de bacilos viáveis ou mortos, indicando a incapacidade de eliminá-los. O papel de neutrófilos, outros granulócitos e Células *Natural Killer* é pouco entendido (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014).

O sistema imune inato é a linha de frente contra o patógeno, porém por si só pode ser insuficiente para a eliminação do mesmo, sendo necessário a ativação do sistema imune adaptativo. Sendo assim, a imunidade natural está envolvida na determinação do resultado da infecção e associada com a produção de citocinas que vão direcionar ao padrão de citocinas que será produzido por células T (GOULART; PENNA; CUNHA, 2002; TALHARI *et al.*, 2015).

Acredita-se que um dos motivos de se ter uma resposta imune celular reduzida contra o *M. leprae* é o fato de bloquear a diferenciação das células dendríticas, que são células apresentadoras de antígenos, resultando na redução da

capacidade das mesmas em apresentar antígenos e assim ativar as células T (TALHARI *et al.*, 2015).

- Resposta imune adaptativa frente ao *M. leprae*

A resposta imune adaptativa ou adquirida é caracterizada pelo reconhecimento específico de antígenos, reconhecimento o qual é mediado por receptores de superfície presentes nos linfócitos T e B (MENDONÇA *et al.*, 2008).

A imunidade adquirida é desenvolvida após o contato com o patógeno, tem como mediadores linfócitos T CD4+ que direcionam a resposta imune, podendo ativar respostas imunes celular através de macrófagos e linfócitos T citotóxicos, ou respostas imunes humorais, através de linfócitos B, que ao serem ativados passam a produzir anticorpos (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014).

As células consideradas uma ponte entre imunidade inata e adquirida são as células dendríticas (DCs), capazes de ativar linfócitos T virgens, além de serem as principais células apresentadoras de antígenos (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014).

Células apresentadoras de antígenos processam o antígeno e apresentam aos linfócitos T auxiliares a fração antigênica da bactéria, em associação com o complexo de histocompatibilidade principal (MHC); para as células T CD4+ via moléculas de MHC classe II ou para as células T CD8+ via MHC classe I. A interação entre macrófago e linfócito T desencadeia a ativação da resposta imune celular, a qual é caracterizada pela ação de citocinas ou interleucinas, que são glicopeptídeos relacionados às reações intercelulares (FOSS, 1997; MENDONÇA *et al.*, 2008; TALHARI *et al.*, 2015).

As DCs estimulam a diferenciação dos linfócitos T CD4+, também chamados de linfócitos T *helpers* ou T auxiliares, nas subpopulações T *helper* 1 (Th1) ou T *helper* 2 (Th2); tal diferenciação ocorre de acordo com a produção de citocinas e expressão de moléculas co-estimulatórias. As DCs são encontradas em maior quantidade em lesões de pacientes com hanseníase tuberculóide (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014).

A produção de interleucina-12 (IL-12) pelas DCs favorece o desenvolvimento da resposta imune do tipo Th1, resultando na produção de interleucina-2 (IL-2) e interferon-gama (IFN- γ), culminando na ativação de macrófagos. A ausência de IL-12 ou presença de interleucina-4 (IL-4) favorece a diferenciação dos linfócitos na

subpopulação Th2, com produção de interleucina-10 (IL-10) e IL-4; tais citocinas estimulam a produção de anticorpos e inibem a ativação de macrófagos, diminuindo o poder microbicida. Sendo assim, na forma TT da doença, IFN- γ , IL-2 e linfotóxina- α (antes chamada de TNF- β) são secretadas nas lesões, induzindo uma atividade fagocítica intensa; macrófagos sob ação dessas citocinas, juntamente com linfócitos, formam o granuloma. Já a forma VV é caracterizada pela produção principalmente de IL-4, IL-5 e IL-10, citocinas estas relacionadas com os perfis Th2 (IL-4 e IL-5) e regulatório (IL-10) (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; MENDONÇA *et al.*, 2008).

Nas lesões tuberculóides há uma maior expressão de IL-12, TLR1 e TLR2 em monócitos e de células CD4+, se comparado com lesões virchowianas. O fato da IL-4 ser responsável por reduzir a expressão de TLR2 em monócitos e a IL-10 por suprimir a produção de IL-12, justifica a abundância de CD8+ nas lesões virchowianas (MENDONÇA *et al.*, 2008).

Nota-se que citocinas do perfil Th1 (IFN- γ , TNF, IL-2, IL-12) são predominantes nas lesões tuberculóides, sendo que o IFN- γ contribui para a resistência ao bacilo, visto que aumenta a produção de reativos intermediários de oxigênio e nitrogênio por macrófagos e a expressão de MHC II, favorecendo a apresentação de antígenos, além de levar a uma maior produção de TNF- α ; o TNF além de atuar na formação do granuloma aumenta a atividade microbicida do macrófago; a IL-2 aumenta a produção de IFN- γ e estimula a proliferação e expansão de linfócitos T ativados; a IL-12 estimula as células NK a liberarem IFN- γ . Citocinas do perfil Th2 e regulatório (IL-4, IL-5, IL-10, TGF- β) são predominantes nas lesões virchowianas, sendo a IL-4 responsável pelo aumento da produção de anticorpos, expansão de linfócitos Th2, inibição a diferenciação para linfócitos Th1 e, conseqüentemente a ativação de macrófagos (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; FOSS, 1997; GOULART; PENNA; CUNHA, 2002).

Além da participação dos perfis Th1 e Th2, estudos demonstraram a existência de um terceiro subconjunto de células Th que desempenham um papel importante na hanseníase, o Th17. O perfil Th17 está associado às citocinas IL-17, IL-21 e IL-22, e à imunopatogênese da hanseníase, atuando especialmente no polo tuberculóide (SAINI; RAMESH; NATH, 2013).

As células T regulatórias estão envolvidas no equilíbrio da reatividade do sistema imunológico, elas demonstram controlar as respostas inflamatórias

excessivas, prevenindo o dano tecidual por inflamação e autoimunidade. A função supressora das células Treg, para o hospedeiro, pode ser tanto benéfica, quando suprime a imunopatologia, ou maléfica, quando suprime a resposta imune protetora. Elas secretam citocinas anti-inflamatórias, como IL-10 e TGF- β (PARENTE *et al.*, 2015; TALHARI *et al.*, 2015).

Em razão do *M. leprae* se tratar de um bacilo intracelular, a resposta imune humoral não é efetiva. No entanto, a produção de anticorpos está relacionada à origem da reação hansênica tipo 2 ou eritema nodoso hansênico (ENH). Observa-se a produção de anticorpos específicos por linfócitos B tanto em lesões tuberculóides quanto virchowianas, sendo mais abundantes nas virchowianas. Por mais que os anticorpos não tenham o papel de deletar o bacilo, eles facilitam a fagocitose por macrófagos (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014).

- Tratamento

O tratamento da hanseníase é feito através da poliquimioterapia, com associação dos medicamentos Rifampicina, Dapsona e Clofazimina; a Dapsona requer maior atenção dos profissionais devido às reações alérgicas. Deve ser iniciado na primeira consulta após dado o diagnóstico (BRASIL, 2017).

O paciente paucibacilar recebe uma dose mensal de 600 mg de Rifampicina (supervisionada) e 100 mg de Dapsona diariamente (em casa); 6 meses de tratamento, sendo 6 cartelas. Caso a Dapsona seja suspensa, substituí-la pela Clofazimina 50 mg por dia e 300 mg uma vez por mês na dose supervisionada (BRASIL, 2017).

Já para o paciente multibacilar o tempo de tratamento é de 12 meses, sendo 12 cartelas. Recebe uma dose mensal de 600 mg de Rifampicina, 100 mg de Dapsona e 300 mg de Clofazimina (supervisionada), e em casa 100 mg de Dapsona e 50 mg de Clofazimina diariamente. Caso a Dapsona seja suspensa, substituí-la pela Ofloxacina 400 mg (supervisionada e diariamente) ou pela Minociclina 100 mg (supervisionada e diariamente) (BRASIL, 2017).

Quando se trata de criança deve ser levado em consideração o peso corporal, sendo assim as crianças com peso superior a 50 kg devem seguir o tratamento prescrito para adultos, com peso entre 30 e 50 kg utilizar as cartelas infantis (marrom/azul), menores que 30 kg devem obedecer aos ajustes de dose (BRASIL, 2017).

Sabe-se hoje que o tratamento, no seu início, é responsável pela eliminação da maioria dos bacilos, sendo que por volta de dois anos, nos pacientes multibacilares, todos já estão mortos. Porém, nesses indivíduos multibacilares, os quais apresentam imunidade celular deprimida ou ausente, os restos bacilares vão sendo eliminados lentamente, correndo o risco de ocorrência de ENH e incapacidades enquanto estiverem presentes (OPROMOLLA, 1997).

Ao dar início ao tratamento, os bacilos vão sendo destruídos, liberam antígenos, os quais vão estimular a produção de anticorpos, a formação de imunocomplexos e fixação de complemento. Em razão da migração de neutrófilos, que juntamente com suas enzimas provocam destruição de tecidos e das paredes dos vasos, ocorre alterações do estado geral do indivíduo, observando o aparecimento de nódulos eritematosos e dolorosos na pele, que podem se ulcerar, e em casos mais graves podem ser observados casos de artrites, neurites, aumento doloroso de fígado e baço (OPROMOLLA, 1997).

4.3 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da hanseníase é baseado na anamnese, exame dermatológico, neurológico, baciloscopia e em outros exames complementares. Apresenta algumas dificuldades e obstáculos, como a impossibilidade de cultivo do *M. leprae*, além do fato do quadro clínico ser muitas vezes confundido com outras doenças de pele, também é tardio, o que favorece o início tardio do tratamento e possibilidade de aparecimento de incapacidades físicas e evolução para deformidades (LEANO *et al.*, 2017; TALHARI *et al.*, 2015).

A detecção do *M. leprae* é considerada difícil, sendo necessários critérios laboratoriais e clínicos. Quanto mais precocemente forem identificados casos novos, menor o tempo de transmissão e o risco de evolução da doença (LYON; GROSSI, 2013; TEIXEIRA *et al.*, 2008).

O diagnóstico laboratorial é desafiador, visto que não existem marcadores nem do hospedeiro nem do patógeno capazes de delimitarem os estágios da doença, como exposição, infecção latente ou doença ativa. Um dos problemas enfrentados é o fato de positividade em um teste não indicar claramente o desenvolvimento da doença, mas uma possível infecção e, conseqüentemente, um risco maior de progressão para a doença e infecção ativa (TALHARI *et al.*, 2015).

O fato de escassez de sintomas no início da doença também pode contribuir para demora e erros diagnósticos (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014).

Pela hanseníase ser considerada doença de notificação compulsória em todo o território nacional, ao diagnosticar um caso da doença o profissional deve preencher a Ficha de Notificação, ficha a qual é de fundamental importância para estudos e análises epidemiológicas. O diagnóstico deve ser informado ao paciente de forma semelhante à outras doenças curáveis, sem causar impacto psicológico (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014).

4.3.1 Diagnóstico clínico

O diagnóstico clínico é baseado em um roteiro, constituído pelas seguintes atividades: anamnese (obtenção de informações clínicas e epidemiológicas do paciente); avaliação dermatológica (identificação de lesões com alteração de sensibilidade); avaliação neurológica (identificação de neurites, incapacidades e deformidades); diagnóstico dos estados reacionais e diferencial; classificação do grau de incapacidade física (BRASIL, 2002).

Ao realizar a anamnese deve-se levar em consideração a história epidemiológica, familiar, assim como a precedência; a investigação epidemiológica é de extrema importância e relevância para se descobrir a origem da doença e para o diagnóstico precoce de outros casos. Recomenda-se que o exame clínico dermatoneurológico seja feito em local que conte com boa iluminação, se possível natural, e que atinja toda a superfície do corpo. Além de analisar a pele, verifica-se também as sensações tátil, térmica e dolorosa, alopecia e anidrose, devendo ser executadas de forma precisa e com paciência. O exame é complementado por outros procedimentos como teste de sensibilidade cutânea, provas da histamina ou pilocarpina (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; BRASIL, 2002).

4.3.2 Avaliação neurológica

Os processos inflamatórios são resultantes da ação do bacilo nos nervos e/ou da resposta do organismo frente à presença do bacilo, provocando lesões neurais, que quando não tratadas podem evoluir para incapacidades e deformidades (BRASIL, 2002).

A avaliação neurológica é constituída pela inspeção dos olhos, nariz, mãos e pés, palpação dos troncos nervosos periféricos, avaliação da força muscular e avaliação de sensibilidade nos olhos, membros superiores e inferiores (BRASIL, 2002).

A inspeção dos olhos visa verificar sinais e sintomas decorrentes da presença do bacilo e comprometimento dos nervos que inervam os olhos. O paciente é questionado sobre alguns sintomas, como ardor, coceira, vista embaçada, ressecamento, pálpebras pesadas e/ou lacrimejamento; observa se há presença de infiltrações, nódulos, vermelhidão, ausência de sobrancelha, cílios invertidos, opacidade da córnea, se há alteração no contorno, tamanho e reação das pupilas, se as mesmas se apresentam esbranquiçadas ou pretas. Tal inspeção pode ser observada na Figura 3 (BRASIL, 2002).

Figura 3– Inspeção dos olhos



Fonte: BRASIL, 2002.

A inspeção do nariz visa verificar sinais e sintomas decorrentes da presença do bacilo e comprometimento da mucosa e da cartilagem. O paciente é questionado se o nariz está entupido, se há ressecamento ou sangramento. Observa-se as condições da mucosa, septo nasal e da pele. A inspeção dos membros visa verificar a possível diminuição da força, dormência, existência de ressecamentos, ferimentos, fissuras, atrofia muscular, entre outros sintomas (BRASIL, 2002).

Os nervos que são examinados são os mais acometidos pelo *M. leprae*, aqueles em áreas localizadas mais superficialmente, em regiões mais frias da pele, expostas a traumas, os quais passam por canais estreitos, fibrosos e/ou ósseos,

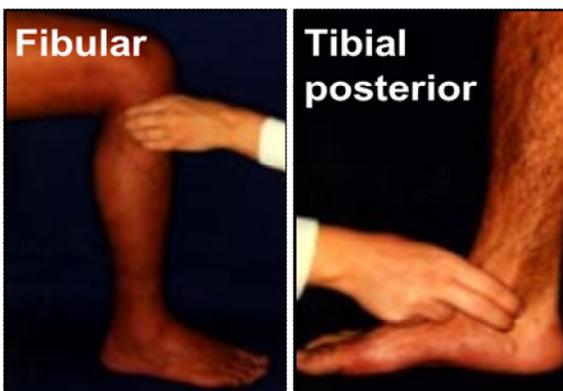
como o trigêmeo, auricular, facial, ulnar, radial, mediano, fibular comum e tibial. Durante a palpação dos troncos nervosos periféricos, os mesmos devem ser palpados com as polpas digitais do segundo e terceiro dedos do examinador, deslizando-os sobre a superfície óssea, no sentido de cima para baixo, como pode ser observado nas Figuras 4 e 5, verificando se há queixa de dor, choque, espessamento do nervo palpado, alteração na consistência e forma do nervo e presença de aderências (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; BRASIL, 2002; OPROMOLLA, 2000).

Figura 4– Palpação dos principais nervos dos membros superiores



Fonte: BRASIL, 2002.

Figura 5– Palpação dos principais nervos dos membros inferiores



Fonte: BRASIL, 2002.

4.3.3 Eletroneuromiografia

É útil no acompanhamento das reações, de alta especificidade para o diagnóstico das neuropatias, além de possibilitar o reconhecimento de disfunção neural antes mesmo do início dos sintomas (LASTÓRIA; ABREU, 2012; LYON; GROSSI, 2013; SANTOS, 2017).

A eletroneuromiografia consiste no estudo da função dos nervos e músculos, é considerada uma extensão do exame clínico, não um exame complementar. É utilizado um eletromiógrafo, constituído por um amplificador, capaz de multiplicar milhares de vezes o potencial objeto de estudo. Tal potencial é referente a somatória de potenciais elétricos gerados a partir de trocas iônicas que ocorrem durante a transmissão nervosa e contração muscular. Tais sinais são adquiridos, amplificados e registrados em um osciloscópio, sendo assim digitalizados e analisados para uma conclusão diagnóstica (LYON; GROSSI, 2013).

Tecnicamente avalia a fisiologia do sistema nervoso periférico, auxilia no diagnóstico das doenças próprias das fibras musculares, auxilia a classificação das neuropatias, fornece dados sobre a localização e o grau da lesão, além de servir como orientação na escolha de um nervo a ser biopsiado (LYON; GROSSI, 2013).

Na hanseníase a eletroneuromiografia não fornece diagnóstico etiológico, sendo mais um instrumento mediante as informações a respeito do padrão de distribuição, tipo de fibra acometida, juntamente com dados clínicos, além de favorecer o diagnóstico precoce pelo fato de possibilitar a detecção de formas iniciais (LYON; GROSSI, 2013; SANTOS, 2017).

4.3.4 Testes de sensibilidade cutânea

A sensibilidade normal é dependente da integridade dos troncos nervosos e das terminações nervosas que se localizam sob a pele (BRASIL, 2002).

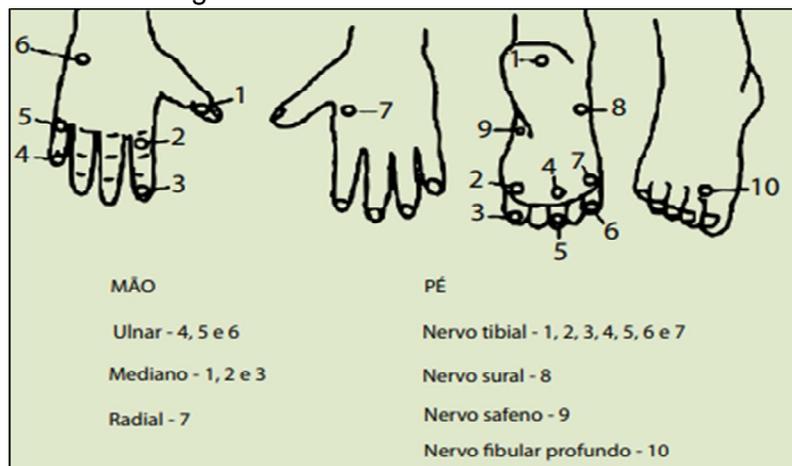
As áreas onde as lesões são predominantes são face, orelhas, nádegas, braços, pernas e dorso. São feitas as pesquisas de sensibilidade térmica, dolorosa e tátil. A primeira sensibilidade a se alterar é a térmica, depois a dolorosa e finalmente a tátil. Pode ser que apenas nas formas com algum tempo de evolução é que todas as sensibilidades se apresentem alteradas (LYON; GROSSI, 2013; OPROMOLLA, 2000).

Algumas considerações devem necessárias ao se realizar a pesquisa de sensibilidade, tais como: explicar ao paciente o exame que será realizado, esclarecendo todas as dúvidas; concentração tanto do paciente quando do examinador; demonstrar a técnica para o paciente, o qual deve estar com os olhos abertos; ocluir o campo de visão do paciente; selecionar aleatoriamente a sequência de pontos a serem analisados; tocar a pele deixando por tempo suficiente para o

paciente responder; repetir o teste para confirmação; respostas como “mais ou menos” também devem ser levadas em consideração (BRASIL, 2002).

A sensibilidade tátil pode ser analisada de diferentes maneiras, sendo classificada em sensibilidade propriamente dita e sensibilidade protetora. É recomendada que se faça a análise de sensibilidade tátil nas lesões para fins de diagnóstico, e que a de sensibilidade protetora seja feita em lesões e também nas mãos e pés dos pacientes para fins de prevenção de incapacidades físicas, nos pontos demonstrados na Figura 6. O comprometimento da sensibilidade em mãos e pés impossibilita que o paciente se proteja de queimaduras e outros ferimentos (LYON; GROSSI, 2013).

Figura 6– Pontos que devem ser testados e respectiva legenda



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

Fonte: BRASIL, 2008.

A pesquisa de sensibilidade tátil deve ser feita tocando levemente as lesões com auxílio de algodão seco, comparando com o toque feito em regiões da pele sadias. Pode ser realizada também por meio do estesiômetro, como mostra a Figura 7, composto por seis monofilamentos de náilon, os quais exercem sobre a pele pesos equivalentes a 0,05g (filamento verde), 0,2g (azul), 2,0g (violeta), 4,0g (vermelho escuro), 10,0g (laranja) e 300,0g (vermelho-magenta). O filamento verde representa a sensibilidade tátil normal em qualquer região do corpo, exceto na região plantar, onde o padrão de normalidade é referente a capacidade de sentir o filamento azul. O teste é iniciado com o filamento mais fino, passando sucessivamente para os demais, até o qual o paciente (com o campo de visão ocluído) seja capaz de sentir. Quando não houver a disponibilidade do monofilamento, realizar o teste com caneta esferográfica (BRASIL, 2008; LYON; GROSSI, 2013).

Figura 7– Estesiômetro



Fonte: BRASIL, 2008.

A pesquisa de sensibilidade térmica deve ser feita sempre que possível. Preconiza-se que seja feita utilizando dois tubos de vidro, um contendo água quente (água aquecida não pode estar em temperatura superior à 45°C), e outro, água fria (temperatura ideal de 25°C). Alternadamente são tocadas a pele sã e a área suspeita com a extremidade fechada dos tubos, para que assim o paciente identifique as sensações de frio e calor. Sabe-se que diferentes pacientes apresentam limiares de percepção de calor e frio diferentes. Tal método não é

quantitativo e requer tempo para preparo, além do controle da temperatura da água (LYON; GROSSI, 2013).

No caso de impossibilidade de realizar o teste com água fria e quente, recomenda-se utilizar um algodão embebido com éter, que refletirá à sensação de frio, e outro seco. A prova do éter apenas identifica a sensação de frio, não é capaz de avaliar a sensibilidade ao calor. O éter entra em ebulição à temperatura de 35°C, praticamente a mesma temperatura da pele humana, retirando energia térmica da pele, provocando sensação de frio ou gelado. Esse método também não é quantitativo (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; LYON; GROSSI, 2013).

Em razão dos métodos citados acima não se tratarem de métodos quantitativos, a Organização Mundial da Saúde estimula o desenvolvimento de dispositivos eletrônicos capazes de testar a sensibilidade térmica (LYON; GROSSI, 2013).

A sensibilidade dolorosa pode ser analisada com auxílio de alfinete ou agulha de injeção descartáveis e esterilizados, pedindo ao paciente que identifique e diga se é a ponta ou o fundo da agulha ou alfinete que está tocando sua pele, sendo que a ponta da agulha causa dor e a cabeça provoca estímulo proprioceptivo. Caso o paciente não consiga identificar qual parte do material está tocando sua pele, isso é sinal de alteração de sensibilidade dolorosa naquela área da pele (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; BRASIL, 2017).

4.3.5 Prova da histamina

Trata-se de um recurso clínico adicional, assim como a prova da pilocarpina. É colocada uma ou várias gotas de uma solução milesimal de cloridrato de histamina na área suspeita e na área sadia, perfurando a pele superficialmente através das mesmas com auxílio de uma agulha estéril, sem sangrar. Após alguns instantes é observado um halo eritematoso pequeno em torno da picada (inoculação), em resposta à ação da histamina sobre os vasos. Posteriormente vai ocorrer a formação de uma área eritematosa maior, róseo, com mais de dois centímetros de diâmetro, por conta do estímulo das terminações nervosas. Por fim, há a formação da pápula (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; OPROMOLLA, 2000; TALHARI *et al.*, 2015).

Vale ressaltar que no lugar onde existe perturbação de sensibilidade não formará eritema maior de origem reflexa, fase a qual depende da integridade dos

filetes nervosos. A primeira e última fase ocorrem por serem consequências do traumatismo da agulha e da vasodilatação e extravasamento do plasma, respectivamente (OPROMOLLA, 2000; TALHARI *et al.*, 2015).

A prova da histamina é indicada a fim de realizar o diagnóstico diferencial da forma indeterminada com outras doenças que ocasionam manchas (eczemátide, hipocromia residual, por exemplo), além do diagnóstico de lesões dos nervos periféricos, no caso de impossibilidade do teste de sensibilidade (crianças, por exemplo) (TALHARI *et al.*, 2015).

4.3.6 Prova da pilocarpina

A prova da pilocarpina é baseada em injetar intradermicamente uma solução de nitrato ou cloridrato dessa substância à 1 ou 2% na área suspeita e na pele sadia. Passado 1 ou 2 minutos é observada a saída de gotículas de suor na área sadia e ausência ou redução do suor na área suspeita, em razão do comprometimento nervoso. A fim de sensibilizar tal prova, evidenciando a sudorese, pode-se pincelar a região onde foi injetada a pilocarpina com lugol e pulverizar o local com amido, identificando a sudorese a partir do aparecimento de pontos azulados onde emergem as gotículas de suor. A coloração azul aparece em razão do suor dissolver o lugol, o mesmo se combinar com o amido, apresentando a coloração, diferente do ocorrido em lesões, onde o amido permanece intacto (OPROMOLLA, 2000; TALHARI *et al.*, 2015).

4.3.7 Baciloscopia

O exame bacterioscópico consiste no exame microscópico do material coletado sob a forma de esfregaço corado (OPROMOLLA, 2000).

A baciloscopia do esfregaço dérmico, ou biópsia de pele, no Brasil, quando disponível, deve ser utilizada como exame complementar para a classificação dos casos em PB ou MB. A baciloscopia positiva, demonstra diretamente a presença de *M. leprae*, e independentemente do número de lesões, classifica o caso como MB. Cabe ressaltar que o resultado negativo não exclui o diagnóstico de hanseníase e nem classifica o doente obrigatoriamente como PB. A baciloscopia mostra-se negativa nas formas PB, tuberculóide e indeterminada, extremamente positiva na

forma virchowiana, e pode apresentar resultados variáveis na forma dimorfa (GROSSI *et al.*, 2008; LYON; GROSSI, 2013).

A coleta do material é fundamental para o sucesso da baciloscopia. Material biológico deve ser coletado com representatividade. A escolha dos sítios de coleta deve ser baseada nos locais mais prováveis de encontro do bacilo, visto que o *M. leprae* apresenta tropismo pelas regiões mais frias (lóbulo auricular é o local de maior concentração de bacilos quando comparado com cotovelos, joelhos e falanges distais). Sendo assim, tal técnica é baseada na coleta de material nos lóbulos auriculares, nos cotovelos e/ou em duas áreas infiltradas, de qualquer parte do corpo, sendo recomendada a coleta de, pelo menos, quatro locais. Em pacientes com lesões cutâneas visíveis, a coleta é feita no cotovelo esquerdo, no lóbulo auricular direito e em mais duas lesões em atividade; em pacientes com lesão única, a coleta é feita no cotovelo esquerdo, lóbulos auriculares direito e esquerdo e da lesão; pacientes que não apresentam lesões ativas aparentes, deve-se colher material dos cotovelos direito e esquerdo e dos lóbulos auriculares direito e esquerdo (LYON; GROSSI, 2013; TALHARI *et al.*, 2015).

Quando o exame baciloscópico do raspado dérmico é positivo, indica a presença da micobactéria e indica os pacientes mais infectantes. Apresenta alta especificidade (próxima de 100%), e baixa sensibilidade, visto que é negativo em até 70% dos pacientes com hanseníase. Nas formas paucibacilares, dificilmente os bacilos são detectados. Porém, apresenta grande utilidade no diagnóstico dos pacientes multibacilares, na confirmação de diagnósticos considerados difíceis, no diagnóstico diferencial das formas MB com outras doenças (como sífilis secundária, por exemplo), e no diagnóstico e acompanhamento de recidivas (LYON; GROSSI, 2013).

A partir do material coletado faz-se o esfregaço, e o mesmo é corado. A natureza ácido-resistente do bacilo pode ser determinada por duas colorações, sendo elas, a carbolfucsina (Ziehl-Neelsen ou Kinyoun), e o fluorocromo (Auramina O ou Auramina-Rodamina). Cabe ressaltar que a coloração de carbolfucsina é considerada a técnica de referência, sendo o Ziehl-Neelsen o método utilizado no Brasil em todos os níveis de laboratório (corando-se pelo método a frio, nunca a quente como na tuberculose), além de ser o de menor custo (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; LYON; GROSSI, 2013).

A parede celular das micobactérias é composta por ácidos micólicos, os quais são capazes de ligar-se aos corantes fucsina e Auramina O, resistindo à descoloração com álcool-ácido. Em um segundo momento é adicionado um corante de contraste a fim de destacar o organismo corado, facilitando sua visualização no microscópico (LYON; GROSSI, 2013).

A coloração pelo fluorocromo (substância orgânica que ao ser excitada por luz de comprimento de onda determinado, emite luz de comprimento maior), apresenta suas vantagens, como facilidade e rapidez na identificação de bacilos em menor ampliação, principalmente quando estão presentes em números baixos, no entanto, a presença de artefatos é frequente, influenciando em resultados falso-positivos (LYON; GROSSI, 2013).

O bacilo de Hansen pode se apresentar na forma de agrupamentos peculiares denominados globias (unidos por uma substância incolor, conhecida como gleia), isolados (quando presentes em número reduzido) ou aglomerados de bacilos. A baciloscopia também é utilizada para descrever o aspecto morfológico dos bacilos no esfregaço, ressaltando as observações: bacilos íntegros, fragmentados, granulados e presença de globias. Bacilos íntegros são considerados viáveis/vivos, enquanto os fragmentados e granulados, inviáveis/mortos. Além disso, índices são estabelecidos, conta-se os bacilos segundo o método de Ridley e extrai sua média (índice baciloscópico) e avalia a média da percentagem de bacilos típicos que se encontram em cada lesão examinada (índice morfológico) (LYON; GROSSI, 2013; OPROMOLLA, 2000).

O índice baciloscópico (IB) baseia-se em uma escala logarítmica com variação de 0 a 6, a partir da análise do número de bacilos presentes por campo microscópico, como pode ser observada na Tabela 1. O IB é calculado a partir da média aritmética dos IBs de cada sítio analisado, então, somam-se os quatro sítios e divide-se o total por 4 (ALECRIM, 2017).

Tabela 1– Escala logarítmica referente à quantidade de bacilos por campo microscópico

ESCALA LOGARÍTMICA	BACILOS
0	Ausência de bacilos em 100 campos examinados
1+	Presença de 1 a 10 bacilos, em 100 campos examinados
2+	Presença de 1 a 10 bacilos, em cada 10 campos examinados
3+	Presença de 1 a 10 bacilos, em média, em cada campo examinado
4+	Presença de 10 a 100 bacilos, em média, em cada campo examinado
5+	Presença de 100 a 1.000 bacilos, em média, em cada campo examinado
6+	Presença de mais de 1.000 bacilos, em média, em cada campo examinado

Fonte: Modificado a partir de ALECRIM, 2017.

A sensibilidade do método pode ser influenciada por fatores como, coleta de amostra, número de micobactérias presentes, confecção do esfregaço, coloração e interpretação do exame. A técnica é considerada simples e de fácil execução, porém requer profissionais capacitados e experientes, alta qualidade do exame, infraestrutura adequada e existência de tal serviço em centros de saúde (LYON; GROSSI, 2013).

O exame baciloscópico, assim como o histopatológico, só revela a doença na sua forma polarizada, fato que já possibilita a identificação da doença só pelas características clínicas (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014).

4.3.8 Teste de Mitsuda

O teste de Mitsuda expressa o grau de defesa do indivíduo frente ao *M. leprae*, através da reação de hipersensibilidade tardia, do tipo celular, auxiliando assim na classificação da forma clínica, tendo valor no prognóstico, no entanto, não faz

diagnóstico. Tal teste demonstra a capacidade dos macrófagos em digerir os bacilos que foram fagocitados. Pode ocorrer resposta cruzada provocada por antígenos semelhantes de outras micobactérias, portanto não é específico para *M. leprae* (ALECRIM, 2017; LASTÓRIA; ABREU, 2012; PINHO; ANDRADE JÚNIOR; SCHENBERG, 1998).

Na intradermorreação de Mitsuda, é injetado na derme um preparado contendo antígenos bacilares (bacilos, substâncias lipídicas dos bacilos, células e restos de bacilos), diluídos em solução salina fenicada. O antígeno é um preparado obtido a partir de hansenomas de pacientes virchowianos não tratados. A leitura é feita após quatro semanas, sendo que a presença de pápula igual ou maior que 5 mm, é indicativo de positividade (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; LASTÓRIA; ABREU, 2012; LYON; GROSSI, 2013).

A reação positiva é indicativo de que os macrófagos do indivíduo são capazes de destruir os bacilos de Hansen; reação negativa indica que os indivíduos que foram expostos ao *M. leprae* apresentam maior risco de adoecer e até mesmo de desenvolver a forma virchowiana. O teste de Mitsuda é positivo em pacientes tuberculóides e negativo em pacientes virchowianos, referente à resposta imune eficaz e ineficiente, respectivamente. Os pacientes dimorfos apresentam variações nos resultados, dependendo do grau de imunidade do paciente (ALECRIM, 2017).

Ao nascer, as pessoas apresentam o teste de Mitsuda negativo, visto que não apresentam resistência ao *M. leprae*, e à medida que são expostas ao bacilo, a maioria desenvolve resistência, apresentando o teste positivo. Indivíduos que continuam apresentando o teste negativo provavelmente tendem para formas multibacilares (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014).

Indivíduos com reação de Mitsuda cujo diâmetro é maior que 10 mm, geralmente são resistentes ao bacilo, não adoecem ou no máximo desenvolvem a forma TT. Quando o diâmetro é maior que 5 e menor que 10 mm normalmente indicam as formas DT e tuberculóides de baixa resistência; entre 3 e 5 mm indicam hanseníase dimorfa, e abaixo disso, é indicativo de hanseníase virchowiana (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014).

Se em um caso de suspeita de eritema nodoso a reação de Mitsuda for positivo, pode ser que não se trate de hanseníase, uma vez que o eritema nodoso hanseníase ocorre somente em casos bacilíferos em que o teste de Mitsuda é negativo (OPROMOLLA, 2000).

4.3.9 Histopatologia

O exame histopatológico é um exame complementar no diagnóstico da hanseníase, sendo indispensável para a correta classificação em investigação. A correlação clínico-histológica é fundamental para o diagnóstico final (TALHARI *et al.*, 2015).

É realizado a partir de métodos como Faraco-Fite e Wade-Klingmueller, considerados os mais adequados quando se trata da pesquisa do *M. leprae*, sendo modificações da coloração de Ziehl-Neelsen. Métodos utilizados para a pesquisa de *Mycobacterium tuberculosis* não são adequados para a pesquisa de *M. leprae*, visto que o último citado é menos álcool-ácido resistente se comparado com as outras micobactérias. É importante principalmente nos casos em que a baciloscopia é negativa ou não está disponível. Outro método que pode auxiliar na identificação dos bacilos é a imuno-histoquímica, sendo indicada em nervos com poucos bacilos e nas lesões cutâneas, entretanto apresenta papel limitado, podendo ser útil somente quando os bacilos estiverem fragmentados por digestão parcial pelas enzimas de macrófagos, perdendo assim a resistência de descoloração a álcool-ácido (LYON; GROSSI, 2013; TALHARI *et al.*, 2015).

A amostra deve ser coletada por um profissional médico, sendo os locais selecionados anestesiados com xilocaína ou epinefrina (exceção de pênis e dedos – não se utiliza vasoconstritor). A biópsia deve ser realizada nas bordas das lesões, recomenda-se colher várias amostras de várias lesões (se presentes) e a inclusão do tecido subcutâneo é importante, visto que os filetes nervosos envolvidos na infecção são observados na porção superior do tecido adiposo subcutâneo. Se necessária a sutura hemostática é feita. No momento da coleta deve ser evitada lesões ulceradas ou com infecção secundária, pelo fato de poder mascarar um quadro de hanseníase. O material coletado é colocado em formol tamponado (formol puro é muito ácido, resseca o material inviabilizando colorações). Cada fragmento deve ser colocado em frasco separado e identificado com o local da coleta (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; TALHARI *et al.*, 2015).

Na presente avaliação, o diagnóstico histopatológico da doença pode ser definitivo ao encontrar o bacilo de Hansen ou, de maneira presuntiva, sendo necessário identificar quais as células presentes no infiltrado inflamatório dérmico e hipodérmico, como os linfócitos, plasmócitos, neutrófilos, histiócitos epitelioides e

multinucleados, além da arquitetura do infiltrado (disposição dessas células). Diversos padrões de infiltrado podem ser encontrados como: perivascular superficial; perivascular superficial e profundo, com ou sem comprometimento de anexos; nodular; difuso e, dificilmente, intersticial e liquenoide (LYON; GROSSI, 2013; TALHARI *et al.*, 2015).

O que define os pólos da hanseníase é o tipo celular que compõe o granuloma, sendo células epitelioides no pólo tuberculóide e macrófagos espumosos no polo virchowiano (OBADIA; VERARDINO; ALVES, 2011).

A hanseníase indeterminada apresenta o quadro histológico de pele sem alterações epidérmicas, leve infiltrado, pouco específico e exclusivamente linfocitário e, às vezes, há a presença de histiócitos em localização perineural, perivascular e perianexial. O diagnóstico baseia-se no encontro dos bacilos, mas mesmo quando não for possível a visualização dos mesmos, a penetração de células inflamatórias no perinervo ou endonervo possibilita a emissão de laudo de compatibilidade, mas o diagnóstico será apenas presuntivo, podendo ser comum a diversas dermatoses. Quando há a presença de células epitelioides indica uma evolução para o pólo tuberculóide, assim como a presença de muitos bacilos indica uma evolução para o pólo virchowiano (LYON; GROSSI, 2013; OBADIA; VERARDINO; ALVES, 2011; TALHARI *et al.*, 2015; URA; BARRETO, 2004).

As formas HT e DT, ambas são caracterizadas pela presença de granulomas (maior capacidade de destruir o bacilo), definidos como conjuntos celulares de histiócitos, que se diferenciam em células epitelioides e células gigantes. Plasmócitos, células encontradas no pólo virchowiano e que indicam imunidade humoral, não são presentes na hanseníase tuberculóide. Na HT esses granulomas são considerados “bem formados”, estão presentes no interior dos nervos ou envolvendo nervos cutâneos fragmentados, constituídos por células bem diferenciadas e nítidas, representando o grau máximo de resposta imunológica frente aos bacilos, além disso, a baciloscopia normalmente é negativa, mas continua como dado fundamental para diagnóstico de HT o encontro de bacilos em ramos nervosos. Na forma hanseníase DT os granulomas não tocam a epiderme, existindo uma faixa de colágeno, há menor quantidade de linfócitos e células gigantes, os bacilos podem ou não serem encontrados (LYON; GROSSI, 2013; OBADIA; VERARDINO; ALVES, 2011; TALHARI *et al.*, 2015; URA; BARRETO, 2004).

É muito difícil diferenciar a HT da DT, sendo possível, na maioria das vezes, informar se está ou não no pólo tuberculóide. A forma DD, os achados são semelhantes à DT, entretanto há menos linfócitos, ausência de células gigantes multinucleadas e presença de granulomas, não sendo eles “bem formados”, são frouxos (LYON; GROSSI, 2013; TALHARI *et al.*, 2015).

Tanto a forma DV quanto a VV apresentam infiltrado com predomínio de histiócitos espumosos ou vacuolizados, com grande quantidade de bacilos. Na forma DV o infiltrado tende a ser mais nodular, linfócitos são mais abundantes e ocorre uma leve ativação de macrófagos, formando esboços de granulomas pouco definidos, diferente da forma VV, onde o processo inflamatório é mais difuso, ocupando toda a derme e, às vezes, até mesmo o tecido subcutâneo, apresentando além de numerosos macrófagos, plasmócitos. Na HV os linfócitos são raros ou ausentes, não há granulomas, o infiltrado não atinge a epiderme como na forma tuberculóide e há macrófagos carregados de bacilos e globias, em razão da incapacidade de destruí-los (LYON; GROSSI, 2013; SANTOS, 2017; TALHARI *et al.*, 2015).

No processo reacional do tipo 1 pode ser observado a presença de vasodilatação e edema (edema intracelular faz com que as células epitelioides mostrem espaços claros no citoplasma, podendo ser confundido com vacúolos), dissociando assim, as células dos granulomas, os quais se tornam mais frouxos, além do aumento do número de bacilos íntegros. Na reação do tipo 2 o infiltrado é composto por linfócitos, histiócitos espumosos e neutrófilos, podendo estar fragmentados; neutrófilos podem ser raros ou abundantes, formando abscessos dérmicos com ulceração (LYON; GROSSI, 2013; TALHARI *et al.*, 2015).

Embora apresente vantagens como ser o método mais sensível e específico quando se trata de diagnóstico de doenças causadas por parasitas intracelulares obrigatórios, é um método demorado, caro e pode ocorrer resultados falsos-negativos. Mesmo assim, a sensibilidade de detecção dos bacilos por histopatologia é baixa, recomenda-se por isso, que o exame de pelo menos seis cortes seja feito para liberar o resultado como negativo. Entre os fatores que favorecem resultados falsos-negativos estão a qualidade da amostra enviada e da histotécnica, representatividade da amostra e experiência do profissional. Biópsia de lesão regressiva ou do centro da lesão compromete o resultado (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; LYON; GROSSI, 2013).

A biópsia de pele é indicada em casos como quando não há possibilidade de avaliação adequada da sensibilidade cutânea (portadores de deficiências mentais, crianças); a fim de diferenciar quadros dimorfos iniciais da hanseníase indeterminada ou tuberculóide; pacientes que não querem se submeter a baciloscopia ou quando há dúvida entre hanseníase e outras doenças. O exame histopatológico não deve ser considerado padrão ouro para diagnóstico da hanseníase, pois pode não ser conclusivo, principalmente em pacientes PB, onde não são visualizados os bacilos ou o infiltrado acometendo tecido neural, sendo complementar às demais características clínicas obtidas em conjunto (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014; OBADIA; VERARDINO; ALVES, 2011).

4.3.10 Biologia molecular

Ensaio moleculares são baseados na amplificação (em milhares de vezes) de sequências específicas do *M. leprae* usando PCR (Reação em cadeia da polimerase) e identificação do fragmento de DNA do *M. leprae* em amostras contendo pequenas quantidades de bacilos. Tal técnica pode ser aplicada tanto em amostra de biópsia de pele quanto em amostras de manchas, esfregaços nasais, biópsia de pele embebida em parafina, sangue, lesões nervosas e lesões oculares. Vários genes do *M. leprae* são utilizados no desenvolvimento de ensaios de PCR como *RLEP*, *hsp18*, *ag36*, *groELI*, *RRNA 16S* (SCOLLARD *et al.*, 2006; SHARMA, 2019).

Estudos mostram que as técnicas baseadas em PCR mostram uma especificidade de 100% e sensibilidade variando de 34 a 80% em pacientes paucibacilares, e de 90% em pacientes multibacilares. Sendo assim, a PCR é um efetivo complemento para o diagnóstico clínico e histopatológico da hanseníase (SCOLLARD *et al.*, 2006).

Nas fases iniciais da doença encontram-se dificuldades em encontrar o bacilo por meios histopatológicos, sendo assim, a PCR mostra sucesso nessa detecção, mesmo estando os bacilos presentes nos tecidos em pequenas quantidades. Foi graças à técnica de PCR que foi possível o sequenciamento do genoma do *M. leprae*, assim como a identificação dos poucos genótipos do mesmo e da provável origem da infecção (SANTOS, 2017).

A automatização dos ensaios de PCR (PCR em tempo real) permitiu e revolucionou o fato de quantificar os fragmentos de DNA e RNA, melhorando a especificidade e sensibilidade na detecção do DNA do *M. leprae*, possibilitando a determinação da carga bacilar, ajudando a definir a forma clínica dos pacientes (PB ou MB). Demonstrou ser mais sensível que o exame microscópico para a presença de bacilos álcool-ácido-resistentes. Além disso, a detecção de DNA de *M. leprae* por PCR serve como ferramenta de confirmação quando a etiologia da neuropatia é duvidosa (SANTOS, 2017; TALHARI *et al.*, 2015).

A Reação em cadeia de polimerase é altamente sensível e específica, entretanto o custo e a infraestrutura que exige impedem seu uso rotineiro nos serviços de saúde (ALVES; FERREIRA T; FERREIRA I., 2014).

4.3.11 Sorologia utilizando PGL-1

Os glicolipídios fenólicos são os mais específicos do *M. leprae*, sendo o PGL-1 o mais importante, correspondendo a 2% da massa total do bacilo (LYON; GROSSI, 2013).

O PGL-1 se trata de um antígeno que estimula a produção basicamente de IgM, podendo ser dosado após 20 anos da doença, caso o indivíduo doente apresente estímulo contínuo. Indivíduos sadios expostos ao *M. leprae* que apresentem positividade para a sorologia anti-PGL-1 supõem-se que estejam infectados, porém é possível que não desenvolvam a doença, fato que dependerá da reação do organismo frente à infecção (BRASIL *et al.*, 1998).

Vários estudos mostram que a carga bacilar de um indivíduo com hanseníase está relacionada com a presença de anticorpos IgM contra o glicolipídio fenólico 1 (PGL-1), específico da parede do *Mycobacterium leprae*. É extremamente sensível, porém vale ressaltar que a detecção desses anticorpos não é utilizada como única forma de diagnóstico, sendo útil apenas para auxiliar na confirmação de casos multibacilares e na classificação correta dos pacientes com poucas lesões. A maioria dos pacientes paucibacilares é soronegativa, enquanto os multibacilares soropositiva. Alguns casos paucibacilares não apresentam níveis detectáveis de bacilo, fato que comprometeria a validação do teste sorológico, mas existe uma proporção de pacientes classificados como paucibacilares pelo número de lesões cutâneas que apresentam ML Flow positivo (BARRETO *et al.*, 2008; BUHRER-SEKULA *et al.*, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2008).

O PGL-1 tem sido utilizado em muitos estudos, os quais mostram que indivíduos que se encontram no pólo virchowiano do espectro apresentam quantidades elevadas de imunoglobulinas IgM contra PGL-1 (soropositividade de 80 a 100%), enquanto os indivíduos que se encontram no pólo tuberculóide apresentam imunoglobulinas específicas em níveis baixos de detecção (soropositividade de 30 a 60%) (MOURA *et al.*, 2008).

No monitoramento do tratamento, diminuição dos anticorpos indica uma diminuição da quantidade de bacilos, a persistência pode indicar uma resistência ao mesmo, um aumento pode indicar recidiva. Sendo assim, uma diminuição de imunoglobulinas está relacionada com a eficácia do tratamento, podendo ser um bom parâmetro para avaliar a terapia utilizada (LASTÓRIA; ABREU, 2012; TORRELLA *et al.*, 1998).

Testes sorológicos vêm sendo utilizados em estudos epidemiológicos. Embora tenham algum valor em estudos de acompanhamento populacional, nenhum dos ensaios apresenta um grau satisfatório de sensibilidade e especificidade para aplicação em diagnóstico, tendo como maior desvantagem o fato de que pacientes nos quais o diagnóstico é mais difícil, pacientes com TT e DT com imunidade celular de *M. leprae* de grau moderado a alto e apenas um pequeno número de organismos, não produzem anticorpos circulantes específicos detectáveis (SCOLLARD *et al.*, 2006).

Vale ressaltar que testes sorológicos não são ferramentas de diagnóstico, não podendo ser utilizados como ferramentas de triagem na população em geral, pois a maioria dos pacientes paucibacilares não desenvolve níveis detectáveis de anticorpos e nem todas as pessoas que são expostas e desenvolvem anticorpos contra *M. leprae* acabam desenvolvendo doenças clínicas. No entanto, podem ser usados como uma ferramenta de classificação após o diagnóstico inicial com base em sinais e sintomas clínicos, devido a detecção de anticorpos refletir a carga bacilar. Portanto, os resultados sorológicos devem ser interpretados sempre em conjunto com outras informações diagnósticas (BUHRER-SEKULA *et al.*, 2003; BUHRER-SEKULA, 2008).

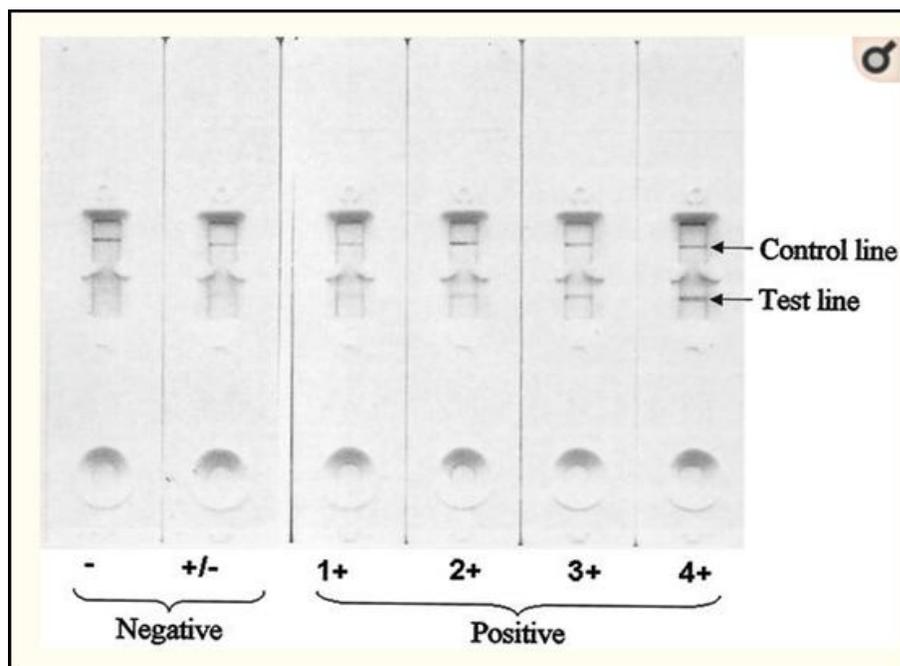
4.3.11.1 *Teste ML Flow*

O teste sorológico ML Flow, teste rápido de fluxo lateral, detecta anticorpos Anti-PGL-1 (IgM) e permite uma leitura rápida (5 minutos quando a amostra for

sangue total; 10 minutos quando a amostra for soro), podendo ser feito por profissionais de saúde em qualquer nível. A detecção rápida de anticorpos é feita tendo como amostra o soro ou sangue total do paciente. É considerado o teste mais rápido e de fácil aplicação se comparado com outros testes sorológicos disponíveis. Não requer equipamento especial, os reagentes são estáveis, o que torna o teste ótimo e adequado para ser realizado em países tropicais (BARRETO *et al.*, 2008; BUHRER-SEKULA *et al.*, 2003; LYON; GROSSI, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Consiste em um teste imunológico composto por uma fita de nitrocelulose que apresenta, de um lado, uma superfície contendo anticorpos IgM marcados com ouro e no outro lado, uma superfície de absorção. Como antígeno, em linha de 1 mm na superfície da fita, é utilizado um trissacarídeo semi-sintético similar ao PGL-1, ligado à albumina humana. Em paralelo a esta linha, um conjugado IgM humano é utilizado como controle. A amostra (soro ou sangue total) é colocada no receptáculo de amostras e é carregada com o fluido da amostra. O reagente (partículas móveis de ouro coloidal vermelho, rotuladas com IgM anti-humano) se liga ao IgM da amostra. Se o anticorpo for específico do *M. leprae* ele se ligará ao antígeno e uma linha vermelha aparecerá na zona de teste. Caso contrário apenas a linha zona de controle aparecerá positiva, assegurando que o conjugado ainda está ativo. Sendo assim, o teste é considerado negativo quando não se forma uma linha na região teste ou a mesma se apresenta pálida; e considerado positivo e graduado de 1 a 4+ de acordo com a intensidade e coloração na linha teste, como pode ser observada na Figura 8, sendo a leitura do teste subjetiva (BUHRER-SEKULA *et al.*, 2003; CONTIN *et al.*, 2011; LYON; GROSSI, 2013).

Figura 8- O teste é pontuado positivo quando uma coloração na linha teste é observada (faixas 1+ a 4+) e negativo quando nenhuma coloração (faixa -) ou fraca (faixa +/-) é observada



Fonte: BUHRER-SEKULA *et al.*, 2003.

4.3.11.2 Técnica de imunoabsorção ligada a enzima (ELISA)

No Ensaio Imunoabsorvente Ligado a Enzima, o anticorpo (ou antígeno) é fixado a uma superfície, como um orifício de uma placa de microtitulação ou partícula de plástico; a placa deve conter o antígeno, o epítipo imunodominante, o qual pode ser a porção terminal dissacarídeo ou trissacarídeo da molécula do glicolípido fenólico 1 (PGL-1), denominada ND-O-BSA (dissacarídeo ligado a um radical octil e ligado a albumina de soro bovino) ou NT-P-BSA (trissacarídeo natural ligado a um radical fosfato e ligado a albumina de soro bovino). A amostra a ser testada é colocada e a ligação antígeno-anticorpo é detectada por um segundo anticorpo marcado com enzima (LYON; GROSSI, 2013).

São utilizados o soro do paciente (diluído em solução tampão específica), um conjugado constituído de anticorpo IgM (IgM anti porção Fc de IgM da amostra), e uma enzima, a peroxidase, a qual ao interagir com o substrato (inoculado

posteriormente na placa) converte uma reação de coloração azul. Sendo assim, a quantidade das ligações antígeno-anticorpo, ou seja, a quantidade de anticorpos presentes na amostra, é medida avaliando-se o produto final da coloração, por um leitor de ELISA; quanto mais forte a coloração maior a quantidade das ligações e anticorpos (LYON; GROSSI, 2013).

O ELISA é preferível para estudos epidemiológicos de grande escala e para acompanhamento de pacientes. Como todas as técnicas, apresenta vantagens e desvantagens. Como vantagens pode-se citar a ampla disponibilidade dos equipamentos necessários (técnica quase universalmente aplicável), o fato de não ser necessária a marcação dos componentes específicos do *M. leprae* utilizados no teste (antígeno e anticorpo) e a fácil separação das fases sólido e líquido. No entanto, é uma técnica difícil de padronizar, laboriosa, com limitações em relação à concentração do antígeno, preparo do antígeno, soluções tamponadas, procedimentos de lavagem, diluição do soro, entre outras. O teste de ELISA requer infraestrutura de laboratório e pessoal especializado e experiente (BUHRER-SEKULA, 2008; LYON; GROSSI, 2013).

Como o teste ML Flow apresenta excelente concordância com o teste ELISA, muitas vezes o ELISA é substituído por ele, visto que não requer pessoal treinado e infraestrutura. Ambos são mais sensíveis para o diagnóstico de pacientes MB por avaliarem a imunidade humoral (SILVA *et al.*, 2008; SILVESTRE; ARAÚJO; BARRETO, 2012).

4.3.11.3 *Teste de aglutinação de partículas (MPLA)*

O teste é considerado prático e rápido, além de poder ser realizado em laboratórios pouco equipados. O princípio de tal método é a interação antígeno-anticorpo. O MPLA é baseado na aglutinação de glóbulos de gelatina revestidos por uma camada de trissacarídeo sintético pelos anticorpos anti-PGL-1 (LYON; GROSSI, 2013).

4.3.11.4 *Teste dipstick ou de fita simples*

O teste ML *Dipstick* é um teste útil para pesquisas epidemiológicas, podendo ser realizado fora do laboratório, utilizando soro ou sangue total; não requer refrigeração e é de fácil leitura (LYON; GROSSI, 2013).

Trata-se de um método imunocromatográfico, assim como o ML Flow, composto por uma linha de antígeno PGL-1 (epítipo imunodominante 3,6-di-O-dimetil-glicopirasonil do componente trissacarídeo do PGL-1) fixa a uma tira de nitrocelulose fixada em um suporte plástico (banda inferior). Para a obtenção de um controle interno, anticorpos anti-IgM humana são impregnados em uma linha separada na fita de nitrocelulose (banda superior). O reagente de detecção é um anticorpo monoclonal anti-IgM humano conjugado ao corante coloidal vermelho palanil e liofilizado para preservação. As diluições de soro (1:50) são feitas diretamente no reagente de detecção reconstituído em tubos para reação e os dipsticks ficam incubados durante 3 horas em temperatura ambiente. A leitura então é feita após a lavagem das fitas previamente incubadas, sendo positivo quando a banda inferior se colore. A banda superior deve sempre se colorir, indicando a integridade dos componentes e validação do teste (BUHRER-SEKULA, 2008; LYON; GROSSI, 2013).

A técnica não exige refrigeração ou equipamento, o protocolo é considerado fácil e não há necessidade de rotular os componentes específicos do *M. leprae* utilizados (antígeno e anticorpo). No entanto, exige diluição do soro, processo de lavagem e incubação a temperatura ambiente (BUHRER-SEKULA, 2008).

4.3.12 Diagnóstico diferencial de reação reversa e recidiva

Os critérios para o diagnóstico de recidiva ainda não são bem definidos, apresentando dificuldade em diferenciar reação reversa de recidiva, sendo utilizadas algumas características para essa finalidade como: intervalo de tempo, aparecimento, distúrbios sistêmicos, lesões antigas, lesões novas, ulceração, regressão, envolvimento dos nervos, resposta à esteroides (GALLO; OLIVEIRA, 1997).

A reação reversa ocorre, geralmente, durante a poliquimioterapia ou dentro de seis meses de completado o tratamento; o aparecimento é súbito e inesperado; distúrbios sistêmicos podem vir acompanhados de febre e mal-estar; algumas ou todas as lesões antigas se tornam eritematosas, brilhantes e inchadas; em geral várias lesões novas; lesões muitas vezes ficam ulceradas; regressão com descamação; muitos nervos podem estar envolvidos; resposta excelente à esteroides. A recidiva ocorre, geralmente, após um ano do fim do tratamento;

aparecimento é lento e insidioso; distúrbios sistêmicos normalmente não acompanham febre e mal-estar; algumas lesões antigas podem apresentar bordas eritematosas; poucas lesões novas; raramente ocorre ulceração; regressão sem descamação; pode envolver um único nervo; resposta à esteroides não pronunciada (GALLO; OLIVEIRA, 1997).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sendo a hanseníase uma doença de notificação compulsória em todo o território nacional, é válida uma atenção especial. Sendo assim, este trabalho sugere que o estudo dos mecanismos imunológicos envolvidos na hanseníase é fundamental para o entendimento das manifestações e desenvolvimento da doença, visto que a resposta imune desenvolvida está associada à defesa frente ao *Mycobacterium leprae*. Em relação ao diagnóstico, possibilita o conhecimento de como é realizado, os métodos utilizados, bem como seus princípios, vantagens e desvantagens, assim como a importância de ser realizado precocemente, a fim de reduzir e até mesmo prevenir as deformidades e incapacidades decorrentes da doença, além de reduzir o total de novos casos diagnosticados por ano.

REFERÊNCIAS

ALECRIM, E.S. de. **Avaliação de fatores associados à soropositividade do teste ML Flow e à reatividade ao teste de Mitsuda em contatos de casos-índice de hanseníase em um centro de referência em Minas Gerais, Brasil.** Dissertação (Mestre em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical) - Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017. Disponível em: < https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUOS-ARVHZM/1/dissertacao_edilamarsilvadealecrim_final_corrigidaparaimpressao.pdf>. Acesso em: 30 mar. 2020.

ALVES, E.D.; FERREIRA, T. L.; FERREIRA, I.N. **Hanseníase Avanços e Desafios.** Brasília: NESPROM, 2014.

ARANTES, C.K. *et al.* Avaliação dos serviços de saúde em relação ao diagnóstico precoce da hanseníase. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, 19(2):155-164, abr-jun 2010. Disponível em: < <http://scielo.iec.gov.br/pdf/ess/v19n2/v19n2a08.pdf>>. Acesso em: 25 fev. 2020.

ARAÚJO, M. G. Hanseníase no Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Vol. 36 no.3 Uberaba May/June 2003. DOI: 10.1590/S0037-86822003000300010. Versão impressa ISSN 0037-8682. Versão On-line ISSN 1678-9849. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0037-86822003000300010&script=sci_arttext&lng=pt>. Acesso em: 25 fev. 2020.

BARRETO, J.A. *et al.* Sorologia rápida para hanseníase (teste ML Flow) em pacientes dimorfos classificados como paucibacilares pelo número de lesões cutâneas: uma ferramenta útil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Vol. 41 supl. 2 Uberaba. 2008. DOI: 10.1590/S0037-86822008000700010. Versão impressa ISSN 0037-8682. Versão On-line ISSN 1678-9849. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822008000700010&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 26 fev. 2020.

BRASIL, M.T.L.R.F. *et al.* Aplicação do teste ELISA anti-PGL-I em localidade com alta endemicidade de hanseníase, na região norte do estado de São Paulo. Mestrado (área de Dermatologia). **Hansen. Int.**, 23(1/2): 35-48, 1998. Disponível em: < http://www.ilsl.br/revista/detalhe_artigo.php?id=10537>. Acesso em: 30 mar. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia para o Controle da hanseníase.** Brasília: Ministério da Saúde, 2002. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_de_hanseniase.pdf>. Acesso em: 07 abr. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de prevenção de incapacidades. **Cadernos de prevenção e reabilitação em hanseníase; n. 1.** Brasília-DF, 2008. Disponível em: < http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_prevencao_incapacidades.pdf>. Acesso em: 29 mar. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria Nº 3.125, de 7 de Outubro de 2010.** Disponível em: <http://www.morhan.org.br/views/upload/portaria_n_3125_hanseniose_2010.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2020.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Guia prático sobre a hanseníase.** Brasília: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: <<https://www.saude.gov.br/images/pdf/2017/novembro/22/Guia-Pratico-de-Hanseniose-WEB.pdf>>. Acesso em: 20 abr. 2020.

BUHRER-SEKULA, S. *et al.* Simple and Fast Lateral Flow Test for Classification of Leprosy Patients and Identification of Contacts with High Risk of Developing Leprosy. **J. Clin Microbiol.** 2003 May. DOI: 10.1128/JCM.41.5.1991-1995.2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC154748/>>. Acesso em: 27 fev. 2020.

BUHRER-SEKULA, S. Sorologia PGL-I na hanseníase. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 41(Suplemento II):3-5, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v41s2/v41s2a02.pdf>>. Acesso em: 27 mar. 2020.

CONTIN, L.A. *et al.* Uso do teste ML-Flow como auxiliar na classificação e tratamento da hanseníase. **An. Bras. Dermatol.** Vol. 86 no. 1 Rio de Janeiro Jan./Feb. 2011. DOI: 10.1590/S0365-05962011000100012. Versão impressa ISSN 0365-0596. Versão On-line ISSN 1806-4841. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962011000100012&lang=pt>. Acesso em: 27 mar. 2020.

CORTÉS, S.L.; RODRÍGUEZ, G. Leprosy in children: association between clinical and pathological aspects. **Journal of Tropical Pediatrics**, Vol. 50, No. 1. Oxford University Press 2004. DOI: 10.1093/tropej/50.1.12. Disponível em: <<https://academic.oup.com/tropej/article/50/1/12/1689351>>. Acesso em: 27 fev. 2020.

EIDT, L.M. Breve história da hanseníase: sua expansão do mundo para as Américas, o Brasil e o Rio Grande do Sul e sua trajetória na saúde pública brasileira. **Saúde soc.** Vol. 13 n.2 São Paulo. maio/ago. 2004. DOI: 10.1590/S0104-12902004000200008. Versão impressa ISSN 0104-1290. Versão On-line ISSN 1984-0470. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-12902004000200008&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 fev. 2020.

EVANGELISTA, C.M.N. Fatores sócio-econômicos e ambientais relacionados à hanseníase no estado do Ceará. Dissertação (Mestre em Saúde Pública) – Universidade Federal do Ceará, 2004. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/999/1/2004_discmnevangelista.pdf>. Acesso em: 31 jul. 2020.

FELICIANO, K.V. de O.; KOVACS, M.H.; ALZATE, A. Diagnóstico precoce da hanseníase: o caso dos serviços de saúde no Recife (Pernambuco), Brasil. **Rev**

Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health 4(1), 1998. Disponível em: <<https://www.scielo.org/pdf/rpsp/1998.v4n1/6-13/pt>>. Acesso em: 25 fev. 2020.

FOSS, N.T. Aspectos imunológicos da hanseníase. **Medicina, Ribeirão Preto**, 30: 335-339, jul./set. 1997. Simpósio: HANSENÍASE. Disponível em: <<http://www.periodicos.usp.br/rmrp/article/view/1186/1205>>. Acesso em: 20 abr. 2020.

FOSS, N.T. Episódios reacionais na hanseníase. **Medicina, Ribeirão Preto**, 36: 453-459, abr./dez. 2003. Simpósio: URGÊNCIAS E EMERGÊNCIAS DERMATOLÓGICAS E TOXICOLÓGICAS. Disponível em: <<https://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/764/777>>. Acesso em: 05 abr. 2020.

FREITAS, B.H.B.M. de; CORTELA, D. da C.B.; FERREIRA, S.M.B. Trend of leprosy in individuals under the age of 15 in Mato Grosso (Brazil), 2001-2013. **Rev Saúde Pública** 2017;51:28. DOI: 10.1590/S1518-8787.2017051006884. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5396506/pdf/0034-8910-rsp-S1518-87872017051006884.pdf>>. Acesso em: 27 fev. 2020.

GALLO, M.E.N.; OLIVEIRA, M.L.W. Recidivas e reinfecção em hanseníase. **Medicina, Ribeirão Preto**, 30: 351-357, jul./set. 1997. Disponível em: <<http://www.periodicos.usp.br/rmrp/article/view/1189/1208>>. Acesso em: 05 abr. 2020.

GOULART, I.M.B; PENNA, G.O.; CUNHA, G. Imunopatologia da hanseníase: a complexidade dos mecanismos da resposta imune do hospedeiro ao *Mycobacterium leprae*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Vol. 35 no. 4 Uberaba July/Aug. 2002. DOI: 10.1590/S0037-86822002000400014. Versão impressa ISSN 0037-8682. Versão On-line ISSN 1678-9849. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822002000400014>. Acesso em: 25 fev. 2020.

GROSSI, M.A. de F. *et al.* A influência do teste sorológico ML Flow na classificação da hanseníase. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Vol. 41 supl. 2 Uberaba 2008. DOI: 10.1590/S0037-86822008000700008. Versão impressa ISSN 0037-8682. Versão On-line ISSN 1678-9849. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822008000700008&lang=pt>. Acesso em: 27 ma. 2020.

LASTÓRIA, J.C.; ABREU, M.A.M.M de. Hanseníase: diagnóstico e tratamento. **Diagn Tratamento.** 2012;17(4):173-9. Disponível em: <<http://files.bvs.br/upload/S/1413-9979/2012/v17n4/a3329.pdf>>. Acesso em: 25 fev. 2020.

LEANO, H.A. de M. *et al.* Indicadores relacionados a incapacidade física e diagnóstico de hanseníase. **Rev Rene.** 2017 nov-dez; 18(6):832-9. DOI: 10.15253/2175-6783.2017000600018. Disponível em: <<http://periodicos.ufc.br/rene/article/view/31104/71695>>. Acesso em: 25 fev. 2020.

LIMA, M.C.V. *et al.* Práticas de autocuidado em hanseníase: face, mãos e pés. **Rev. Gaúcha Enferm.** Vol. 39 Porto Alegre 2018. Epub 22-Out-2018. DOI: 10.1590/1983-1447.2018.20180045. Versão On-line ISSN 1983-1447. Disponível em: <

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-14472018000100462&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 25 fev. 2020.

LYON, S.; GROSSI, M.A. de F. **Hanseníase**. Rio de Janeiro: MedBook, 2013.

MARCIANO, L.H.S.C. *et al.* Epidemiological and geographical characterization of leprosy in a Brazilian hyperendemic municipality. **Cad. Saúde Pública** vol.34 no.8 Rio de Janeiro 2018 Epub 20/08/2018. DOI: 10.1590/0102-311x00197216. Print version ISSN 0102-311x. On-line version ISSN 1678-4464. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2018000805004&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 27 fev. 2020.

MENDONÇA, V.A. *et al.* Imunologia da hanseníase. **An. Bras. Dermatol.** V.83 n.4 Rio de Janeiro jul./ago. 2008. DOI: 10.1590/S0365-05962008000400010. Versão impressa ISSN 0365-0596. Versão On-line ISSN 1806-4841. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962008000400010&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 26 fev. 2020.

MONTEIRO, Y.N. Hanseníase: história e poder no estado de São Paulo. **Hansen Int.**, 12(1):1-7, 1987. Disponível em: <<http://www.ils.br/revista/imageBank/738-2444-1-PB.pdf>>. Acesso em: 05 abr. 2020.

MOURA, R.S. de *et al.* Sorologia da hanseníase utilizando PGL-I: revisão sistemática. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Vol. 41 supl. 2 Uberaba. 2008. DOI: 10.1590/S0037-86822008000700004. Versão impressa ISSN 0037-8682. Versão On-line ISSN 1678-9849. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822008000700004&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 26 fev. 2020.

OBADIA, D.L.; VERARDINO, G.; ALVES, M. de F.G.S. Hanseníase: correlação clínico-histopatológica. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, UERJ. 2011. Disponível em: <<https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:F-6VkpMFABoJ:https://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/revistahupe/article/download/8815/6680+&cd=2&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br>>. Acesso em: 08 abr. 2020.

OLIVEIRA, M.L.W. *et al.* O uso da sorologia como ferramenta adicional no apoio ao diagnóstico de casos difíceis de hanseníase multibacilar: lições de uma unidade de referência. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Vol. 41 supl. 2 Uberaba. 2008. DOI: 10.1590/S0037-86822008000700007. Versão impressa ISSN 0037-8682. Versão On-line ISSN 1678-9849. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822008000700007&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 26 fev. 2020.

OPROMOLLA, D.V.A. Terapêutica da hanseníase. **Medicina, Ribeirão Preto**, 30: 345-350, jul./set. 1997. Disponível em: <<http://www.periodicos.usp.br/rmrp/article/view/1188/1207>>. Acesso em: 05 abr. 2020.

OPROMOLLA, D.V.A. **Noções de Hansenologia**. Bauru: Centro de Estudos Dr. Reynaldo Quagliato, 2000.

OPROMOLLA, D.V.A. **Atlas de Hanseníase**. Bauru: Instituto Lauro de Souza Lima, 2002. Disponível em: <http://www.saudedireta.com.br/catinc/tools/e_books/Hanseníase_Opromolla.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2020.

PARENTE, J.N.T. *et al.* T regulatory cells (TREG)(TCD4+CD25+FOXP3+) distribution in the different clinical forms of leprosy and reactional states. **An. Bras. Dermatol.** 2015 Jan-Feb; 90(1): 41-47. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20153311. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4323697/>. Acesso em: 10 set. 2020.

PINHO, J.R.R.; JÚNIOR, H.F. de A.; SCHENBERG, A.C.G. Os diferentes testes cutâneos existentes para acompanhamento de pacientes com hanseníase. **Hansen. Int.**, 23(1/21): 49-52, 1998. Disponível em: < <http://www.ilsl.br/revista/imageBank/906-2646-1-PB.pdf>>. Acesso em: 27 mar. 2020.

PREVEDELLO, F.C.; MIRA, M.T. Hanseníase: uma doença genética? **An. Bras. Dermatol.** V. 82 n.5 Rio de Janeiro sep/oct. 2007. DOI: 10.1590/S0365-05962007000500009. Versão impressa ISSN 0365-0596. Versão On-line ISSN 1806-4841. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962007000500009&lng=es&nrm=iso>. Acesso em: 25 fev. 2020.

ROMERO-MONTOYA, I.M. *et al.* Leprosy in colombian children and adolescents. **The Pediatric Infectious Disease Journal**. Volume 33, Number 3, March 2014. DOI: 10.1097/INF.0000000000000057. Disponível em: <https://journals.lww.com/pidj/Fulltext/2014/03000/Leprosy_In_Colombian_Children_And_Adolescents.28.aspx>. Acesso em: 27 fev. 2020.

SAINI, C.; RAMESH, V.; NATH, I. CD4+ Th17 Cells Discriminate Clinical Types and Constitute a Third Subset Of Non Th1, Non Th2 T Cells in Human Leprosy. **PLoS Negl Trop Dis.** 2013 Jul; 7(7): e2338. Published online 2013 Jul 25. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002338. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3723566/>>. Acesso em: 10 set. 2020.

SANTOS, D.F. dos. **Aspectos clínicos, moleculares, sorológicos e neurofisiológicos no diagnóstico precoce da neuropatia hanseniana**. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017. Disponível em: <<https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/19892/1/AspectosClinicosMoleculares.pdf>>. Acesso em: 08 abr. 2020.

SCOLLARD, D.M. *et al.* The continuing challenges of leprosy. **Clin. Microbiol. Rev.** 2006 Apr; 19 (2): 338-381. DOI: 10.1128/CMR.19.2.338-381.2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1471987/>>. Acesso em: 19 mar. 2020.

SHARMA, R. *et al.* Isolation of *Mycobacterium lepromatosis* and Development of Molecular Diagnostic Assays to Distinguish *Mycobacterium leprae* and *M. lepromatosis*. **Clinical Infectious Diseases**. 2019 Nov. DOI: 10.1093/cid/ciz1121. Online ahead of print. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31732729/>>. Acesso em: 31 jul. 2020.

SILVA JÚNIOR, F.J.G. da *et al.* Assistência de enfermagem ao portador de Hanseníase: abordagem transcultural. **Rev Bras Enferm**, Brasília 2008; 61(Rev Bras Enferm, Brasília 2008; 61(esp): 713-7. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/reben/v61nspe/a10v61esp.pdf>>. Acesso em: 25 fev. 2020.

SILVA, P.M.F. *et al.* Avaliação das limitações físicas, aspectos psicossociais e qualidade de vida de pessoas atingidas pela hanseníase. **Rev Fun Care Online**. 2019 jan/mar; 11(1):211-215. DOI: 10.9789/2175-5361.2019.v11i1.211-215. Disponível em: < http://www.seer.unirio.br/index.php/cuidadofundamental/article/view/6975/pdf_1>. Acesso em: 27 fev. 2020.

SILVA, R.C. da *et al.* Comportamento dos testes sorológicos ML Flow e ELISA (PGL-I) em áreas endêmica e não endêmica de hanseníase. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Vol. 41 supl. 2 Uberaba 2008. DOI: 10.1590/S0037-86822008000700005. Versão impressa ISSN 0037-8682. Versão On-line ISSN 1678-9849. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822008000700005&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 30 mar. 2020.

SILVESTRE, M. do P.S.A.; ARAÚJO, A.B. de; BARRETO, G.F. Sensibilidade do teste ELISA anti-PGL-I com dois antígenos sintéticos derivados do PGL-I do *Mycobacterium leprae*. **Rev Pan-Amaz Saúde** 2012; 3(4):9-16. DOI: 10.5123/S2176-62232012000400001. Disponível em: < <https://patua.iec.gov.br/bitstream/handle/iec/2969/Sensibilidade%20do%20teste%20ELISA%20anti-PGL-1%20com%20dois%20ant%3%a9dgenos%20sint%3%a9ticos%20derivados%20do%20PGL-1%20do%20Mycobacterium%20leprae.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 30 mar. 2020.

SOUZA, C. S. Hanseníase: formas clínicas e diagnóstico diferencial. **Medicina, Ribeirão Preto**, 30: 325-334, jul./set. 1997. Disponível em: < http://revista.fmrp.usp.br/1997/vol30n3/hanseniase_formas_clinicas_diagnostico_diferencial..pdf>. Acesso em: 25 fev. 2020.

TALHARI, S. *et al.* **Hanseníase**. 5 ed. Manaus: Di Livros. 2015.

TEIXEIRA, A.C. *et al.* Avaliação da concordância entre exames clínicos e laboratoriais no diagnóstico da hanseníase. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Vol. 41 supl. 2 Uberaba. 2008. DOI: 10.1590/S0037-86822008000700011. Versão impressa ISSN 0037-8682. Versão On-line ISSN 1678-9849. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822008000700011&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 26 fev. 2020.

TORRELLA, A. *et al.* Anti M. leprae IgM antibody determination by ultramicroimmunoenzymatic (umelisa hansen) for the diagnosis and monitoring leprosy. **Rev. Inst. Med. Trop.** S. Paulo vol. 40 n.3 São Paulo May/June 1998. DOI: 10.1590/S0036-46651998000300008. Online version ISSN 1678-9946. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46651998000300008>. Acesso em: 26 fev. 2020.

URA, S.; BARRETO, J.A. Papel da biópsia cutânea no diagnóstico de hanseníase. **Hansen. Int.** vol. 29 no.2 Bauru dez. 2004. Versão impressa ISSN 1982-5161. Disponível em: < http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-51612004000200008&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 08 abr. 2020.