

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
MESTRADO EM ENFERMAGEM

Sarah Lamas Vidal

**Uso de testes sorológicos e dosagem de quimiocinas: contribuições para a
vigilância de contatos de casos de hanseníase**

Juiz de Fora

2020

Sarah Lamas Vidal

Uso de testes sorológicos e dosagem de quimiocinas: contribuições para a vigilância de contatos de casos de hanseníase

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Enfermagem. Área de concentração: Cuidado em Saúde e Enfermagem.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Angélica da Conceição Oliveira Coelho

Juiz de Fora

2020

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Vidal, Sarah Lamas.

Uso de testes sorológicos e dosagem de quimiocinas: contribuições para a vigilância de contatos de casos de hanseníase / Sarah Lamas Vidal. -- 2020.

145 f. : il.

Orientadora: Angélica da Conceição Oliveira Coelho
Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Enfermagem. Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, 2020.

1. Hanseníase/prevenção & controle. 2. Testes Sorológicos. 3. Monitoramento epidemiológico. 4. Quimiocinas/análise. 5. Antígenos/análise. I. Coelho, Angélica da Conceição Oliveira, orient. II. Título.

Sarah Lamas Vidal

Uso de testes sorológicos e dosagem de quimiocinas: contribuições para a vigilância de contatos de casos de hanseníase

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Enfermagem. Área de concentração: Cuidado em Saúde e Enfermagem.

Aprovada em 25 de junho de 2020.

BANCA EXAMINADORA

Acocorlho

Profª. Drª. Angélica da Conceição Oliveira Coelho - Orientadora

Universidade Federal de Juiz de Fora

Francisco

Prof. Dr. Francisco Carlos Félix Lana

Universidade Federal de Minas Gerais

Herica Silva Dutra

Profª. Drª. Herica Silva Dutra

Universidade Federal de Juiz de Fora

Dedico este trabalho a todos os
pacientes com hanseníase,
aos seus familiares,
e a todos os profissionais da saúde
que se dedicam à assistência
em hanseníase.
Em especial aos colegas enfermeiros (as),
Que possamos nos empoderar!

AGRADECIMENTOS

A Deus,

Pelo dom da minha vida e por sempre me carregar em seus braços, me permitindo uma existência mais leve e repleta de realizações dos sonhos que Ele permite nascer em meu coração.

A Santa Rita de Cássia,

Por ser a melhor advogada que eu poderia ter, intercedendo em meu favor nos momentos que parecem impossíveis, e ganhando todas as causas.

Ao meu anjo que um dia foi ser humano, minha querida avó,

Por estar sempre ao meu lado ainda que meus olhos não possam enxergá-la; e por ser tanto para mim. Uma das grandes responsáveis por eu ter me tornado quem sou hoje. O meu coração sente sua presença em todos os instantes...

Aos meus pais,

Por terem escolhido me trazer ao mundo e muitas vezes feito o impossível acontecer para que o meu mundo fosse um lugar mais confortável para viver. Por me ensinarem a viver no caminho do bem, da verdade e do amor. E por nunca terem medido esforços para me proporcionar tudo que eu precisei para chegar até aqui.

Ao meu irmão e minha irmã,

Por todo amor compartilhado. Por estarem comigo sempre, serem meu apoio nos momentos difíceis, e meus companheiros e amigos em todos os momentos. Por terem me dado os presentes mais preciosos que eu já recebi até hoje, meus sobrinhos.

A eles, meus sobrinhos,

Por todos os momentos vivenciados juntos, troca de amor e afeto. Vocês são parte de mim, e ao nascer tornaram minha vida mais completa e feliz.

Família,

Deus não poderia tê-los escolhido melhor... Eu amo vocês!

A Angélica, minha orientadora,

Por ter acreditado em mim quando eu mesma ainda não enxergava possibilidades. Por ter permitido à nossa convivência, transformar-se em amizade. Por sempre me ajudar a encontrar o caminho certo, e me impulsionar a continuar sempre. Você sabe o tamanho da sua importância nesta minha trajetória acadêmica!

Aos membros da banca,

Por terem aceitado participar deste momento de tamanho crescimento para mim. Ana, Chico, Fernanda, Henrique e Herica, saibam que as contribuições de vocês foram e tenho certeza que ainda serão essenciais para o desenvolvimento de um ótimo trabalho.

Aos colegas do grupo de pesquisa,

Em especial aos que contribuíram na coleta de dados. Pelo companheirismo durante todo o processo de construção deste trabalho. Vocês foram peças elementares, e tornaram este caminho mais fácil de percorrer.

A Kyssia, Laura e Erick,

Pela ajuda com as análises laboratoriais e parceria, tornando os dias no laboratório mais prazerosos.

Ao Edson,

Pelo apoio com a análise PCA, pela paciência e dedicação para me auxiliar em cada detalhe desta análise.

As amigas que o mestrado meu permitiu, Bruna, Carol e Vanessa,

Por serem âncora e estarem sempre comigo, mesmo agora com a distância, me fazendo ter a certeza de que não estou sozinha e que tenho com quem contar caso precise de qualquer coisa neste percurso. Pela amizade construída fora das paredes das salas de aula; por me permitirem fazer parte da vida de vocês.

Aos amigos que o trabalho me presenteou,

Pela imensa compreensão e força para prosseguir nos momentos difíceis; pela alegria nos momentos compartilhados; pela leveza que vocês proporcionam nos plantões e na vida fora do hospital também.

As minhas amigas de vida,

Por serem as irmãs que a vida me permitiu escolher. Por compartilhar todos os momentos, bons ou ruins e se fazerem presentes estando juntas sempre, ou mesmo diante da distância que muitas vezes nos separa fisicamente.

A todos, que de alguma maneira estão presentes na minha vida e contribuíram para que esse trabalho acontecesse.

Muito obrigada!

Os que desprezam os pequenos acontecimentos nunca farão grandes descobertas. Pequenos momentos mudam grandes rotas (CURY, 2004, p. 22).

RESUMO

O efetivo controle da cadeia de transmissão da hanseníase é dependente de ações como a identificação precoce de indivíduos infectados com o *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*). O desenvolvimento e uso de testes laboratoriais que possam auxiliar na identificação de pessoas expostas ao *M. leprae* e com maior risco de adoecimento pode ser útil na vigilância dos contatos de hanseníase. O objetivo do estudo foi analisar o resultado dos testes anti-PGL-1 sintético (NDO-HSA), anti-LID-1 e anti-NDO-LID, a concentração sérica das quimiocinas CCL2 e CXCL10 em casos de hanseníase e seus contatos domiciliares e sociais e suas contribuições para a vigilância de contatos. Trata-se de um estudo transversal do tipo analítico. Os testes laboratoriais foram realizados por meio do método imunoenzimático (ELISA). Foram analisadas amostras de soro de 21 casos, 35 contatos domiciliares (CD) e 145 contatos sociais (CS) de hanseníase residentes no município de Juiz de Fora - MG. A coleta de dados envolveu aplicação de questionário, coleta de amostras de sangue venoso e avaliação dermatoneurológica, sendo esta última etapa aplicável apenas aos contatos. Os dados foram organizados no *Open Data Kit Collect (ODK Collect)* e analisados no *software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 24 for Windows*, no *software R 3.4.2* e no *GraphPad Prism* versão 6. Os resultados evidenciaram que, entre os CD, o teste que apresentou maior número de resultados positivos foi o anti-NDO-HSA. Com relação à população de casos e CS o maior número de resultados positivos foi para anti-LID-1. Na análise bivariada entre os CD, o número de residentes e número de cômodos por residentes foi capaz de explicar a diferença de positividade para NDO-HSA e para NDO-LID, sendo que número de residente por cômodo se manteve significativo para NDO-HSA após a análise de regressão logística. No grupo de CS, a renda e raio de distância da moradia do caso, explicaram a diferença de positividade para NDO-HSA. Percebe-se que em região de baixa endemicidade, as características de moradia e proximidade com o caso índice interferem significativamente na exposição dos indivíduos ao *M. leprae*. Ao comparar as concentrações séricas das quimiocinas observou-se níveis mais elevados de CCL2 nos contatos, em relação aos casos; além disso CCL2 apresentou mediana mais elevada relacionada ao grupo de casos multibacilar (MB), e contatos de casos MB, ao passo que CXCL10 teve maior mediana no grupo de paucibacilar (PB). Ao avaliar a relação entre as quimiocinas e características

clínicas, destaca-se os índices mais elevados de CCL2 em indivíduos não vacinados com BCG em relação aqueles vacinados. Houve correlação positiva entre as duas quimiocinas, e entre os três antígenos. A avaliação dos resultados dos antígenos de forma combinada, assim como das quimiocinas combinadas entre si, pode potencializar a identificação de contatos susceptíveis ao adoecimento. Entretanto, a utilização simultânea de todos os testes pode configurar uma limitação para implementação na rotina dos serviços de saúde. Desta maneira, sugere-se em região de baixa endemicidade a utilização do NDO-HSA e de CCL2 para identificação de indivíduos infectados pelo *M. leprae*.

Palavras-chave: Hanseníase/prevenção & controle. Testes Sorológicos. Monitoramento epidemiológico. Quimiocinas/análise. Antígenos/análise.

ABSTRACT

The effective control of the leprosy transmission chain is dependent on actions such as the early identification of individuals infected with *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*). The development and use of laboratory tests that may help in the identification of people exposed to *M. leprae* and at higher risk of illness can be useful in the surveillance of leprosy contacts. The aim of this study was to analyze the results of the synthetic anti-PGL-1 (NDO-HSA), anti-LID-1 and anti-NDO-LID tests, the serum levels of chemokines CCL2 and CXCL10, in cases of leprosy and their household and social contacts, and their contributions to contacts surveillance. This was an analytical cross-sectional study. Laboratory tests were performed using the immunoenzymatic method (ELISA). Serum samples from 21 leprosy cases, 35 household contacts (HC) and 145 social contacts (SC) residing in the city of Juiz de Fora - MG were analyzed. Data collection included the application of a questionnaire, venous blood sample collection and dermatoneurological evaluation, the latter being applied only to the contacts. The data were organized in the Open Data Kit Collect (ODK Collect) and analyzed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 24 software for Windows, the R 3.4.2 software and the GraphPad Prism version 6. The results showed that, among the HC, the test with the highest number of positive results was the anti-NDO-HSA. Regarding the leprosy cases and SC, the greatest number of positive results was for anti-LID-1. In the bivariate analysis between the HC groups, the number of residents and number of rooms per resident was able to explain the difference in positivity for NDO-HSA and for NDO-LID, with the number of residents per room remaining significant for NDO-HSA after the logistic regression analysis. In the SC groups, the income and distance from the housing of the leprosy case explained the difference in positivity for NDO-HSA. It is noticed that in a region of low endemicity, the characteristics of housing and proximity to the index case significantly interfere in the exposure of individuals to *M. leprae*. When comparing the serum concentrations of chemokines, higher levels of CCL2 were observed in the contacts, compared to the cases; in addition, CCL2 presented a higher median related to the group of multibacillary (MB) cases, and contacts of MB cases, whereas CXCL10 had a higher median in the paucibacillary (PB) group. When assessing the relationship between chemokines and clinical characteristics, the highest rates of CCL2 in individuals not vaccinated with BCG stand out compared to

those vaccinated. There was a positive correlation between the two chemokines, and between the three antigens. The combined evaluation of the results of the antigens, as well as the chemokines combined, can enhance the identification of contacts susceptible to illness. However, the simultaneous use of all tests can be a limitation for implementation in the routine of health services. In this way, the use of NDO-HSA and CCL2 is suggested in a region of low endemicity to identify individuals infected with *M. leprae*.

Keywords: Leprosy/prevention & control. Serologic Tests. Epidemiological Monitoring. Chemokines/analysis. Antigens/analysis

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 -	Esquema de PQT/OMS para casos PB-----	26
Quadro 2 -	Esquema de PQT/OMS para casos MB-----	26
Quadro 3 -	Esquema de vacinação com BCG de acordo com o histórico vacinal-----	31
Figura 1 -	Fluxograma da composição dos participantes do estudo – Juiz de Fora – MG – 2016-2018-----	42
Figura 2 -	Níveis séricos de anticorpos IgM e IgG anti-NDO-HSA, anti-LID-1 e anti-NDO-LID em soros de casos, contatos domiciliares e sociais – Juiz de Fora – MG – 2016-2018-----	61
Figura 3 -	Níveis séricos de anticorpos IgM e IgG entre casos, contatos domiciliares e contatos sociais nos ELISA NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID– Juiz de Fora – MG – 2016-2018-----	62
Figura 4 -	Concentração sérica das quimiocinas CCL2 e CXCL10 nos grupos de casos, contatos domiciliares e contatos sociais – Juiz de Fora – MG – 2016-2018-----	71
Figura 5 -	Concentração sérica das quimiocinas CCL2 e CXCL10 nos grupos de casos, contatos domiciliares e contatos sociais de acordo com a classificação operacional do caso índice – Juiz de Fora – MG – 2016-2018-----	72
Figura 6 -	Concentração sérica de CCL2 e CXCL10 entre casos, contatos domiciliares e contatos sociais – Juiz de Fora – MG – 2016-2018-----	73
Figura 7 -	Comparação entre a concentração sérica de quimiocinas de acordo com a faixa etária – Juiz de Fora – MG – 2016-2018-----	74
Figura 8 -	Comparação entre a concentração sérica de quimiocinas de acordo com a vacinação BCG – Juiz de Fora – MG - 2016-2018-----	75
Figura 9 -	Comparação entre a concentração de quimiocinas de acordo com a presença de sinal sugestivo de hanseníase – Juiz de Fora – MG - 2016-2018-----	76
Figura 10 -	Análise do componente principal envolvendo antígenos e quimiocinas nos grupos de casos, contatos domiciliares e contatos sociais – Juiz de Fora – MG – 2016-2018-----	78

Figura 11 -	Análise do componente principal envolvendo os antígenos NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID nos grupos de casos, contatos domiciliares e contatos sociais – Juiz de Fora – MG – 2016-2018-----	79
Figura 12 -	Análise do componente principal envolvendo CCL2 e CXCL10 nos grupos de casos, contatos domiciliares e contatos sociais – Juiz de Fora – MG – 2016-2018-----	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	-	Características dos casos índice – Juiz de Fora - MG – 2016-2017-----	51
Tabela 2	-	Características sociodemográficas dos contatos domiciliares e sociais – Juiz de Fora - MG – 2016-2018-----	52
Tabela 3	-	Características de moradia e convívio dos contatos domiciliares com o caso índice – Juiz de Fora - MG – 2016-2017-----	54
Tabela 4	-	Características de convívio dos contatos sociais com o caso índice – Juiz de Fora - MG – 2017-2018-----	55
Tabela 5	-	Características clínicas dos contatos domiciliares e sociais e relacionadas ao caso índice – Juiz de Fora - MG – 2016-2018-----	57
Tabela 6	-	Avaliação da soropositividade nos ELISA NDO-HSA, LID-1, e NDO-LID – Juiz de Fora - MG – 2016-2018-----	59
Tabela 7	-	Concordância entre os ELISA NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID nos casos, contatos domiciliares e contatos sociais – Juiz de Fora – MG – 2016-2018-----	60
Tabela 8	-	Análise bivariada dos fatores associados à soropositividade anti-LID1, NDO-LID e NDO-HSA – Contatos Domiciliares - Juiz de Fora – MG – 2016-2017-----	63-66
Tabela 9	-	Análise bivariada dos fatores associados à soropositividade anti-LID1, NDO-LID e NDO-HSA –Contatos Sociais – Juiz de Fora – MG – 2017-2018-----	67-69
Tabela 10	-	Correlação entre os testes sorológicos nos casos, contatos domiciliares e sociais - Juiz de Fora –MG – 2016-2018-----	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APS	Atenção Primária a Saúde
BCG	<i>Bacillus Calmette-Guérin</i>
BSA	<i>Bovine serum albumin</i>
CD	Contato domiciliar
CEDS	Coordenadoria Estadual de Dermatologia Sanitária
CONITEC	Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias
CS	Contatos Social
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
HSA	<i>Human serum albumin</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDRI	<i>Infectious Disease Research Institute</i>
IFN- γ	Interferon-gama
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL	Interleucina
IMUNOCET	Centro de Tecnologia Celular e Imunologia Aplicada
IP-10	<i>Interferon γ-induced protein-10</i>
JF	Juiz de Fora
LID-1	<i>Leprosy IDRI diagnostic 1</i>
<i>M. leprae</i>	<i>Mycobacterium leprae</i>
MB	Multibacilar
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
MG	Minas Gerais
MS	Ministério da Saúde
NDO	<i>Natural disaccharide octyl</i>
NDO-BSA	<i>Natural disaccharide linked to bovine serum albumin via octyl</i>
NDO-HSA	<i>Natural disaccharide linked to human serum albumin via octyl</i>
NDO-LID	<i>Natural disaccharide octyl - Leprosy IDRI diagnostic 1</i>
NEICAS	Núcleo de Estudos em Infecções e Complicações Relacionadas à Assistência à Saúde
ODK	<i>Open data kit</i>

OMS	Organização Mundial de Saúde
PB	Paucibacilar
PCA	<i>Principal component analysis</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PEEH	Plano Estadual de Enfrentamento da Hanseníase
PEP	Profilaxia pós-exposição
PEP-Hans	Profilaxia pós-exposição aos contatos de doentes de hanseníase
PGL-1	<i>Phenolic glycolipid 1</i>
PQT	Poliquimioterapia
RAPH	Rede de Atenção à Pessoa com Hanseníase
<i>Rho</i>	Coeficiente de <i>Spearman</i>
SES	Secretaria de Estado de Saúde
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SPSS	<i>Statistical package for the social sciences</i>
SRS	Superintendência Regional de Saúde
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i>
Th	<i>T helper</i>
UBS	Unidades Básicas de Saúde
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	22
2.1	OBJETIVO GERAL	22
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3	REVISÃO DE LITERATURA	23
3.1	ASPECTOS CLÍNICOS DA HANSENÍASE	23
3.2	SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E VIGILÂNCIA DE CONTATOS	27
3.3	SOROLOGIA ANTI-PGL-1, ANTI-LID-1 E ANTI-NDO-LID	34
3.4	EXPRESSÃO DAS QUIMIOCINAS CCL2 E CXCL10	36
4	MÉTODOS	38
4.1	TIPO DE ESTUDO	38
4.2	CENÁRIO DE ESTUDO	38
4.3	PARTICIPANTES DO ESTUDO	39
4.4	VARIÁVEIS DO ESTUDO	42
4.4.1	Variável dependente	42
4.4.2	Variáveis independentes	43
4.5	COLETA DE DADOS	44
4.5.1	Visitas domiciliares e identificação dos participantes	44
4.5.2	Realização das análises sorológicas	46
4.6	TRATAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS	47
4.7	ASPECTOS ÉTICOS	48
4.8	FINANCIAMENTO	49
5	RESULTADOS	50
5.1	CARACTERÍSTICAS DOS CASOS ÍNDICE	50
5.2	CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS E DE CONVÍVIO DOS CONTATOS DOMICILIARES E SOCIAIS COM O CASO ÍNDICE	51
5.3	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS CONTATOS DOMICILIARES E SOCIAIS E DESTES RELACIONADAS AO CASO ÍNDICE	56
5.4	RESULTADOS DOS TESTES NDO-HSA, LID-1 E NDO-LID E ASSOCIAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E SOCIODEMOGRÁFICAS.	58
5.5	RESULTADOS DA DOSAGEM DAS QUIMIOCINAS CCL2 E CXCL10 E ASSOCIAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E SOCIODEMOGRÁFICAS	71

5.6	CORRELAÇÃO E ANÁLISE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE OS TESTES LABORATORIAIS POR MEIO DA ANÁLISE DO COMPONENTE PRINCIPAL	76
6	DISCUSSÃO	82
7	LIMITAÇÕES DO ESTUDO	92
8	CONCLUSÃO	93
	REFERÊNCIAS	95
	APENDICE A – Geolocalização Espacial Com Relação a Moradia Do Caso Índice	104
	APÊNDICE B – Questionário De Coleta De Dados Casos, Contatos Domiciliares e Sociais	108
	APÊNDICE C – Protocolo Para Coleta de Sangue	113
	APÊNDICE D – Termo De Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	115
	ANEXO A - Anuência da Coordenadoria Estadual de Dermatologia Sanitária da Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais - CEDS/SES/MG	120
	ANEXO B - Roteiro Para Realização de Exame Dermatoneurológico – Adaptado	121
	ANEXO C - Formulário de Encaminhamento de Caso Suspeito De Hanseníase	129
	ANEXO D – Ficha de Avaliação Neurológica Simplificada	130
	ANEXO E - Protocolo de Análise Laboratorial – Adaptado	132
	ANEXO F - Protocolo de Análise Laboratorial CCL2	135
	ANEXO G - Protocolo de Análise Laboratorial CXCL10	138
	ANEXO H - Anuência do Departamento de Atenção Primária à Saúde do Município de Juiz De Fora - Minas Gerais	141
	ANEXO I - Parecer Consubstanciado do CEP-UFJF	142

1 INTRODUÇÃO

A hanseníase é uma doença negligenciada, causada pelo *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*). A transmissão do bacilo se dá a partir das vias aéreas superiores, e seu período de incubação é de em média cinco anos, o que dificulta o diagnóstico precoce para início do tratamento e quebra da cadeia de transmissão. Seus sinais e sintomas dermatoneurológicos, possibilitam o diagnóstico que é essencialmente clínico e epidemiológico, e se dá a partir da anamnese e do exame dermatoneurológico (ARAÚJO, 2003; AVELLEIRA *et al.*, 2015; BARBIERE; MARQUES, 2009; BRASIL, 2010; BRASIL, 2016; DIÓRIO, 2014; HASTINGS *et al.*, 1986).

No ano de 2018, a Organização Mundial de Saúde (OMS) apresentou um coeficiente de detecção de hanseníase mundial de 2,74/100.000 habitantes, e de 3,08/100.000 habitantes nas américas. O Brasil, no entanto, nesse mesmo ano, apresentou um coeficiente de detecção de 13,68 casos por 100.000 habitantes. Em relação ao número de casos absolutos da doença, o Brasil é considerado o segundo colocado no mundo e o primeiro na região das Américas. Além disso, do total de casos registrados neste mesmo ano no Brasil (n= 28.660), 77,20% foram classificados como multibacilar (MB), 7,35% foram diagnosticadas apresentando grau 2 de incapacidade, e 5,95% foram em crianças, o que aponta para o diagnóstico tardio e para a transmissão ativa da doença (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2019).

O Estado de Minas Gerais apresentou, em 2018, um coeficiente de detecção de hanseníase de 6,08/100.000 habitantes (MINAS GERAIS, 2018), o que é considerado média endemicidade de acordo com os indicadores de monitoramento do Ministério da Saúde (MS) (BRASIL, 2016). A Secretaria Estadual de Saúde de Minas Gerais (SES-MG) aponta que 64,70% (n= 552) dos municípios mineiros encontram-se silenciosos nas notificações, o que sinaliza um cenário epidemiológico preocupante (MINAS GERAIS, 2019).

Ainda de acordo com dados da SES-MG, o município de Juiz de Fora em 2018 apresentou um coeficiente de detecção de 0,35/100.000 habitantes, o que o caracteriza como município de baixa endemicidade. Apesar disso, dados registrados no Plano Estadual de Enfrentamento da Hanseníase (PEEH) de 2019, mostram que entre os casos diagnosticados de 2013 a 2017, 11,16% (n= 623) foram

diagnosticados com grau 2 de incapacidade, o que aponta para o diagnóstico e tratamento tardio (MINAS GERAIS, 2018; MINAS GERAIS, 2019). Esses dados corroboram com estudo local que evidenciou que 82,60% dos casos foram diagnosticados de maneira tardia no período de 2011 a 2016, o que propicia a continuidade da cadeia de transmissão da hanseníase (LAURINDO *et al.*, 2018). A estratégia global para hanseníase 2016-2020 apresenta como visão “Um mundo sem hanseníase”, buscando atingir entre outras coisas zero número de casos e zero transmissão da hanseníase. Para atingir essa meta, uma das estratégias operacionais traçadas é a garantia do exame de todos os contatos próximos, entre eles os contatos domiciliares (CD) e os contatos sociais (CS) (WHO, 2016).

Em 2018, Juiz de Fora registrou oito contatos de casos de hanseníase, com 100,00% destes examinados. Minas Gerais, porém, registrou 3.916 contatos de casos novos, e apenas 3.025 destes foram examinados. Estes dados mostram que apesar de o exame de todos os contatos ser preconizado pelo MS (BRASIL, 2016) e pela OMS (WHO, 2016), em 2018 mais de 22,00% dos contatos registrados em Minas Gerais deixaram de ser avaliados (MINAS GERAIS, 2018).

A vigilância de contatos tem a finalidade de descobrir casos novos, entre aqueles que conviveram de maneira prolongada com o caso novo de hanseníase diagnosticado, além de investigar sua possível fonte de infecção. Considera-se contato de hanseníase toda pessoa que resida ou tenha residido, conviva ou tenha convivido com o caso de hanseníase sem tratamento, nos cinco anos que antecedem o diagnóstico, podendo estes serem familiares ou não (BRASIL, 2019b). A partir de 2016, o MS incluiu, além dos CD, os CS como contatos de casos de hanseníase a serem investigados na vigilância epidemiológica, podendo estes ser vizinhos, colegas de trabalho, de escola, entre outros (BRASIL, 2016; BRASIL, 2019b).

A atenção à saúde em hanseníase se organiza em todos os níveis de complexidade da assistência. Devido ao alto poder incapacitante da doença, e as dificuldades encontradas na implementação das ações de prevenção e controle da hanseníase na Atenção Primária a Saúde (APS), torna-se essencial a existência dos serviços especializados, de média e alta complexidade (MINAS GERAIS, 2019).

A APS é o local prioritário para a realização das atividades de prevenção, controle da doença, assim como para a vigilância dos contatos. Estas ações são de responsabilidade de toda a equipe, devendo ser realizadas de maneira

multiprofissional. Destaca-se as atribuições do enfermeiro voltadas para a vigilância relacionada à hanseníase, devendo o mesmo atuar identificando sinais e sintomas, avaliando casos suspeitos, realizando exame dermatoneurológico nos contatos, orientando aplicação de BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*), desenvolvendo ações educativas, dentre outras (MINAS GERAIS, 2019).

Para o controle da cadeia de transmissão da hanseníase, é essencial que os contatos infectados com o *M. leprae* e que possuem um risco maior de adoecimento sejam identificados de maneira oportuna (BRASIL, 2016). Testes laboratoriais como baciloscopia, histopatologia e Mitsuda são complementares ao diagnóstico clínico e auxiliares na classificação da hanseníase, entretanto estes apontam apenas a doença na fase em que já manifesta sinais clínicos, não contribuindo para o diagnóstico oportuno (LYON; GROSSI, 2014).

Testes sorológicos baseados na produção de anticorpos em resposta a antígenos específicos para *M. leprae* estão sendo utilizados com o intuito de identificar indivíduos infectados (CARVALHO *et al.*, 2017; VIDAL *et al.*, 2018) com alto risco de adoecimento (FRADE *et al.*, 2017) e de auxiliar no diagnóstico oportuno da hanseníase, no monitoramento da terapia medicamentosa (AMORIM *et al.*, 2016; FABRI *et al.*, 2016), além de auxiliar na classificação da doença (AMORIM *et al.*, 2016; FABRI *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2017).

Estes anticorpos, que são detectados nos testes anti-Phenolic Glycolipid 1 (anti-PGL-1), em seu análogo sintético anti- Natural disaccharide linked to human serum albumin via octyl (anti-NDO-HSA), no anti-Leprosy IDRI diagnostic 1 (anti-LID-1) e anti-Natural disaccharide octyl - Leprosy IDRI Diagnostic 1 (anti-NDO-LID), não são eficazes para eliminar os bacilos, porém são sinalizadores de que há uma infecção presente, que pode desencadear o desenvolvimento da hanseníase. Estes testes não são considerados diagnósticos da hanseníase, entretanto estudos apontam que podem contribuir para o diagnóstico oportuno (AMORIM *et al.*, 2016), o que pode auxiliar na vigilância dos contatos e/ou população.

Além de anticorpos, algumas proteínas exclusivas do *M. leprae*, induzem a produção de quimiocinas (GELUK *et al.*, 2012). Foi demonstrado que a quimiocina CCL2 apresenta potencial de distinguir respostas imunes presentes em pacientes doentes, daquelas induzidas apenas pela exposição ao *M. leprae* (HASAN *et al.*, 2006). Já a CXCL10 está presente nos granulomas característicos de hanseníase

além de ser um potencial marcador de reação hansênica tipo I (OLIVEIRA *et al.*, 2007; STEFANI *et al.*, 2009).

Tanto CXCL10 quanto CCL2 atuam como sinalizadores moleculares do sistema imune. Desta maneira, estas quimiocinas podem ser úteis para auxiliar a verificação da exposição ao *M. leprae* e a identificação de pessoas com maior risco de desenvolver a hanseníase (GELUK *et al.*, 2012).

A partir disso, elegeu-se como hipótese do estudo que os testes anti-NDO-HSA, anti-LID-1 e anti-NDO-LID, e a dosagem de CCL2 e CXCL10 avaliados em conjunto com características sociodemográficas dos contatos domiciliares e sociais e características do caso índice, auxiliam na vigilância dos contatos domiciliares e sociais de casos de hanseníase contribuindo para o diagnóstico oportuno de novos casos.

Espera-se que os resultados desses testes sejam utilizados para auxiliar e possibilitar melhorias nas ações de vigilância dos CD e CS de casos de hanseníase a partir de um acompanhamento mais frequente para os que apresentarem alta reatividade aos testes, com possível descoberta de novos casos e tratamento oportuno, contribuindo para a cura do indivíduo e quebra da cadeia de transmissão da doença. A medida em que seus resultados mostrarem boa aplicabilidade na identificação de indivíduos mais susceptíveis ao adoecimento, outros estudos podem buscar o desenvolvimento de técnicas laboratoriais de mais fácil execução, possibilitando assim o uso de testes com estes antígenos e quimiocinas na rotina do Sistema Único de Saúde (SUS).

O desenvolvimento deste tipo de tecnologia tem sido uma preocupação e interesse recente do MS demonstrado através da chamada pública CNPq/MS-SCTIE-Decit N° 22/2019 (BRASIL, 2019c).

2 OBJETIVOS

Nesta seção estão apresentados os objetivos deste trabalho.

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o resultado dos testes anti-PGL-1 sintético (NDO-HSA), anti-LID-1 e anti-NDO-LID, a concentração sérica das quimiocinas CCL2 e CXCL10 em casos de hanseníase e seus contatos domiciliares e sociais e suas contribuições para a vigilância de contatos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a positividade dos testes anti-NDO-HSA, anti-LID-1 e anti-NDO-LID nos casos de hanseníase e em seus contatos domiciliares e sociais;
- Avaliar a concordância entre os testes anti-NDO-HSA, anti-LID-1 e anti-NDO-LID;
- Avaliar a correlação entre os testes anti-NDO-HSA, anti-LID-1 e anti-NDO-LID e a concentração sérica de CCL2 e CXCL10 nos casos de hanseníase, e em seus contatos domiciliares e sociais;
- Avaliar a relação entre a soropositividade dos testes anti-NDO-HSA, anti-LID-1 e anti-NDO-LID, e as características clínicas, sociodemográficas e de convivência dos contatos domiciliares e sociais com o caso índice e relacionadas às características clínicas do caso índice;
- Avaliar a relação entre a concentração sérica de CCL2 e CXCL10 e a classificação operacional do caso índice, idade, e presença de BCG nos casos, contatos domiciliares e sociais e os sinais e sintomas de hanseníase nos contatos domiciliares e sociais.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Este capítulo foi dividido em quatro tópicos, sendo que no primeiro foram abordados os aspectos clínicos da hanseníase, no segundo a situação epidemiológica e vigilância de contatos, no terceiro a sorologia anti-PGL-1, anti-LID-1 e anti-NDO-LID, e por fim, no quarto tópico a expressão das quimiocinas CCL2 e CXCL10.

3.1 ASPECTOS CLÍNICOS DA HANSENÍASE

A hanseníase é causada pelo *M. leprae*, um bacilo intracelular obrigatório, que possui predileção pelas áreas mais frias do corpo e se instala nos macrófagos (DIÓRIO, 2014). É uma doença infecciosa, que acomete principalmente a derme e nervos periféricos, entretanto em estágios mais avançados pode afetar outros órgãos, entre eles os olhos, linfonodos, fígado e testículos (ARAÚJO, 2003). O desenvolvimento da hanseníase é lento, levando em média cinco anos, entre a infecção pelo bacilo até o aparecimento dos primeiros sinais e sintomas (HASTINGS *et al.*, 1986).

O homem ainda é considerado o único responsável pela transmissão do bacilo com importância epidemiológica (AVELLEIRA *et al.*, 2015). O *M. leprae* já foi encontrado também em macacos e tatus (ARAÚJO, 2003) e estudos recentes têm investigado o potencial do tatu na transmissão do bacilo, entretanto, não foi encontrada associação entre o tatu como fonte importante de infecção (STEFANI *et al.*, 2019). Não obstante um outro estudo identificou altos títulos de anticorpos em resposta ao teste anti-PGL-1 em indivíduos que caçavam e se alimentavam com frequência da carne do tatu, sugerindo maior risco de infecção por *M. leprae* nestas pessoas (SILVA *et al.*, 2018).

A transmissão da hanseníase se dá por meio das vias aéreas superiores, a partir do contato próximo e prolongando de um caso de hanseníase bacilífero não tratado com um indivíduo suscetível (ARAÚJO, 2003). O *M. leprae* apresenta alta infectividade e baixa patogenicidade, de maneira que ele tem facilidade em penetrar as vias aéreas, porém 80% a 90% das pessoas que são infectadas não adoecem (BARBIERE; MARQUES, 2009). Essa resistência natural à infecção está ligada a

resposta imune do indivíduo que irá determinar a capacidade dos macrófagos em combater o bacilo ou a propagação da doença (ARAÚJO, 2003; AVELLEIRA *et al.*, 2015). Caso ocorra o adoecimento, surgem os sinais e sintomas, que são dermatoneurológicos, devido à instalação do bacilo na derme e células de Schwann (ARAÚJO, 2003).

O diagnóstico da hanseníase é clínico e epidemiológico, realizado por meio da anamnese e do exame dermatoneurológico. É considerado caso de hanseníase, a pessoa que apresente um ou mais dos sintomas listados a seguir: lesões ou áreas da pele com alterações de sensibilidade térmica, dolorosa e/ou tátil; nervos periféricos comprometidos, geralmente espessados, associado a alterações sensitivas, motoras e/ou autonômicas; e baciloscopia ou biópsia de pele com presença de *M. leprae* (BRASIL, 2019b). O diagnóstico precoce é importante para a redução da cadeia de transmissão (ARAÚJO, 2003).

O exame dermatológico se dá pela busca de lesões ou queixas dermatológicas, e quando na presença destas, avaliação da sensibilidade tátil, térmica e dolorosa. Na avaliação neurológica, realiza-se a palpação dos nervos¹ mais acometidos pelo bacilo, avaliação de força muscular e estesiometria nas mãos e nos pés. É realizada também a avaliação da face em busca de alterações nos olhos e nariz. (BRASIL, 2008b; BRASIL, 2016; LEHMAN *et al.*, 1997).

A partir do diagnóstico da hanseníase, é realizada a classificação de acordo com o acometimento. Existem atualmente três maneiras distintas para classificar a hanseníase, sendo a classificação clínica de Madri utilizada nos serviços de saúde (BRASIL, 1960); a classificação de Ridley-Joppling, que é mais utilizada em centros de referência e ou de pesquisa (RIDLEY; JOPLING, 1966); e a classificação operacional que é utilizada nos serviços de saúde para fins de determinação do tipo de tratamento (BRASIL, 2016).

A classificação clínica de Madri subdivide a hanseníase em quatro tipos, considerando dois extremos estáveis, e os outros dois, que permeiam estes, como instáveis (BRASIL, 1960). A hanseníase indeterminada é a fase inicial da doença e é considerada instável, podendo evoluir para a cura espontânea, assim como para qualquer uma das outras formas. O tipo tuberculóide é o polo estável mais brando,

¹ Os nervos acometidos pelo *M. leprae* e que são avaliados na realização do exame neurológico da hanseníase, são o trigêmeo e o facial, por meio da avaliação da face; e o radial, o mediano, o ulnar, o fibular e o tibial, avaliados por meio de palpação dos membros superiores e inferiores (LEHMAN *et al.*, 1997).

enquanto o virchowiano representa o polo com maior acometimento. A forma dimorfa ou borderline, representa o outro tipo instável com um grau médio de acometimento comparado aos polos estáveis (AVELLEIRA *et al.*, 2015).

A classificação proposta por Ridley-Jopling divide a hanseníase em cinco subtipos e assim como a classificação de Madri, considera que pode haver deslocamento entre os polos de acordo com a evolução da doença e a resposta imune do indivíduo. Nesta classificação os dois polos são denominados tuberculoide e lepromatoso, e o grupo intermediário é denominado borderline-tuberculoide, borderline-borderline, e borderline-lepromatoso (RIDLEY; JOPLING, 1966).

Por fim, na classificação operacional, proposta pela OMS, a hanseníase é dividida em apenas dois tipos, paucibacilar (PB) e MB. Os casos PB são classificados assim por possuírem no máximo cinco lesões de pele. Os casos MB são aqueles que possuem seis ou mais lesões de pele, ou ainda mais de um nervo acometido independentemente da situação cutânea. Além disso, casos com baciloscopia positiva são sempre classificados como MB, porém o resultado negativo não exclui o diagnóstico de hanseníase e não classifica obrigatoriamente o caso como PB na presença de sinais clínicos compatíveis com MB (BRASIL, 2016).

Assim que o diagnóstico é realizado e de acordo com a classificação operacional, o tratamento da hanseníase é iniciado. Atualmente ele é realizado por meio da poliquimioterapia (PQT), regulamentada pela OMS. Casos PB possuem o esquema de tratamento baseado em dois fármacos, a rifampicina e a dapsona; sendo seis cartelas que devem ser utilizadas em um período de até nove meses (BRASIL, 2016).

Os casos MB são tratados com doze cartelas, e além da rifampicina e dapsona, também apresenta clofazimina em sua composição. Neste caso, o tratamento deve ser completado em até dezoito meses. Na conclusão do tratamento no tempo estabelecido, o paciente deve ser submetido à avaliação dermatoneurológica e do grau de incapacidade física, e receber alta por cura (BRASIL, 2016). A realização do tratamento completo é essencial para a cura da hanseníase, entretanto existem casos de abandono. Estudo recente relacionou o abandono de tratamento principalmente a condições socioeconômicas mais vulneráveis (ANDRADE *et al.*, 2019).

Nos quadros 1 e 2, respectivamente, estão ilustrados os esquemas terapêuticos para pacientes PB e MB.

Quadro 1 – Esquema de PQT/OMS para casos PB

Adulto	Rifampicina (RFM): dose mensal de 600 mg (2 cápsulas de 300 mg) com administração supervisionada.
	Dapsona (DDS): dose mensal de 100 mg supervisionada e dose diária de 100 mg autoadministrada.
Criança	Rifampicina (RFM): dose mensal de 450 mg (1 cápsula de 150 mg e 1 cápsula de 300 mg) com administração supervisionada.
	Dapsona (DDS): dose mensal de 50 mg supervisionada e dose diária de 50 mg autoadministrada.

Fonte: BRASIL, 2016, p. 21.

Quadro 2 – Esquema de PQT/OMS para casos MB

Adulto	Rifampicina (RFM): dose mensal de 600 mg (2 cápsulas de 300 mg) com administração supervisionada.
	Dapsona (DDS): dose mensal de 100 mg supervisionada e dose diária de 100 mg autoadministrada.
	Clofazimina (CFZ): dose mensal de 300 mg (3 cápsulas de 100 mg) com administração supervisionada e 1 dose diária de 50 mg autoadministrada.
Criança	Rifampicina (RFM): dose mensal de 450 mg (1 cápsula de 150 mg e 1 cápsula de 300 mg) com administração supervisionada.
	Dapsona (DDS): dose mensal de 50 mg supervisionada e dose diária de 50 mg autoadministrada.
	Clofazimina (CFZ): dose mensal de 150 mg (3 cápsulas de 50 mg) com administração supervisionada e uma dose de 50 mg autoadministrada em dias alternados.

Fonte: BRASIL, 2016, p. 22.

Os testes laboratoriais como a baciloscopia, a histopatologia e o teste de *Mitsuda* são complementares ao diagnóstico clínico e auxiliares na classificação da hanseníase, e são utilizados em alguns serviços de saúde. A baciloscopia é um exame realizado a partir de raspado intradérmico e tem por finalidade definir a presença ou não de bacilos nas amostras coletadas pelo método de coloração de *Ziehl Neelsen*. Seu resultado é expresso em índice baciloscópico, e apresenta uma correlação positiva com a sorologia (BARRETO, 2014, LYON; GROSSI, 2014).

A histopatologia é um teste sensível e específico, realizado a partir de biópsia de pele (BARRETO, 2014), é utilizada para auxiliar na confirmação do diagnóstico, avaliar reações hansênicas, e acompanhar a evolução de pacientes (LYON; GROSSI, 2014). O teste de *Mitsuda*, avalia a imunidade celular do indivíduo, específica ao *M. leprae*, sendo que o seu resultado positivo indica amadurecimento da resposta celular e a capacidade de defesa do organismo deste indivíduo. O teste

de *Mitsuda* não é diagnóstico, porém seu resultado tem valor prognóstico e pode auxiliar na classificação da hanseníase. Ressalta-se que este teste tem correlação negativa com a sorologia (BARRETO, 2014, LYON; GROSSI, 2014).

Além destes, tem sido realizado investimentos em pesquisas a respeito de outros testes como por exemplo exame anatomopatológico, Reação em Cadeia de Polimerase, do inglês Polymerase Chain Reaction (PCR), e testes sorológicos (LYON; GROSSI, 2014). Sendo estes últimos, tratados de maneira mais detalhada no item 3.3.

3.2 SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E VIGILÂNCIA DE CONTATOS

No ano de 2018, a OMS registrou uma prevalência mundial de hanseníase de 0,24/10.000 habitantes, e de 0,34/10.000 habitantes nas Américas, e de acordo com estes parâmetros a hanseníase está considerada uma doença eliminada² tanto a nível mundial, quanto no continente americano (WHO, 2000; WHO, 2019).

No Brasil entretanto, a situação epidemiológica da hanseníase foge a essa realidade, de maneira que a doença ainda permanece como um problema de saúde pública, com prevalência registrada de 1,47/10.000 habitantes (WHO, 2019). Esse indicador mede a magnitude da endemia e, de acordo com os parâmetros do MS, é considerada de média endemicidade (BRASIL, 2016). E apesar do registro de média endemicidade, estudo alerta para o risco de se basear na taxa de prevalência para definir a situação da hanseníase, uma vez que esta registra apenas os casos em tratamento em dezembro do ano corrente. De maneira que os casos PB, que finalizam o tratamento antes do final do ano, não são contabilizados neste registro, o que propicia o cálculo de uma taxa que possivelmente não expressa a realidade da situação epidemiológica da doença (SALGADO *et al.*, 2018).

Desta maneira, é importante apontar também alguns outros indicadores, que possibilitam reflexão acerca da situação da doença como os apresentados a seguir. Do total de casos registrados no Brasil em 2018 (n= 28.660), 77,20% foram classificados como MB. Além disso, 2.109 pessoas (7,35%) foram diagnosticadas

² A eliminação da hanseníase, de acordo com a OMS, significa reduzir a carga da doença para um nível consideravelmente baixo, de maneira a reduzir a fonte de infecção e com o intuito de a doença desaparecer naturalmente. Em dados numéricos, a OMS define eliminação como uma taxa de prevalência de menos de 1caso/10.000 habitantes (WHO, 2000).

apresentando grau 2 de incapacidade, o que aponta para o diagnóstico tardio; e 1705 casos (5,95%) foram diagnosticados em crianças, este fato aponta para a transmissão ativa da doença (WHO, 2019).

Em 2018, o Brasil registrou 28.660 casos novos (WHO, 2019), que corresponde a 1.785 casos novos a mais do que o registrado no ano 2017 (26.875) (WHO, 2018). O número de casos novos em 2018 corresponde a um coeficiente de detecção de 13,68 casos por 100.000 habitantes (WHO, 2019), o que é considerado de alta endemicidade segundo o MS (BRASIL, 2016). Atualmente o país é o segundo colocado em números absolutos de hanseníase no mundo, ficando à sua frente, apenas a Índia. Além disso, lidera o ranking das américas, sendo responsável por 93,00% dos casos de hanseníase desta região. E juntamente com a Índia e a Indonésia, representam 79,60% da carga global da doença. Esses três países, foram também os únicos que registraram número superior a 10.000 casos cada, no ano de 2018 (WHO, 2019).

No ano 2018, o estado de Minas Gerais registrou 1.287 casos novos, o que corresponde a um coeficiente de detecção de 6,08/100.000 habitantes (MINAS GERAIS, 2018). Esse valor é considerado médio de acordo com os indicadores de monitoramento do MS (BRASIL, 2016). Apesar disso a SES-MG aponta que 64,7% dos municípios mineiros encontram-se silenciosos nas notificações, o que sinaliza um cenário epidemiológico preocupante, uma vez que alerta para um possível subdiagnóstico (MINAS GERAIS, 2019).

Além disso, um estudo realizado no ano de 2016 com municípios da Superintendência Regional de Saúde de Juiz de Fora (SRS-JF), mostra o valor estimado da prevalência oculta na SRS-JF entre 2011 a 2015, e indica que deveriam ter sido diagnosticados 30 novos casos neste período além dos casos registrados, o que aumentaria em 52,63% a prevalência registrada (FONTES, 2016). Esses dados corroboram com estudo nacional que mostra que aproximadamente 50% da população que vive em 19 estados brasileiros está exposta a taxas de infecção por *M. leprae* altas ou hiperendêmicas, sugerindo que o número estimado de casos ocultos de hanseníase poderá ser, até oito vezes maior do que a prevalência registrada nestas áreas (SALGADO *et al.*, 2018).

Ainda de acordo com dados da SES-MG (MINAS GERAIS, 2018), o município de Juiz de Fora em 2018 registrou dois casos novos, representando um coeficiente de detecção de 0,35/100.000 habitantes, considerado como município de baixa

endemicidade. No entanto, estudo local que analisou a situação epidemiológica e distribuição espacial da hanseníase entre os anos de 1995 a 2015, sugere que apesar de os indicadores epidemiológicos apontarem para a eliminação da hanseníase em Juiz de Fora, existem evidências de que existe prevalência oculta na região (MATOS *et al.*, 2018).

Além disso, dados registrados no PEEH de 2019, mostram que entre os casos diagnosticados em Minas Gerais entre 2013 e 2017, 11,16% (n= 623) foram diagnosticados com grau 2 de incapacidade, o que aponta para demora no diagnóstico e início tardio do tratamento (MINAS GERAIS, 2019). Esses dados corroboram com estudo realizado em Juiz de Fora com casos de hanseníase diagnosticados entre os anos 2011 e 2016, que evidenciou que 82,6% dos casos diagnosticados neste período tiveram diagnóstico tardio, o que propicia a continuidade da cadeia de transmissão da hanseníase (LAURINDO *et al.*, 2018).

Apesar de a meta de eliminação da hanseníase como problema de saúde pública, a nível mundial, ter sido alcançada no ano 2000, pode-se constatar pelos dados acima descritos que a hanseníase ainda se encontra como um problema de saúde pública no Brasil, conforme dados da OMS (WHO, 2016; WHO, 2019).

Na tentativa de aprimorar as ações de combate e controle da hanseníase, a cada cinco anos é lançada uma versão da estratégia global com diretrizes para o enfrentamento da doença. A atual estratégia global para hanseníase (2016-2020) apresenta como visão “um mundo sem hanseníase”, e para isso propõe zerar o número de casos, a transmissão, as incapacidades decorrentes da hanseníase e o estigma e discriminação. Esta proposta envolve, para além dos aspectos físicos de cunho medicinal, ações relacionadas aos aspectos sociais e humanos (WHO, 2016).

Ainda neste sentido, a agenda 2030 (Objetivos do Desenvolvimento Sustentável) que também começou a vigorar em 2016, apresenta metas para transformar o mundo, alcançando o desenvolvimento sustentável nas dimensões econômicas, ambientais e sociais. E dentre os 17 objetivos de desenvolvimento sustentável traçados pelas Nações Unidas, destaca-se o objetivo 3 que propõe assegurar saúde e promover o bem-estar para todas as pessoas, de todas as idades. E entre as metas definidas para alcançar este objetivo, está acabar com, entre outras doenças, as tropicais negligenciadas e com as doenças transmissíveis, dentre as quais a hanseníase se enquadra (NAÇÕES UNIDAS, 2015).

O Brasil, que faz parte das Nações Unidas, e por isso busca alcançar as metas da agenda 2030, e ainda com o intuito de eliminar a hanseníase, alicerçado na estratégia global para a hanseníase 2016-2020, elaborou por meio do MS, a estratégia nacional 2019-2022, que tem o objetivo de contribuir para a redução da carga da doença no país, e sustenta suas orientações em três pilares a saber, fortalecer a gestão do programa; enfrentamento da hanseníase e suas complicações; e combater a discriminação e promover a inclusão. As estratégias para o enfrentamento da doença no país foram elaboradas de maneira diferenciada para locais com endemicidade distintas (BRASIL, 2019a).

Além destes documentos que englobam a hanseníase a nível mundial e nacional, e buscando seguir a proposta da Estratégia Nacional de Enfrentamento do Ministério da Saúde, o Estado de Minas Gerais elaborou o PEEH, que definiu municípios estratégicos para o controle da doença no Estado estratificando estes municípios em cenários epidemiológico-operacionais, para a partir disso reestruturar a Rede de Atenção à Pessoa com Hanseníase (RAPH), com base nas necessidades de cada município e regional de saúde, buscando alcançar, assim, a visão “Minas Gerais sem Hanseníase” até o ano 2022 (MINAS GERAIS, 2019).

Apesar das especificidades de cada um destes documentos, e de cada cenário ao qual eles se aplicam, a redução da carga da hanseníase é um objetivo em comum. E para alcançar este objetivo, uma ação necessária e proposta pelo MS é a vigilância epidemiológica. A vigilância epidemiológica consiste em avaliar dados de casos de hanseníase e seus contatos, sejam eles domiciliares ou sociais. Seu desenvolvimento inclui a coleta, processamento, análise e interpretação de dados (BRASIL, 2016; BRASIL, 2019b). É realizada com o intuito de elaborar recomendações, propor ações, e analisar a efetividade das intervenções já realizadas, buscando a redução da cadeia de transmissão (DAXBACHER; FERREIRA, 2014).

O diagnóstico oportuno de casos é realizado essencialmente a partir da investigação epidemiológica, que consiste em atendimento de demanda espontânea, busca ativa de casos novos, e vigilância de contatos. A vigilância de contatos tem a finalidade de descobrir casos novos, entre aqueles que residam ou tenham residido, e convivam ou tenham convivido com o caso novo de hanseníase diagnosticado, além de investigar sua possível fonte de infecção, podendo ser domiciliar ou social (BRASIL, 2016; BRASIL, 2019b).

É considerado contato de hanseníase toda pessoa que resida ou tenha residido, conviva ou tenha convivido com o caso de hanseníase sem tratamento, nos cinco anos que antecedem o diagnóstico, podendo estes serem familiares ou não, incluindo entre outros, os vizinhos. Devido ao fato de a hanseníase ser transmitida através de contato prolongado e possuir longo período de incubação é importante que seja realizada a vigilância dos contatos, sejam eles domiciliares ou sociais, anualmente, por um período de cinco anos (BRASIL, 2016; BRASIL, 2019b).

A APS é o local prioritário para as ações de prevenção, controle e vigilância dos contatos de hanseníase. Esta vigilância é responsabilidade compartilhada entre todos os membros da equipe, e consiste de atividades como busca ativa dos contatos, orientações a respeito de sinais e sintomas e da necessidade de retorno à unidade, agendamento de retorno anual programado. Estas funções cabem aos agentes comunitários de saúde, assistente social, farmacêutico, odontólogo, técnico/auxiliar de enfermagem, enfermeiro, médico, e todos os demais profissionais que estejam incorporados a atenção primária (MINAS GERAIS, 2019).

A investigação epidemiológica destes contatos consiste em anamnese direcionada a sinais e sintomas de hanseníase, na realização do exame dermatoneurológico, e vacinação com *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) caso seja necessário. A vacina BCG deve ser administrada em todos os contatos que não possuam sinais e sintomas da doença no momento da avaliação, de acordo com a situação vacinal do indivíduo, conforme descrito no quadro 3 (BRASIL, 2016; BRASIL, 2019b).

Quadro 3 – Esquema de vacinação com BCG de acordo com o histórico vacinal

CICATRIZ VACINAL	CONDUTA
Ausência cicatriz BCG	Uma dose
Uma cicatriz de BCG	Uma dose
Dois cicatrizes de BCG	Não prescrever

Fonte: BRASIL, 2016, p. 9.

Apesar de não ser específica contra o *M. leprae*, a vacina BCG estimula resposta imune celular, auxiliando na resistência à infecção. Desta maneira é utilizada como imunoprofilaxia da hanseníase. Sabe-se que quanto menor o número de doses da vacina, maior a chance de adoecimento (ARAÚJO *et al.*, 2013), sendo assim deve-se vacinar todos os contatos saudáveis que não possuam nenhuma

cicatriz ou que possua apenas uma, visto que indivíduos com duas cicatrizes da vacina apresentam um efeito protetor adicional se comparados aos demais (GOMES *et al.*, 2019). Sabe-se ainda que a vacinação pode fornecer uma proteção de até 80% contra a doença (DAXBACHER; FERREIRA, 2014).

Além da imunoprofilaxia, outra forma de prevenção discutida atualmente é a quimioprofilaxia, sendo estes dois tipos de profilaxia de maneira isolada ou em conjunto, amplamente denominada profilaxia pós-exposição (PEP) (BRASIL, 2015). Estudo realizado sobre quimioprofilaxia com esquema de duas doses de rifampicina, ofloxacina e minociclina, com intervalo de 28 dias entre elas, observou que nenhum dos contatos que utilizaram deste tratamento profilático adoeceram num período de cinco anos (NICCHIO *et al.*, 2016). Outro estudo observou que a profilaxia para contatos com dose única de rifampicina produz efeito protetor de 60%, podendo aumentar para 80% essa proteção quando associado à vacinação com BCG (RICHARDUS; OSKAM, 2015).

Além disso, uma revisão sistemática a respeito da quimioprofilaxia com rifampicina em contatos, identificou que a dose única da medicação se mostrou eficaz na proteção dos contatos, e apontou ainda que houve aceitabilidade social para esta estratégia de prevenção (FERREIRA *et al.*, 2017).

No ano de 2015, a partir de um projeto piloto denominado Profilaxia Pós-Exposição aos contatos de doentes de hanseníase (PEP-Hans), a rifampicina em dose única foi incorporada ao SUS para a quimioprofilaxia de contatos de doentes de hanseníase. O uso deste fármaco foi liberado para realização de um estudo realizado nos estados de Mato Grosso, Pernambuco e Tocantins, que aconteceu entre os anos 2016 e 2018 e que teve como finalidade verificar a eficácia da PEP com rifampicina nestes contatos (BRASIL, 2015).

Entretanto, a Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (CONITEC), tendo sido o órgão que incorporou a quimioprofilaxia em 2015, recomendou em fevereiro de 2020, a exclusão no SUS da rifampicina em dose única para quimioprofilaxia de contatos de hanseníase, uma vez que o estudo piloto foi concluído e apontou serem necessários mais estudos sobre este assunto para que a medida seja adotada de maneira ampla no Brasil (BRASIL, 2020).

Para o controle da cadeia de transmissão da hanseníase, é essencial que os contatos infectados com o *M. leprae* e que possuem um risco maior de adoecimento sejam identificados precocemente (BRASIL, 2016). Tanto as diretrizes nacionais

quanto a estratégia global da OMS 2016-2020 apontam a proporção de contatos examinados como um dos indicadores para avaliar a qualidade dos serviços e o desempenho do programa respectivamente (BRASIL, 2016; WHO, 2016).

A vigilância em saúde, que inclui a vigilância e controle de doenças transmissíveis; engloba ações de promoção, prevenção e controle de diversas doenças e agravos à saúde, dentre as quais a hanseníase está inserida. As ações de vigilância têm a finalidade de orientar tecnicamente a decisão das ações de controle das doenças. E para que estas orientações sejam eficazes, é necessário um acompanhamento contínuo de modo a conhecer a doença ou agravo em questão, a partir da coleta e processamento de dados, análise e interpretação, investigação epidemiológica de casos e surtos; promoção das medidas de controle, entre outros (BRASIL, 2008a).

No âmbito da hanseníase, a rede de assistência à saúde é estruturada a partir da atenção primária à saúde, e envolve também serviços de média e alta complexidade. Estes, são os serviços de referência municipal e os centros de referência municipal, regional e estadual, que contam com profissionais especializados para atendimento por exemplo de casos de hanseníase neural primária, realização de exames como baciloscopia e biópsia, reação hansênica, falência terapêutica, casos de deformidade física e incapacidades, entre outros. Estes serviços, em conjunto, são responsáveis para que a hanseníase possa ser controlada, eliminada e nos casos ainda existentes da doença, o indivíduo possa receber o tratamento mais adequado possível de maneira a evitar todo e qualquer tipo de sofrimento (MINAS GERAIS, 2019).

Além das atividades atualmente implementadas no sistema de saúde responsáveis pelo tratamento da hanseníase, e sua vigilância e controle, o ministério da saúde vem apoiando o desenvolvimento, ciência e tecnologia. Em agosto de 2019, lançou como chamada pública, um edital que busca projetos e estudos que possam aprimorar as atividades de vigilância, controle, erradicação e prevenção de doenças transmissíveis e negligenciadas. No âmbito da hanseníase, entre outros interesses, está o desenvolvimento de teste sorológico para diagnóstico precoce da hanseníase, que seja comercial, de fácil manipulação e com possibilidade de incorporação ao SUS (BRASIL, 2019c).

3.3 SOROLOGIA ANTI-PGL-1, ANTI-LID-1 E ANTI-NDO-LID

A parede celular do *M. leprae* apresenta grande concentração de lipídeos, entre eles o PGL-1, que confere ao bacilo especificidade imunobiológica (AVELLEIRA *et al.*, 2015; DIÓRIO, 2014). Este glicolípido fenólico é específico do *M. leprae* e estimula a produção de anticorpos da classe Imunoglobulina M (IgM), ativando uma imunidade humoral não protetora (STEFANI, 2008; SOUZA, 2014).

Após descoberta da estrutura do PGL-1, foram produzidas moléculas sintéticas do mesmo, uma delas é a natural disaccharide octyl (NDO). Essa molécula mimetiza o PGL-1 nativo, induzindo a produção de anticorpos de maneira semelhante à forma nativa quando conjugada com albumina humana (HSA) ou bovina (BSA), constituindo NDO-HSA ou Natural disaccharide linked to bovine serum albumin via octyl (NDO-BSA), respectivamente (SPENCER; BRENNAN, 2011).

Existem várias proteínas constituintes do *M. leprae* que também apresentam propriedades imunogênicas, e induzem a produção de anticorpos. A partir da fusão de duas destas proteínas, a ML2331 e a ML0405, o LID-1 foi desenvolvido. Esse conjugado proteico induz a produção de anticorpos da classe Imunoglobulina G (IgG) (AMORIM *et al.*, 2016; DUTHIE *et al.*, 2007).

Após a realização de testes com os dois antígenos anteriormente descritos, e a descoberta do potencial de utilização dos mesmos na sorologia da hanseníase, foi desenvolvido um outro conjugado antigênico a partir da fusão do NDO (PGL-1 sintético) com o LID-1, formando o NDO-LID, que se mostrou capaz de detectar anticorpos tanto da classe IgM quanto IgG, em ambas as formas da hanseníase (DUTHIE *et al.*, 2014).

Testes sorológicos baseados na produção de anticorpos frente a estes antígenos, estão sendo utilizados com o intuito de identificar indivíduos infectados com o *M. leprae* (CARVALHO *et al.*, 2017; FABRI *et al.*, 2015; VIDAL *et al.*, 2018) e com alto risco de adoecimento, inclusive nas formas mais graves (FRADE *et al.*, 2017) e de auxiliar no diagnóstico precoce da hanseníase, no monitoramento da terapia medicamentosa (AMORIM *et al.*, 2016; FABRI *et al.*, 2016), além de auxiliar na classificação da doença (AMORIM *et al.*, 2016; FABRI *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2017).

Os níveis de anticorpos produzidos frente ao antígeno PGL-1 são mais elevados nos pacientes MB e se relacionam diretamente com o índice baciloscópico

(CHEN *et al.*, 2018; ESPINOSA *et al.*, 2018; FABRI *et al.*, 2015; FRADE *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2017). Sabe-se ainda que contatos de casos de hanseníase MB são mais soropositivos ao PGL-1 do que contatos de PB (CARVALHO *et al.*, 2015). Além disso, os que são soropositivos tem maior tendência de desenvolver hanseníase na forma MB (MOURA *et al.*, 2008).

Apesar de não possuírem capacidade diagnóstica, os testes anti-PGL-1 nativo e anti-NDO-HSA, se analisados em conjunto a sinais clínicos, podem ser utilizados como auxiliares na classificação da forma clínica da doença (FABRI *et al.*, 2015; FABRI *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2017), monitoramento da eficácia da PQT, além de identificar pessoas expostas ao bacilo e que conseqüentemente tem maior risco de adoecer (FABRI *et al.*, 2016; FRADE *et al.*, 2017).

O anti-LID-1 possui alta sensibilidade para *M. leprae*, e alguns estudos evidenciaram que este teste poderia identificar a hanseníase (DUTHIE *et al.*, 2007; QIONG-HUA *et al.*, 2013) entre seis a oito meses antes do aparecimento dos primeiros sinais e sintomas (DUTHIE *et al.*, 2007). Os CD que apresentam altos títulos de IgG frente a LID-1, apresentam maior risco de desenvolver hanseníase (AMORIM *et al.*, 2016).

Desta maneira, denota-se que o anti-LID-1 pode auxiliar no rastreamento de indivíduos infectados, contribuindo para o diagnóstico e início oportuno do tratamento, o que favorece a quebra da cadeia de transmissão (AMORIM *et al.*, 2016). Pode ser utilizado ainda para auxiliar o diagnóstico e a classificação operacional da hanseníase, principalmente na forma MB, e contribui para a identificação de grupos com maior risco de adoecer e que necessitam de maior vigilância (FABRI *et al.*, 2016).

O NDO-LID pode ser considerado um importante antígeno para vigilância de CD (FABRI *et al.*, 2015), pois possui maior sensibilidade que o PGL-1 (LETURIONDO *et al.*, 2019) e maior especificidade quando comparado a PGL-1 e LID-1 de maneira isolada (DUTHIE *et al.*, 2014). Sugere-se então que o teste anti-NDO-LID possa ser utilizado para a detecção de infecção subclínica, contribuindo assim com as ações de vigilância de contatos, viabilizando o diagnóstico oportuno e auxiliando na classificação da forma clínica (FABRI *et al.*, 2015).

Vale ressaltar que testes sorológicos que utilizam os antígenos NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID, têm sido realizados especialmente em pesquisas. Não são ainda recomendados como testes diagnósticos da hanseníase. Apesar disso estudos

apontam sua contribuição no diagnóstico oportuno (AMORIM *et al.*, 2016) e no auxílio da vigilância dos contatos e/ou população de risco (CARVALHO *et al.*, 2017; FABRI *et al.*, 2016; VIDAL *et al.*, 2018).

3.4 EXPRESSÃO DAS QUIMIOCINAS CCL2 E CXCL10

As quimiocinas são citocinas de baixo peso molecular com capacidade quimioatraente. Elas têm a função de mensageiros intercelulares transmitindo sinais regulatórios de célula para célula, além disso exercem ação quimiotática, potencializando assim o recrutamento de células T e de macrófagos para atuar na inflamação (OLIVEIRA *et al.*, 2007; ROITT; DELVES, 2004).

São proteínas secretadas, induzidas geralmente por citocinas pró-inflamatórias como interleucina 1 (IL1), *tumor necrosis fator-alfa* (TNF- α) e interferon-gama (IFN- γ), além de artefatos microbianos. Podem atuar como pró-inflamatórias, tendo sua liberação a partir da resposta imune frente a alguma infecção; ou como homeostáticas, atuando no controle e migração celular no desenvolvimento de tecidos. A quimiocina CCL2 é classificada como inflamatória, enquanto CXCL10 têm dupla função sendo considerada inflamatória e homeostática (PALOMINO; MARTI, 2015; ROITT; DELVES, 2004).

A quimiocina CCL2 também denominada Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) é regulada pela interleucina 10 (IL10) (IKEDA *et al.*, 2002). Essas citocinas são supressoras da atividade macrófagica, produzidas por linfócitos T do perfil Th2. Respostas do tipo Th2, assim como Th1 são componentes da imunidade específica. Quando há predomínio da resposta Th2 na imunidade específica, ocorre desenvolvimento da imunidade humoral sobre a resposta celular (FOSS, 1997), o que propicia o desenvolvimento das formas mais graves da hanseníase. Pacientes com hanseníase lepromatosa possuem níveis séricos altos de IL-2R, IL-10, e IL-1 β ; estes são imunossupressores para pessoas acometidas pela hanseníase e apresentam correlação positiva com a carga bacteriana (MOUBASHER *et al.*, 1998).

Sabe-se que o CCL2 é o quimioatraente e ativador mais potente para monócitos, atraindo linfócitos CD4; também desempenha importante papel na resposta granulomatosa (MEDEIROS *et al.*, 2015). Estudo encontrou aumento dos níveis séricos de CCL2 nos pacientes virchowianos (LEW *et al.*, 2002), também já foi mencionado na literatura que níveis séricos elevados de CCL2 pode levar ao

adoecimento de hanseníase (HASAN *et al.*, 2006). Além disso, um outro estudo apontou que CCL2 apresenta potencial de distinguir respostas imunes presentes em casos de hanseníase, daquelas induzidas apenas pela exposição ao *M. leprae* (GELUK *et al.*, 2012).

A CXCL10, é também denominada interferon γ -induced protein-10 (IP-10), é uma proteína induzida por IFN- γ , que é um dos responsáveis pela manutenção da resposta imune celular. Desta maneira a CXCL10 está ligada ao perfil Th1 da imunidade específica (FOSS, 1997). Os pacientes com hanseníase tuberculóide possuem níveis mais altos de IFN- γ , que é imunoprotetor para pacientes com hanseníase e apresenta correlação negativa com a carga bacteriana (MOUBASHER *et al.*, 1998). Uma resposta celular eficaz, faz com que o indivíduo seja resistente à hanseníase ou desenvolva as formas mais brandas da doença (SOUZA, 2014).

A CXCL10 foi também foi identificada como um potencial marcador de reação hanseníase tipo I (STEFANI *et al.*, 2009). Além disso, estudo realizado com amostras de sangue total estimuladas por proteínas imunogênicas para *M. leprae* relatou que a dosagem de CXCL10 permite avaliar as taxas de infecção por *M. leprae*, porém não são úteis para discriminar os casos de hanseníase de seus contatos (HUNGRIA *et al.*, 2017).

Outro estudo, propõe o uso de um teste que faz a detecção combinada de anticorpos IgM anti-PGL-I, CXCL10, CCL4 e proteína C-reativa. Este estudo demonstrou que este teste tem potencial para diagnóstico de hanseníase PB, além de ser promissor para detecção de infecção pelo *M. leprae*, podendo ser utilizado para triagem em larga escala para identificar contatos domiciliares infectados, uma vez que ele é compatível para ser desenvolvido como teste rápido (VAN HOOIJ *et al.*, 2018).

Apesar do desenvolvimento de vários experimentos ao longo dos anos a respeito do papel das quimiocinas, inclusive CCL2 e CXCL10, na patogênese da hanseníase e sobre a aplicabilidade das mesmas em seu diagnóstico, ainda existe na literatura, limitação em estudos realizados em soro, sem estimulação e principalmente voltado à vigilância de contatos de hanseníase, configurando uma lacuna no conhecimento.

4 MÉTODOS

Neste tópico será apresentado o percurso metodológico realizado para o desenvolvimento deste trabalho.

4.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo transversal do tipo analítico.

Transversal por se apresentar como uma fotografia da população estudada, observando nos integrantes, se naquele determinado momento existia a presença ou ausência da exposição, no caso deste estudo a reatividade aos testes laboratoriais; e a presença ou ausência da doença, que neste caso foi avaliado por meio de sinais clínicos e epidemiológicos. E caracteriza-se como analítico, uma vez que este modelo utilizou de ferramentas bioestatísticas para verificar a hipótese em questão (HADDAD, 2004).

4.2 CENÁRIO DE ESTUDO

O estudo foi realizado no município de Juiz de Fora, situado na Zona da Mata Mineira. No último censo, em 2010, apresentou população de 516.247 habitantes, 1.435.749 Km² de área territorial, e densidade demográfica de 359,59 hab/Km² (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2010); tendo apresentado crescimento populacional superior a 10% nos últimos anos com estimativa de 568.873 pessoas no ano de 2019 (IBGE, 2020).

Juiz de fora pertence à SRS-JF, que é composta por outros 37 municípios. Entre os anos de 2011 a 2015, foi o município que apresentou maior número de casos novos de hanseníase na SRS-JF, contribuindo com 68,42% do total de casos registrados no SINAN (FONTES, 2016). Estes dados demonstram a importância epidemiológica e justifica a escolha como local do estudo.

A atenção à saúde em hanseníase no município de Juiz de Fora está organizada em dois pontos da rede de atenção à saúde, sendo as Unidades Básicas de Saúde (UBS) responsáveis pela APS, além de serviços relacionados à média complexidade.

De acordo com o plano diretor da APS, as UBS são responsáveis por realizar o exame dermatológico e neurológico, pelo enfermeiro, em todos os sintomáticos dermatológicos para identificação de suspeitos, além da consulta médica em todos os suspeitos para confirmação do diagnóstico. As UBS devem também realizar o acompanhamento de todos os casos diagnosticados, intercalando as consultas entre médico e enfermeiro; e o técnico de enfermagem deve realizar a dose medicamentosa supervisionada mensal. Em casos de surtos reacionais, as UBS também devem atender a estes usuários, por meio de consultas médicas mensais. A vigilância de todos os contatos de casos de hanseníase é competência do enfermeiro (JUIZ DE FORA, 2016).

Na média complexidade, existe o serviço de referência do município vinculado à prefeitura, onde é preconizada a realização de atendimentos a pessoas encaminhadas pela UBS e também a pessoas que residem em áreas geográficas sem unidade referenciada. De acordo com informações que constam no site da prefeitura, o setor é responsável pela realização de exames laboratoriais e dermatológicos para confirmação do diagnóstico e, após isso, é administrado tratamento adequado (JUIZ DE FORA, 2020).

Também na média complexidade, o município conta com o Centro de Reabilitação de Hanseníase da Zona da Mata mineira, localizado no Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora. Este serviço possui uma equipe multiprofissional, envolvendo profissionais de enfermagem, médicos, serviço social, psicologia, fisioterapia e terapia ocupacional. As atividades preconizadas são de atendimento a pacientes em fase reacional da doença, além de controle da mesma e atividades educativas para usuários e familiares (JUIZ DE FORA, 2015); entretanto este serviço também tem sido responsável pelo diagnóstico de grande parte dos casos de hanseníase identificados no município.

4.3 PARTICIPANTES DO ESTUDO

Os participantes do estudo foram casos, contatos domiciliares e sociais de casos de hanseníase residentes no município de Juiz de Fora, Minas Gerais.

Foram abordados os casos de hanseníase diagnosticados e notificados no SINAN no período de 2011 a 2015, além daqueles que ainda não constavam na base de dados do SINAN, e que foram diagnosticados nos dois serviços de saúde

de referência do município, no período de 2015 até a finalização da coleta de dados. A base de dados do SINAN foi disponibilizada pela Coordenadoria Estadual de Dermatologia Sanitária da Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais (CEDS/SES/MG) (ANEXO A).

Durante o período elencado, foram notificados no SINAN 39 casos novos. Além disso identificou-se 18 casos novos diagnosticados nos dois serviços de referência em hanseníase do município e que ainda não constavam na base de dados do SINAN, totalizando 57 casos de hanseníase. Destes, 20 não foram localizados a partir das informações que constavam no SINAN e/ou serviços de referência, e 3 casos foram excluídos do estudo por estarem em viagem, hospitalizados e devido ao falecimento. Foram localizados 34 casos, dentre eles, 10 não aceitaram participar de nenhuma etapa do estudo e 3 aceitaram participar da avaliação por meio do questionário clínico e sociodemográfico, porém não aceitaram a coleta de amostra de sangue. Desta maneira a população de casos deste estudo constituiu-se de 21 casos, pois considera-se que os dados relacionados aos casos são importantes parâmetros para interpretação dos resultados referente aos seus contatos domiciliares e sociais. Foram consideradas a classificação operacional, a idade, a situação vacinal de BCG, e o resultado dos testes laboratoriais, utilizados como base para comparações com os resultados de CD e CS.

Dos 24 casos que aceitaram participar de ao menos uma das fases do estudo, 7 residiam sozinhos e 17 possuíam contatos domiciliares e permitiram que eles fossem abordados. Identificou-se 54 contatos domiciliares. Destes, 2 foram excluídos do estudo, um por possuir idade inferior a sete anos e o outro por já ter sido caso de hanseníase; 5 não foram abordados pois não se encontravam no domicílio no momento das visitas (foram realizadas três tentativas); e 12 pessoas se recusaram a participar do estudo. 35 CD aceitaram participar e estavam dentro dos critérios de inclusão constituindo a população de CD neste estudo.

Com relação aos contatos sociais, foram abordados aqueles referentes a 4 casos de hanseníase diagnosticados entre 2015 e 2016, elencados por conveniência, de maneira que 50% dos casos índice em questão tinham classificação MB e 50% classificação PB. Foram elencados para abordagem de contato social os vizinhos, de acordo com o endereço cadastrado na época do início do tratamento do caso índice, pois dentre os indivíduos considerados contato social pelo MS, e na impossibilidade de recursos e tempo hábil para abordar todos os

contatos sociais destes casos, os vizinhos foram considerados o grupo com maior possibilidade de serem os mesmos do convívio na época do diagnóstico e antes do início do tratamento.

Para abordagem destes vizinhos, definiu-se raios de 25, 50, 75 e de 100 metros de distância, com relação a moradia do caso índice. A definição destes raios se deu a partir de técnicas de geolocalização do endereço do caso índice, realizadas por meio dos aplicativos freemaptools, Google Earth Pro e do Google Mapas (APÊNDICE A). A definição desta distância teve como base o estudo de Bakker (2004), que relata um aumento de sorologia positiva em contatos que viviam a uma distância menor ou igual a 75 metros do caso. Optou-se por ampliar essa distância para 100 metros buscando abranger mais contatos e verificar se essa característica se mantém em um raio maior.

Foram abordadas 153 pessoas. Destas, 7 aceitaram participar da avaliação clínica, porém não aceitaram a realização da coleta de sangue, o que impediu a realização da análise como um todo, e o registro de uma pessoa apresentou inconsistência no banco de dados, com perda de informações da avaliação clínica importantes para as análises, sendo excluída do estudo. Sendo assim, a amostra de CS foi composta por 145 pessoas.

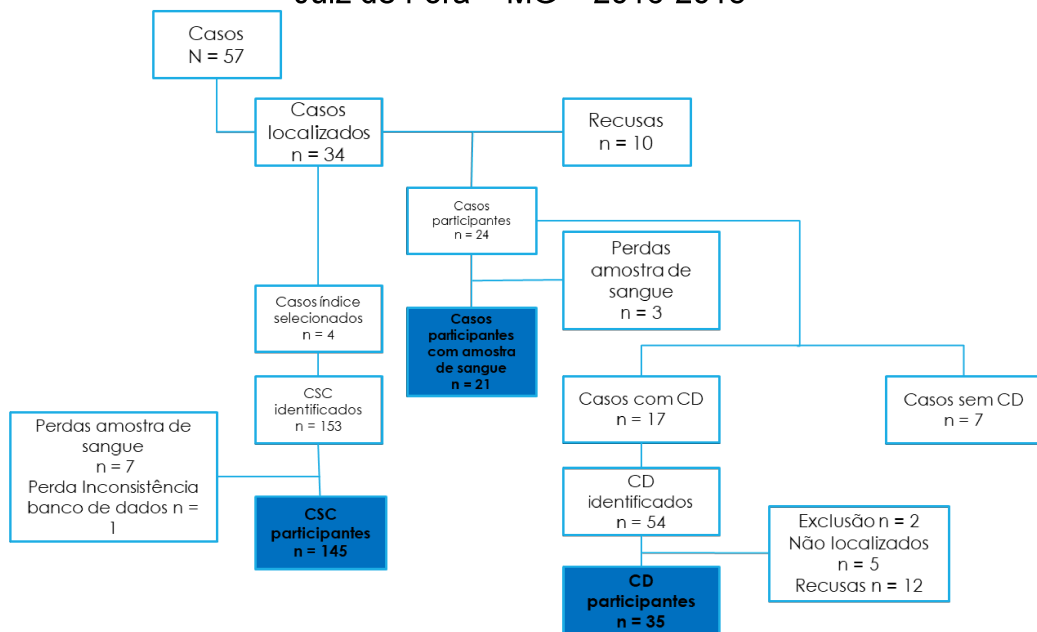
Considerou-se contato, toda pessoa que resida ou tenha residido, conviva ou tenha convivido com o caso de hanseníase nos cinco anos anteriores ao diagnóstico, podendo ser familiar ou não. Incluindo familiares, vizinhos, colegas de trabalho, de escola, entre outros (BRASIL, 2019b).

Os critérios de inclusão adotados foram residir na zona urbana do município de Juiz de Fora, devido à dificuldade de acesso à zona rural; e ser contato domiciliar e/ou social de um caso de hanseníase. E como critérios de exclusão considerou-se ser ou ter sido caso de hanseníase anteriormente, pois desta maneira o indivíduo torna-se considerado caso e não mais contato. Além disso para os CD, foram adotados também como critérios de exclusão, não residir mais no mesmo domicílio que o caso índice, por conta da dificuldade de acesso a um outro endereço e também a necessidade de abordagem do CD sem a presença do caso índice nesta situação de residir em outra casa; e apresentar idade inferior a sete anos, devido a maior dificuldade de entendimento e concentração para a realização do exame dermatoneurológico e a menor ocorrência da doença em indivíduos nessa faixa etária. No grupo de contatos sociais, porém, este critério de exclusão não foi

utilizado, pois no intervalo de tempo da coleta de dados entre o grupo de CD e o de CS surgiu no município um caso índice em menor de 15 anos. Desta maneira, apesar da maior dificuldade de abordagem com crianças, considerou-se importante a participação das mesmas.

Na figura 1, está apresentado um fluxograma da composição dos participantes deste estudo.

Figura 1 – Fluxograma da composição dos participantes do estudo – Juiz de Fora – MG – 2016-2018



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

4.4 VARIÁVEIS DO ESTUDO

Buscando atingir os objetivos do estudo, foram eleitas as seguintes variáveis.

4.4.1 Variável dependente

Foram definidas como variáveis dependentes a soropositividade anti-NDO-HSA, anti-LID-1 e anti-NDO-LID e a concentração sérica de CXCL10 e CCL2.

4.4.2 Variáveis independentes

a) Relacionadas às características sociodemográficas e de convivência com o caso índice

- Sexo (Masculino, Feminino);
- Idade (≤ 14 , 15-29, 30-44, 45-59, ≥ 60 anos)³;
- Estado civil (Solteiro, Casado, União Estável, Separado/Divorciado, viúvo);
- Relação conjugal com o caso (Sim, Não);
- Nível de escolaridade (Sem instrução, Fundamental, Médio, Superior);
- Renda mensal individual (Não possui renda, até 1, mais de 1 até 2, >2 salários mínimos)⁴.

a.1) Direcionadas apenas aos contatos domiciliares

- Número de residentes (≤ 2 , 3-4, 5-13, ≥ 14);
- Número de cômodos (≤ 5 , 6-8, 9-16, ≥ 17);
- Número de cômodos por residente (< 1 , ≥ 1);
- Número de dormitórios (≤ 1 , 2-3, 4-5, ≥ 6);
- Compartilha quarto com o caso índice (Sim, Não);
- Tempo que reside com o caso índice (< 5 , ≥ 5 anos);
- Residia com o caso na época do diagnóstico (Sim, Não);
- Grau de parentesco com o caso índice (Consanguíneo, Não-consanguíneo).

a.2) Direcionadas apenas aos contatos sociais

- Tempo que reside na vizinhança (< 5 , ≥ 5 anos, não soube informar);
- Hora de convívio diário na vizinhança (≤ 11 , 12-15, 16-19, ≥ 20);
- Raio de distância da moradia do caso índice (≤ 25 , 26 a 50, 51 a 75, 76 a 100 metros);
- Caso de hanseníase na família (Sim, Não)

b) Relacionadas às características clínicas dos contatos e do caso índice

- Classificação operacional do caso índice (PB, MB);

³ Faixas etárias definidas com base na literatura. BAKKER, M. I.; HATTA, M.,.; KWENANG, A.; FABER, W. R.; VAN BEERS, S. M.; KLATSER, P. R.; OSKAM L. Population survey to determine risk factors for *Mycobacterium leprae* transmission and infection. **International Journal of Epidemiology**, Oxford, v. 33, p. 1329-1336, dez. 2004.

⁴ Valores calculados com base no valor do salário mínimo vigente no período da coleta dos dados, relativo à R\$880,00 para os contatos domiciliares, e R\$954,00 para os contatos sociais.

- Contato de caso soropositivo (Sim, Não)⁵;
- Presença de cicatriz vacinal de BCG (0, 1, 2);
- Sinal sugestivo de hanseníase (Sim, Não)⁶.

4.5 COLETA DE DADOS

Para a coleta de dados foram realizadas visitas domiciliares no período de agosto/2016 a fevereiro/2017 referente aos casos e contatos domiciliares, e no período de junho/2017 a outubro/2018 referente aos contatos sociais.

As visitas foram realizadas por uma aluna do programa de pós-graduação mestrado em enfermagem; além de cinco alunos da graduação, bolsistas de projetos de treinamento profissional, extensão e iniciação científica voltados para a hanseníase, da Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Juiz de Fora. A coleta dos dados, envolveu a aplicação do questionário sociodemográfico, realização da avaliação dermatoneurológica e coleta de amostra de sangue, além disso, aproveitou-se o momento da visita para realização da educação em saúde.

Todos os envolvidos na coleta de dados integravam o grupo de estudos coordenado pela professora orientadora desta pesquisa, o Núcleo de Estudos em Infecções e Complicações Relacionadas à Assistência à Saúde (NEICAS), e foram devidamente treinados antes de iniciar a coleta de dados. O treinamento envolveu desde maneiras de abordagem dos participantes e de realização da educação em saúde, até o treinamento teórico e prático para a coleta de sangue venoso periférico e para a avaliação dermatoneurológica.

4.5.1 Visitas domiciliares e identificação dos participantes

Inicialmente, as informações de endereço e telefone, além de informações clínicas dos casos índice, foram obtidas do banco de dados do SINAN e dos prontuários do serviço de referência do município. A partir destes dados, alguns

⁵ Foi considerado caso soropositivo aqueles que apresentaram $IE \geq 1,1$ para um ou mais dos três antígenos testados (NDO-HSA, NDO-LID, LID-1).

⁶ Considerou-se sinal sugestivo de hanseníase a presença de no mínimo um dos seguintes sinais: alterações dermatológicas com redução ou perda de sensibilidade, espessamento de nervos associado a alterações sensitivas e/ou motoras e/ou autonômicas, bem como alteração de sensibilidade de mãos e pés associada a alguns dos sinais anteriormente descritos.

casos cujo endereço faltavam informações primordiais para a localização e possuía contato telefônico foram abordados por este meio, que não se mostrou um meio eficaz de abordagem, e por este motivo todos os casos com endereço completo cadastrado foram preferencialmente abordados face a face por meio de visita em seu endereço cadastrado.

Ao primeiro contato com o caso índice, o mesmo foi informado do motivo que se tratava a visita e recebeu uma carta que explicava de maneira geral a pesquisa, assinada pela assistente social e as duas enfermeiras responsáveis pelo serviço de referência do município, com o intuito de formar um vínculo e transmitir maior confiança à pessoa sobre aquela abordagem. Após isso, o estudo foi explicado com mais detalhes, e o caso índice que aceitou participar foi questionado sobre ter convívio com outras pessoas em seu domicílio, e em caso positivo foi solicitado ao mesmo, autorização para abordagem também de seus contatos domiciliares. Após identificação dos contatos domiciliares pelo caso índice, estes também foram abordados. Todos os casos e contatos identificados participaram da educação em saúde sobre aspectos gerais da hanseníase, e em seguida foram convidados a participarem do estudo.

Com relação aos contatos sociais, a abordagem foi feita em todos os domicílios que se encontravam dentro do raio de 100 metros delimitados a partir do domicílio do caso índice. Todas as pessoas que se encontravam na residência no momento da abordagem e se disponibilizavam a ouvir, participaram da educação em saúde sobre aspectos gerais da hanseníase, e após este momento foram explicadas sobre o estudo e convidadas a participar, sem, entretanto, identificar o caso índice em questão.

Tanto nos domicílios dos casos índice, quanto dos contatos sociais, foram realizadas três tentativas de abordagem, e na ausência de morador nas três tentativas, deu-se como perda do estudo. Os contatos domiciliares que o caso identificou e porventura não estava em casa na primeira abordagem, e os contatos sociais identificados por outro participante do mesmo domicílio, também tiveram até três visitas para conseguir a abordagem, sendo estas realizadas em dias ao acaso ou com agendamento, a depender da situação solicitada por cada um destes.

Durante a visita, as pessoas que aceitaram participar do estudo, também foram informadas sobre os aspectos éticos do estudo, seus riscos e benefícios. Os casos índice foram submetidos a uma entrevista a partir de um questionário

previamente estruturado, elaborado para fins desta pesquisa (APÊNDICE B), relacionado aos dados gerais; e coleta de sangue, conforme procedimento operacional padrão (APÊNDICE C), para a realização dos testes sorológicos anti-NDO-HSA, anti-LID-1 e anti-NDO-LID e dosagem da concentração sérica de CX2L10 e CXCL10, por meio da técnica ELISA. Os CD e CS também responderam um questionário mediante entrevista (APÊNDICE B) e tiveram a amostra de sangue coletada, além de terem sido submetidos a avaliação dermatoneurológica conforme roteiro (ANEXO B).

Os participantes que apresentaram sinal sugestivo de hanseníase na avaliação dermatoneurológica foram orientados e encaminhados ao serviço de saúde de referência do município para confirmação da suspeição diagnóstica. O encaminhamento foi realizado por meio do preenchimento de impresso próprio (ANEXO C), além do formulário para avaliação neurológica simplificada (ANEXO D).

4.5.2 Realização das análises sorológicas

Os testes anti-PGL-1, anti-LID-1 e anti-NDO-LID e a dosagem da concentração sérica de CCL2 e CXCL10, foram realizadas no laboratório do Centro de Tecnologia Celular e Imunologia Aplicada do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora (IMUNOCET/UFJF), por meio do método imunoenzimático ELISA (do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*).

Este método foi desenvolvido em 1971 pelos cientistas suíços Engvall e Perlmann, e permite analisar proteínas usando anticorpos específicos. Baseia-se em reações antígeno-anticorpo que são detectados através de reações enzimáticas. A enzima mais comumente utilizada é a peroxidase. A quantificação desta interação antígeno-anticorpo é possível pois a reação entre a enzima e seu substrato fornecem uma mudança de coloração nos poços da placa onde ocorreu essa interação (AYDIN, 2015; THERMO FISHER SCIENTIFIC, 2020).

Existem várias técnicas para desenvolver o ELISA, entre elas pode-se citar o ELISA direto, indireto e sanduíche. No ELISA direto a placa é revestida diretamente com o antígeno, e então a detecção deste antígeno é realizada de maneira direta por um anticorpo marcado com enzima. No ELISA indireto, o soro é adicionado aos poços da placa revestida com antígeno, e durante a incubação é produzido um complexo antígeno-anticorpo; em seguida é adicionado um anticorpo secundário

marcado com enzima, que reconhece o anticorpo no soro. Já no ELISA sanduíche o componente a ser medido é ligado entre dois anticorpos primários, cada um detectando uma porção diferente do antígeno, são eles o anticorpo de captura e o anticorpo de detecção (AYDIN, 2015; THERMO FISHER SCIENTIFIC, 2020).

Neste estudo utilizou-se a técnica indireta para análise dos anticorpos anti-NDO-HSA, anti-LID-1 e anti-NDO-LID; e a técnica sanduíche para análise das quimiocinas CCL2 e CXCL10. Para análise sorológica anti-PGL-1 com dosagem de IgM, anti-LID-1 com dosagem de IgG e anti-NDO-LID que possibilitou dosar IgM+IgG, foi utilizado o protocolo de procedimento de FABRI, 2015 - adaptado (ANEXO E); para a dosagem das quimiocinas CCL2 e CXCL10, foram utilizados protocolos específicos para cada quimiocina (ANEXOS F e G).

4.6 TRATAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

O banco de dados foi organizado no Open Data Kit Collect (ODK Collect). Ao final da etapa de coleta, os dados foram exportados e analisados no software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 24 for Windows, no software R 3.4.2, e no GraphPad Prism versão 6, em que também foram elaborados os gráficos.

Foi realizada análise descritiva dos dados, com distribuição de frequências relativas, com valor mínimo, valor máximo, mediana e intervalo interquartil para variável quantitativa contínua. Posteriormente os dados foram categorizados e agrupados. Para o teste da normalidade dos dados foi utilizado o teste de *Kolmogorov-Smirnov* adotando o nível de significância estatística de 5%.

Para verificar a correlação entre os testes laboratoriais, foi utilizado o coeficiente de correlação de *Spearman* com um nível de significância estatística de 5% ($p < 0,05$).

Para analisar as interrelações entre todas as variáveis dos testes laboratoriais realizados, foi utilizado a Análise de Componentes Principais ou PCA (Principal Component Analysis). Consiste em uma técnica de análise multivariada que é utilizada para explicar as variáveis em termos de suas dimensões inerentes (Componentes). O objetivo foi encontrar um meio de condensar a informação contida em várias variáveis originais em um conjunto menor de variáveis estatísticas com uma perda mínima de informação. O número de componentes principais se torna o número de variáveis consideradas na análise, mas geralmente as primeiras

componentes são as mais importantes já que explicam a maior parte da variação total. As componentes principais foram extraídas via matriz de covariância.

A avaliação da concordância entre o resultado dos testes anti-NDO-HSA, anti-LID-1 e anti-NDO-LID, foi realizada através do teste *kappa*. O NDO-HSA foi utilizado como antígeno de referência, pois entre os três antígenos testados, este é o mais utilizado em hanseníase. Para interpretação dos resultados foram considerados os seguintes parâmetros: valores acima de 0,80 concordância quase perfeita; entre 0,61 e 0,80 concordância substancial; entre 0,41 e 0,60 concordância moderada, entre 0,21 e 0,40 concordância regular; e abaixo de 0,21 concordância leve (LANDIS; KOCK, 1977).

As análises da relação entre a variável dependente e as variáveis independentes foram baseadas em análises bivariadas usando o teste Exato de *Fisher*. As variáveis que apresentaram significância estatística, com $p < 0,20$ na análise bivariada e não apresentaram coeficientes de *Spearman* (ρ) maior que 0,600, no teste de colinearidade, foram inseridas no modelo de análise multivariada. Em seguida, as variáveis que não tiveram significância estatística, a partir do ajuste com a técnica de regressão logística binária, com nível de significância estatística de 5% ($p < 0,05$), foram retiradas do modelo final.

Para comparação da mediana entre múltiplos grupos foi utilizado o teste de *Kruskal-Wallis one-way* (H), e quando este apresentou significância estatística o pós-teste de Dunn foi aplicado para verificar entre quais grupos encontrava-se esta diferença. Para comparação da mediana realizada entre dois grupos foi aplicado o teste de *Mann-Whitney* (U) com correção de Bonferroni.

4.7 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo faz parte da pesquisa “Teste anti-PGL-1 sintético (NDO-HSA), LID-1 e NDO-LID na vigilância dos casos de hanseníase, dos contatos e da população”. A pesquisa foi aprovada pelo Departamento de Atenção Primária à Saúde do Município estudado (ANEXO H), além da aprovação pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Juiz de Fora sob parecer nº 3.233.583 (ANEXO I) e atende às determinações da Resolução 466/2012, do Conselho Nacional de Saúde, que estabelece diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos e confere risco mínimo aos participantes.

As pessoas que aceitaram participar do estudo assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE D) em duas vias, em que uma ficou com o participante e a outra foi arquivada pelo pesquisador responsável e ficará guardada por um período de cinco anos. No TCLE são esclarecidos os objetivos do estudo, os riscos e benefícios relacionados com a pesquisa; além de constar o telefone e o endereço do pesquisador principal e do Comitê de Ética que aprovou a pesquisa, para que caso sinta necessidade, o participante possa sanar as dúvidas sobre o projeto e sobre a sua participação a qualquer momento.

A participação foi voluntária e os indivíduos foram devidamente orientados quanto à confidencialidade das informações pessoais, ao direito de recusa, bem como desistência na participação sem o risco de qualquer ônus. Os dados pessoais não serão divulgados de forma a impossibilitar a identificação dos participantes da pesquisa. Para garantir o anonimato, os participantes foram identificados através de código alfanumérico que identifica o domicílio e o participante da pesquisa.

Todos os participantes foram orientados quanto às características, sinais e sintomas da doença e foram instruídos a procurar por um serviço de saúde caso percebam alguma alteração referente à hanseníase futuramente.

4.8 FINANCIAMENTO

Esta pesquisa foi realizada em parceria com o IMUNOCET/UFJF.

Recebeu recursos financeiros da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), por meio do Edital 01/2016, Processo CDS – APQ 00936-16.

5 RESULTADOS

Este capítulo foi dividido em seis tópicos, sendo que no primeiro estão apresentadas as características dos casos incluídas nas comparações com os contatos domiciliares e sociais. No segundo estão as características sociodemográficas e situação de moradia e convívio dos contatos domiciliares e sociais com o caso índice. No terceiro estão apresentadas as características relacionadas ao caso índice e as características clínicas. No quarto estão os resultados dos testes NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID e a associação entre estes e as características clínicas e sociodemográficas. No quinto tópico estão apresentados os resultados da dosagem das quimiocinas CCL2 e CXCL10 e as associações realizadas entre elas e as características clínicas e sociodemográficas. Por fim, no sexto tópico, está apresentada a correlação entre todos os testes laboratoriais e uma análise de associação entre eles por meio da análise do componente principal.

5.1 CARACTERÍSTICAS DOS CASOS ÍNDICE

Na tabela 1, estão apresentadas as características referentes aos casos índice incluídas neste estudo.

O grupo de casos foi composto em sua maioria por pessoas com idade superior a 45 anos (71,4%). Destes 76,2% foram classificados como MB, 57,1% possuíam duas cicatrizes da vacina BCG, e 42,9% apresentaram resultado positivo nos testes sorológicos para ao menos um antígeno.

Tabela 1 - Características dos casos índice – Juiz de Fora - MG – 2016-2017

Variável	Casos (n=21)	
	n	Percentual (%)
Idade		
15-29 anos	1	4,8
30-44 anos	5	23,8
45-59 anos	8	38,1
≥ 60 anos	7	33,3
Classificação Operacional		
PB	5	23,8
MB	16	76,2
Presença de Cicatriz de BCG		
Zero	3	14,3
Uma cicatriz	6	28,6
Duas cicatrizes	12	57,1
Caso Soropositivo¹		
Sim	9	42,9
Não	12	57,1

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Nota: ¹ Foi considerado caso soropositivo aqueles que apresentaram $IE \geq 1,1$ para um ou mais dos três antígenos testados (NDO-HSA, NDO-LID, LID-1).

5.2 CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS E DE CONVÍVIO DOS CONTATOS DOMICILIARES E SOCIAIS COM O CASO ÍNDICE

Os dados referentes às características sociodemográficas dos contatos domiciliares e sociais estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2 - Características sociodemográficas dos contatos domiciliares e sociais – Juiz de Fora - MG – 2016-2018

Variável	Contatos Domiciliares (n=35)		Contatos Sociais (n=145)	
	n	Percentual (%)	n	Percentual (%)
Sexo				
Feminino	20	57,1	94	64,8
Masculino	15	42,9	51	35,2
Idade				
≤ 14 anos	6	17,1	7	4,8
15-29 anos	10	28,6	35	24,1
30-44 anos	7	20,0	31	21,4
45-59 anos	8	22,9	34	23,4
≥ 60 anos	4	11,4	38	26,2
Estado Civil				
Solteiro	22	62,9	57	39,3
Casado	11	31,4	50	34,5
União Estável	1	2,9	8	5,5
Separado/Divorciado(a)	1	2,9	15	10,3
Viúvo(a)	0	0,0	15	10,3
Escolaridade				
Sem instrução	0	0,0	1	0,7
Ensino Fundamental	13	37,1	61	42,1
Ensino Médio	13	37,1	44	30,3
Ensino Superior	9	25,7	39	26,9
Renda				
Não Possui Renda	12	34,3	36	24,8
Até 1 Salário Mínimo	6	17,1	44	30,3
> de 1 até 2 Salários Mínimos	9	25,7	24	16,6
> 2 Salários Mínimos	8	22,9	36	24,8
Não informado	0	0,0	5	3,4

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

A população de CD foi composta em sua maioria por indivíduos do sexo feminino (57,1%); adolescentes e adultos até os 29 anos somaram 45,7%. Com relação ao estado civil, 65,8% declararam não possuir relação conjugal, e entre os que possuíam, oito declararam ser cônjuge do caso índice, o que corresponde a

22,9% destes. Com relação à escolaridade, 74,2% havia estudado no máximo até o ensino médio; e 51,4% afirmaram rendimento financeiro baixo, variando entre zero e no máximo um salário mínimo.

Na amostra de CS o sexo feminino também foi predominante, representando 64,8%; a faixa etária predominante foi de adultos; e assim como na população de contatos domiciliares, a maioria dos participantes (59,9%), declararam não possuir cônjuge. O nível de instrução foi predominantemente baixo, uma vez que 42,1% dos indivíduos haviam estudado apenas até o ensino fundamental, e 55,1% não possuía rendimento financeiro ou somava no máximo um salário mínimo.

A tabela 3 apresenta as características de moradia e convívio dos contatos domiciliares com o caso índice.

Tabela 3 - Características de moradia e convívio dos contatos domiciliares com o caso índice – Juiz de Fora - MG – 2016-2017

Variável	n (35)	Percentual (%)
Número de Residentes		
≤ 2 pessoas	4	11,4
3 a 4 pessoas	16	45,7
5 a 13 pessoas	4	11,4
≥ 14 pessoas	11	31,4
Número de Cômodos		
≤ 5 cômodos	7	20,0
6 a 8 cômodos	12	34,3
9 a 16 cômodos	5	14,3
≥ 17 cômodos	11	31,4
Número de Cômodos por Residentes		
< 1 cômodo por pessoa	4	11,4
1 cômodo ou mais por pessoa	31	88,6
Número de Dormitórios		
≤ 1 dormitório	2	5,7
2 a 3 dormitórios	19	54,3
4 a 5 dormitórios	3	8,6
≥ 6 dormitórios	11	31,4
Compartilha Quarto com o Caso		
Sim	10	28,6
Não	25	71,4
Tempo que Reside com Caso		
< 5 anos	7	20,0
≥ 5 anos	28	80,0
Residia com o Caso na Época do Diagnóstico		
Sim	32	91,4
Não	3	8,6
Grau de Parentesco		
Consanguíneo	23	65,7
Não-Consanguíneo	12	34,3

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Com relação às condições de moradia dos CD, observou-se que 42,8% deles viviam com mais de 5 pessoas em seu domicílio, 54,3% moravam em residências com no máximo oito cômodos e 60% desta população tinham menos de três dormitórios em suas casas, sendo que 28,6% dormiam no mesmo cômodo que o caso índice. É importante salientar ainda, que os indivíduos que residiam em

domicílios com mais de 14 pessoas, também conviviam em casas com maior número de cômodos e dormitórios; porém 11,4% destes contatos viviam em uma casa que proporcionalmente tem menos de um cômodo para cada morador.

Além disso, foi possível observar que 80,0% desta população tinham convívio direto com o caso índice há mais de cinco anos; 91,4% residiam com o caso na época do diagnóstico e 65,7% possuíam parentesco consanguíneo com o caso índice.

Observou-se ainda, que das 23 pessoas que possuíam parentesco consanguíneo com o caso índice, 2 compartilhavam o mesmo quarto, o que corresponde a 20% das pessoas que compartilhavam quarto com o caso índice, e caracteriza um risco aumentado de adoecimento.

Na tabela 4 estão apresentadas as características de convívio dos contatos sociais na vizinhança do caso índice e presença de caso de hanseníase na família.

Tabela 4 - Características de convívio dos contatos sociais com o caso índice– Juiz de Fora - MG – 2017-2018

Variável	n (145)	Percentual (%)
Tempo que reside na vizinhança		
< 5 anos	51	35,2
≥ 5 anos	93	64,1
Não soube informar	1	0,7
Tempo em horas de convívio diário na vizinhança		
≤ 11 horas	24	16,6
12 a 15 horas	52	35,9
16 a 19 horas	19	13,1
≥ 20 horas	50	34,5
Raio de distância da moradia do caso		
≤ 25 metros	8	5,5
26 a 50 metros	37	25,5
51 a 75 metros	45	31,0
76 a 100metros	55	37,9
Caso de hanseníase na família		
Sim	5	3,4
Não	140	96,6

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

A respeito do convívio dos CS na vizinhança dos casos índice, observou-se que 64,1% viviam naquele local há mais de cinco anos, e 47,6% passavam ao menos dezesseis horas por dia na vizinhança. Dos contatos sociais participantes, 62,0% viviam a um raio de distância menor que 75 metros da residência do caso índice. Além disso, 3,4% destes afirmaram ter caso de hanseníase na família, entretanto destas cinco pessoas, nenhuma delas é contato domiciliar de algum dos casos que foram abordados.

5.3 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS CONTATOS DOMICILIARES E SOCIAIS E DESTES RELACIONADAS AO CASO ÍNDICE

As características clínicas dos contatos domiciliares e dos contatos sociais, assim como características destes relacionadas ao caso índice estão apresentadas na tabela 5.

Tabela 5 - Características clínicas dos contatos domiciliares e sociais e relacionadas ao caso índice – Juiz de Fora - MG – 2016-2018

Variável	Contatos Domiciliares (n=35)		Contatos Sociais (n=145)	
	n	Percentual (%)	n	Percentual (%)
Classificação Operacional do Caso				
PB	6	17,1	61	42,1
MB	29	82,9	84	57,9
Caso Soropositivo¹				
Sim	5	14,3	53 ²	50,0
Não	30	85,7	53 ²	50,0
Presença de Cicatriz de BCG				
Zero	2	5,7	19	13,1
Uma cicatriz	12	34,3	96	66,2
Duas cicatrizes	21	60,0	30	20,7
Sinal Sugestivo de Hanseníase³				
Sim	7	20,0	11	7,6
Não	28	80,0	134	92,4

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Notas: ¹ Foi considerado caso soropositivo aqueles que apresentaram $IE \geq 1,1$ para um ou mais dos três antígenos testados (NDO-HSA, NDO-LID, LID-1). ² O total de informações referente a variável caso soropositivo no grupo de contatos sociais é menor que as demais variáveis (n=106), visto que não há resultados da sorologia de antígenos referente a um dos casos índice. ³ Considerou-se sinal sugestivo de hanseníase a presença de no mínimo um dos seguintes sinais: alterações dermatológicas com redução ou perda de sensibilidade, espessamento de nervos associado a alterações sensitivas e/ou motoras e/ou autonômicas, bem como alteração de sensibilidade de mãos e pés associada a alguns dos sinais anteriormente descritos.

Na população de CD 82,9% eram contatos de caso MB, e 14,3% (cinco pessoas) eram contatos de casos com resultado positivo em ao menos um dos testes (NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID), e uma delas também apresentou resultado positivo. A respeito das características clínicas, 5,7% não apresentam nenhuma cicatriz da vacina BCG e 20% apresentaram sinal sugestivo de hanseníase.

Os CS, assim como nos CD, tiveram a maior parte da amostra (57,9%) formada por contatos de caso MB. Dentre os contatos em que foi possível avaliar a positividade aos testes NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID de seu respectivo caso índice, 50% (53 pessoas) eram contatos de casos soropositivos a pelo menos um desses testes. Destas 53 pessoas, três também apresentaram resultado positivo em ao

menos um teste. Com relação às características clínicas, 13,1% não possuíam nenhuma cicatriz da vacina BCG. Ao avaliar separadamente os CS de casos diagnosticados em 2016, data que foi inserido os contatos sociais na política da vigilância de contatos no Brasil (BRASIL, 2016), 4,5% não possuíam cicatriz da vacina BCG e 68,2% possuíam apenas uma. Na avaliação dermatoneurológica, 7,6% apresentaram sinal sugestivo de hanseníase.

Ao comparar a relação entre ser contato de caso soropositivo e a classificação operacional do caso índice pode-se observar que dos cinco CD em que o caso apresentou resultados positivo, quatro deles (80,0%) eram contatos de caso multibacilar, e entre os CS, todos os contatos em que o caso índice é soropositivo eram também contatos de caso multibacilar (53 pessoas).

Com relação às características clínicas dos contatos, entre os CD que não possuíam nenhuma cicatriz de vacina BCG (duas pessoas), uma delas não apresentou sinal sugestivo de hanseníase. Entre os CS, 19 pessoas não apresentavam sinal de BCG, e destes 16 (84,2%) também não possuíam sinal sugestivo da doença.

5.4 RESULTADOS DOS TESTES NDO-HSA, LID-1 E NDO-LID E ASSOCIAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E SOCIODEMOGRÁFICAS.

Os casos de hanseníase, contatos domiciliares e sociais foram avaliados quanto à reatividade no teste ELISA empregando-se os antígenos NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID (Tabela 6).

Tabela 6 - Avaliação da soropositividade nos ELISA NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID – Juiz de Fora - MG – 2016-2018

Grupo	n	ELISA Positivo n(%)		
		NDO-HSA	LID-1	NDO-LID
Casos PB	5	1(20,0)	0(0,0)	1(20,0)
Casos MB	16	1(6,3)	7(43,8)	1(6,3)
Total	21	2(9,5)	7(33,3)	2(9,5)
CD PB ^a	6	0(0,0)	1(16,7)	0(0,0)
CD MB ^b	29	7(24,1)	1(3,4)	3(10,3)
Total	35	7(20,0)	2(5,7)	3(8,6)
CS PB ^c	61	3 (4,9)	7 (11,5)	1 (1,6)
CS MB ^d	84	3 (3,6)	6 (7,1)	1 (1,2)
Total	145	6 (4,1)	13 (9,0)	2 (1,4)

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

a - Contatos domiciliares de casos paucibacilar

b- Contatos domiciliares de casos multibacilar

c- Contatos sociais de casos paucibacilar

d- Contatos sociais de casos multibacilar

No grupo de casos índice, o ELISA que apresentou maior positividade foi o LID-1 com 33,3%, sendo todos os casos positivos classificados como MB. Já os NDO-HSA e NDO-LID, apresentaram cada um 9,5% de resultados positivos, sendo que 50% destes resultados positivos se referem a casos PB e 50% a caso MB em ambos os testes.

Entre os CD, o teste que apresentou maior número de resultados positivos foi o NDO-HSA com 20,0%, seguido do NDO-LID e do LID-1 com 8,6% e 5,7% respectivamente. Para os testes NDO-HSA e NDO-LID, os contatos soropositivos foram unicamente CD de casos MB, e LID-1 apresentou positividade para CD tanto de casos PB quanto MB.

Com relação à amostra de CS, diferente dos CD e assim como nos casos, o teste que apresentou maior número de resultados positivos foi o LID-1 com 9,0%, e com relação aos outros dois, seguiu a mesma tendência dos CD com o NDO-HSA resultando em maior positividade (4,1%) com relação ao NDO-LID (1,4%).

A tabela 7 apresenta a concordância entre os ELISA no grupo de casos, contatos domiciliares e contatos sociais.

Tabela 7 - Concordância entre os ELISA NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID nos casos, contatos domiciliares e contatos sociais – Juiz de Fora – MG – 2016-2018

		LID-1		NDO-LID		
		SIM	NÃO	SIM	NÃO	
Casos	SIM	0	2	1	1	
	NÃO	7	12	1	18	
	<i>kappa (p)</i>	-0,174 (p=0,293)		0,447 (p=0,040)		
NDO-HSA	Contatos Domiciliares	SIM	0	7	3	4
		NÃO	2	26	0	28
		<i>kappa (p)</i>	"-0,098 (p=0,466)		0,545 (p<0,001)	
Contatos Sociais	SIM	1	5	1	5	
	NÃO	12	127	1	138	
	<i>kappa (p)</i>	0,52 (p= 0,500)		0,234 (p=0,001)		

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Kappa = Teste kappa

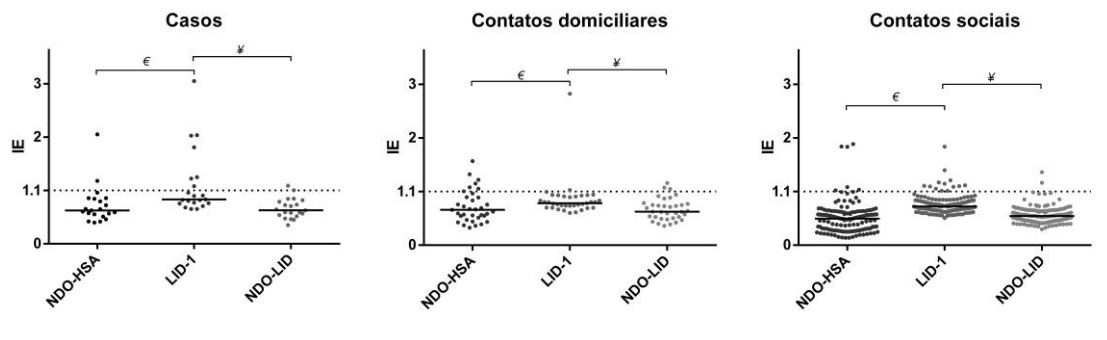
p = Valor de p

Pode-se observar no grupo de casos que entre os testes NDO-HSA e LID-1 não houve concordância ($K= -0,174$, $p=0,293$), e entre NDO-HSA e NDO-LID a concordância foi moderada e significativa ($K=0,447$, $p=0,040$). No grupo de CD também não houve concordância entre NDO-HSA e LID-1 ($K= -0,098$, $p=0,466$), e entre NDO-HSA e NDO-LID a concordância também foi moderada e significativa ($K=0,545$, $p<0,001$). Já entre os CS, houve concordância entre NDO-HSA e os demais testes, porém com relação a LID-1 apesar de ter apresentado concordância moderada, não houve significância estatística ($K=0,52$, $p=0,500$); e entre NDO-HSA e NDO-LID a concordância foi regular e apresentou significância estatística ($K=0,234$, $p=0,001$).

Na Figura 2 estão apresentados os níveis séricos de anticorpos em resposta aos testes NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID, e a comparação entre as medianas destes níveis nos grupos de Casos, CD e CS.

No grupo de casos, o resultado do teste de Kruskal-Wallis foi 15,34 ($p= 0,0005$), com diferença significativa entre NDO-HSA versus LID-1 e entre LID-1 versus NDO-LID. Entre os CD, Kruskal-Wallis = 12,18 ($p= 0,0023$), com diferença significativa entre NDO-HSA versus LID-1 e entre LID-1 versus NDO-LID. No grupo de CS, foi identificado Kruskal-Wallis = 147,8 ($p= < 0,0001$), com diferença significativa entre NDO-HSA versus LID-1 e entre LID-1 versus NDO-LID.

Figura 2 - Níveis séricos de anticorpos IgM e IgG anti-NDO-HSA, anti-LID-1 e anti-NDO-LID em soros de casos, contatos domiciliares e sociais – Juiz de Fora – MG – 2016-2018



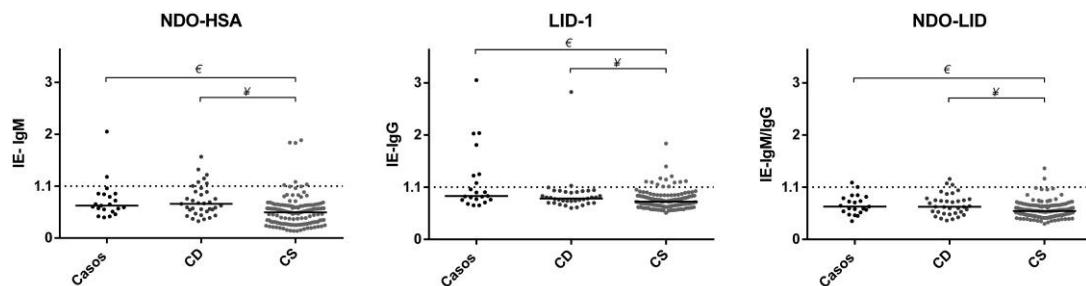
Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Nota: Cada ponto refere-se ao índice ELISA da amostra de soro de um indivíduo. A mediana do índice ELISA (IE) de cada antígeno é representada pela linha horizontal contínua. A linha horizontal tracejada representa o resultado positivo ($IE \geq 1.1$). Pós-teste de Dunn (€ = diferença significativa entre NDO-HSA e LID-1. ¥ = diferença significativa entre NDO-LID e LID-1).

Nota-se que nos três grupos houve diferença significativa nas medianas de LID-1 em comparação com os outros dois antígenos, sendo este o que apresentou a mediana mais elevada, seguido de NDO-LID e NDO-HSA no grupo de casos e CS. No grupo de CD porém, após o LID-1, o antígeno NDO-HSA se apresenta na sequência com maior mediana, seguido de NDO-LID.

A figura 3 mostra a comparação das medianas do IE entre os grupos de casos, CD e CS para NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID. Para NDO-HSA, o resultado do teste de Kruskal-Wallis foi 25,75 ($p < 0,0001$), com diferença significativa entre casos *versus* CS e entre CD *versus* CS. Para LID-1, Kruskal-Wallis = 17,87 ($p = 0,0001$), com diferença significativa casos *versus* CS e entre CD *versus* CS. Para NDO-LID, Kruskal-Wallis = 13,36 ($p = 0,0013$), com diferença significativa entre casos *versus* CS e entre CD *versus* CS.

Figura 3 - Níveis séricos de anticorpos IgM e IgG entre casos, contatos domiciliares e contatos sociais nos ELISA NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID – Juiz de Fora – MG – 2016-2018



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Nota: Cada ponto refere-se ao índice ELISA da amostra de soro de um indivíduo. A mediana do índice ELISA (IE) de cada grupo é representada pela linha horizontal contínua. A linha horizontal tracejada representa o resultado positivo ($IE \geq 1.1$). Pós-teste de Dunn (€ = diferença significativa entre casos e CS. ¥ = diferença significativa entre CD e CS).

Pode-se verificar que para os antígenos NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID, houve diferença significativa entre as medianas dos grupos de casos e CS, e entre CD e CS. Para NDO-HSA a mediana foi maior no grupo de CD, seguido dos casos e CS; já para LID-1 e NDO-LID o grupo que apresentou maior mediana foi o dos casos, seguido dos CD e CS.

Na análise bivariada entre as características clínicas e sociodemográficas dos CD e CS e os testes NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID, foram identificadas variáveis com significância estatística tanto no grupo de CD, quanto no de CS.

Entre os contatos domiciliares, a variável número de residentes, foi capaz de explicar a diferença de positividade para NDO-HSA ($p= 0,019$) e para NDO-LID ($p= 0,029$), assim como a variável número de cômodos por residentes, para NDO-HSA ($p= 0,019$) e para NDO-LID ($p= 0,029$). Para LID-1 nenhuma variável apresentou significância estatística capaz de explicar a diferença de positividade (Tabela 8).

No grupo de contatos sociais as variáveis renda ($p= 0,026$) e raio de distância da moradia do caso ($p= 0,022$), explicaram a diferença de positividade para NDO-HSA. Para os testes LID-1 e NDO-LID, porém, nenhuma variável apresentou significância estatística (Tabela 9).

Tabela 8 - Análise bivariada dos fatores associados à soropositividade anti-LID1, NDO-LID e NDO-HSA – Contatos Domiciliares - Juiz de Fora – MG – 2016-2017

Continua

Variáveis	NDO-HSA		Valor de <i>p</i>	LID-1		Valor de <i>p</i>	NDO-LID		Valor de <i>p</i>
	Sim n(%)	Não n(%)		Sim n(%)	Não n(%)		Sim n(%)	Não n(%)	
Sexo									
Feminino	5(25,0)	15(75,0)	0,672	0(0,0)	20(100,0)	0,176	2(10,0)	18(90,0)	1,000
Masculino	2(13,3)	13(86,7)		2(13,3)	13(86,7)		1(6,7)	14(93,3)	
Idade									
≤ 14 anos	2(33,3)	4(66,7)	0,183	1(16,7)	5(83,3)	0,750	1(16,7)	5(83,3)	0,486
15-29 anos	4(40,0)	6(60,0)		1(10,0)	9(90,0)		2(20,0)	8(80,0)	
30-44 anos	1(14,3)	6(85,7)		0(0,0)	7(100,0)		0(0,0)	7(100,0)	
45-59 anos	0(0,0)	8(100,0)		0(0,0)	8(100,0)		0(0,0)	8(100,0)	
≥ 60 anos	0(0,0)	4(100,0)		0(0,0)	4(100,0)		0(0,0)	4(100,0)	
Escolaridade									
Ensino Fundamental	2(15,4)	11(84,6)	0,086	1(7,7)	12(92,3)	0,719	1(7,7)	12(92,3)	0,767
Ensino Médio	5(38,5)	8(61,5)		0(0,0)	13(100,0)		2(15,4)	11(84,6)	
Ensino Superior	0(0,0)	9(100,0)		1(11,1)	8(88,9)		0(0,0)	9(100,0)	
Renda									
Não Possui Renda	3(25,0)	9(75,0)	0,941	1(8,3)	11(91,7)	0,661	3(25,0)	9(75,0)	0,177
Até 1 Salário Mínimo	1(16,7)	5(83,3)		1(16,7)	5(83,3)		0(0,0)	6(100,0)	
> de 1 até 2 Salários Mínimos	2(22,2)	7(77,8)		0(0,0)	9(100,0)		0(0,0)	9(100,0)	
> 2 Salários Mínimos	1(12,5)	7(87,5)		0(0,0)	8(100,0)		0(0,0)	8(100,0)	

Tabela 8 - Análise bivariada dos fatores associados à soropositividade anti-LID1, NDO-LID e NDO-HSA – Contatos Domiciliares - Juiz de Fora – MG – 2016-2017

Continuação

Variáveis	NDO-HSA		Valor de <i>p</i>	LID-1		Valor de <i>p</i>	NDO-LID		Valor de <i>p</i>
	Sim	Não		Sim	Não		Sim	Não	
	n(%)	n(%)		n(%)	n(%)		n(%)	n(%)	
Número de Residentes									
≤ 2 pessoas	0(0,0)	4(100,0)		0(0,0)	4(100,0)		0(0,0)	4(100,0)	
3 a 4 pessoas	1(6,3)	15(93,8)	0,019	2(12,5)	14(87,5)	0,709	0(0,0)	16(100,0)	0,029
5 a 13 pessoas	3(75,0)	1(25,0)		0(0,0)	4(100,0)		2(50,0)	2(50,0)	
≥ 14 pessoas	3(27,3)	8(72,7)		0(0,0)	11(100,0)		1(9,1)	10(90,9)	
Número de Cômodos									
≤ 5 cômodos	3(42,9)	4(57,1)		0(0,0)	7(100,0)		2(28,6)	5(71,4)	
6 a 8 cômodos	1(8,3)	11(91,7)	0,197	2(16,7)	10(83,3)	0,504	0(0,0)	12(100,0)	0,163
9 a 16 cômodos	0(0,0)	5(100,0)		0(0,0)	5(100,0)		0(0,0)	5(100,0)	
≥ 17 cômodos	3(27,3)	8(72,7)		0(0,0)	11(100,0)		1(9,1)	10(90,9)	
Número de Cômodos por Residentes									
< 1 cômodo por pessoa	3(75,0)	1(25,0)	0,019	0(0,0)	4(100,0)	1,000	2(50,0)	2(50,0)	0,029
1 cômodo ou mais por pessoa	4(12,9)	27(87,1)		2(6,5)	29(93,5)		1(3,2)	30(96,8)	
Número de Dormitórios									
≤ 1 dormitório	0(0,0)	2(100,0)		0(0,0)	2(100,0)		0(0,0)	2(100,0)	
2 a 3 dormitórios	4(21,1)	15(78,9)	1,000	2(10,5)	17(89,5)	0,653	2(10,5)	17(89,5)	1,000
4 a 5 dormitórios	0(0,0)	3(100,0)		0(0,0)	3(100,0)		0(0,0)	3(100,0)	
≥ 6 dormitórios	3(27,3)	8(72,7)		0(0,0)	11(100)		1(9,1)	10(90,9)	

Tabela 8 - Análise bivariada dos fatores associados à soropositividade anti-LID1, NDO-LID e NDO-HSA – Contatos Domiciliares – Juiz de Fora – MG – 2016-2017

Continuação

Variáveis	NDO-HSA			LID-1			NDO-LID		
	Sim n(%)	Não n(%)	Valor de <i>p</i>	Sim n(%)	Não n(%)	Valor de <i>p</i>	Sim n(%)	Não n(%)	Valor de <i>p</i>
Compartilha Quarto com o Caso									
Sim	0(0,0)	10(100,0)	0,084	0(0,0)	10(100,0)	1,000	0(0,0)	10(100,0)	0,542
Não	7(28,0)	18(72,0)		2(8,0)	23(92,0)		3(12,0)	22(88,0)	
Grau de Parentesco									
Consanguineo	7(30,4)	16(69,6)	0,070	2(8,7)	21(91,3)	0,536	3(13,0)	20(87,0)	0,536
Não-Consanguineo	0(0,0)	12(100,0)		0(0,0)	12(100,0)		0(0,0)	12(100,0)	
Relação conjugal com o caso									
Sim	0(0,0)	8(100,0)	0,166	0(0,0)	8(100,0)	1,000	0(0,0)	8(100,0)	1,000
Não	7(25,9)	20(74,1)		2(7,4)	25(92,6)		3(11,1)	24(88,9)	
Tempo que Reside com Caso									
< 5 anos	0(0,0)	7(100,0)	0,301	0(0,0)	7(100,0)	1,000	0(0,0)	7(100,0)	1,000
≥ 5 anos	7(25,0)	21(75,0)		2(7,1)	26(92,9)		3(10,7)	25(89,3)	
Residia com o Caso na Época do Diagnóstico									
Sim	7(21,9)	25(78,1)	1,000	2(6,3)	30(93,8)	1,000	3(9,4)	29(90,6)	1,000
Não	0(0,0)	3(100,0)		0(0,0)	3(100,0)		0(0,0)	3(100,0)	
Presença de Cicatriz de BCG									
Zero	0(0,0)	2(100,0)	0,801	0(0,0)	2(100,0)	1,000	0(0,0)	2(100,0)	1,000
Uma cicatriz	3(25,0)	9(75,0)		1(8,3)	11(91,7)		1(8,3)	11(91,7)	
Duas cicatrizes	4(19,0)	17(81,0)		1(4,8)	20(95,2)		2(9,5)	19(90,5)	

Tabela 8 - Análise bivariada dos fatores associados à soropositividade anti-LID1, NDO-LID e NDO-HSA – Contatos Domiciliares – Juiz de Fora – MG – 2016-2017

Variáveis	Conclusão								
	NDO-HSA			LID-1			NDO-LID		
	Sim n(%)	Não n(%)	Valor de <i>p</i>	Sim n(%)	Não n(%)	Valor de <i>p</i>	Sim n(%)	Não n(%)	Valor de <i>p</i>
Sinal Sugestivo de Hanseníase									
Sim	2(28,6)	5(71,4)	0,608	0(0,0)	7(100,0)	1,000	1(14,3)	6(85,7)	0,499
Não	5(17,9)	23(82,1)		2(7,1)	26(92,9)		2(7,1)	26(92,9)	
Classificação Operacional do Caso									
PB	0(0,0)	6(100,0)	0,311	1(16,7)	5(83,3)	0,318	0(0,0)	6(100,0)	1,000
MB	7(24,1)	22(75,9)		1(3,4)	28(96,6)		3(10,3)	26(89,7)	
Caso Soropositivo									
Sim	1(20,0)	4(80,0)	1,000	0(0,0)	5(100,0)	1,000	0(0,0)	5(100,0)	1,000
Não	6(20,0)	24(80,0)		2(6,7)	28(93,3)		3(10,0)	27(90,0)	

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Notas: ¹ Considerou-se sinal sugestivo de hanseníase a presença de no mínimo um dos seguintes sinais: alterações dermatológicas com redução ou perda de sensibilidade, espessamento de nervos, redução da força muscular, bem como alteração de sensibilidade de mãos e pés associada a alguns dos sinais anteriormente descritos. ² Foi considerado caso soropositivo aqueles que apresentaram $IE \geq 1,1$ para um ou mais dos três antígenos testados (NDO-HSA, NDO-LID, LID-1).

Tabela 9 - Análise bivariada dos fatores associados à soropositividade anti-LID1, NDO-LID e NDO-HSA – Contatos Sociais – Juiz de Fora – MG – 2017-2018

Variáveis	NDO-HSA		Valor de <i>p</i>	LID-1		Valor de <i>p</i>	NDO-LID		Valor de <i>p</i>
	Sim	Não		Sim	Não		Sim	Não	
	n(%)	n(%)		n(%)	n(%)		n(%)	n(%)	
Continua									
Sexo									
Feminino	5(5,3)	89(94,7)	0,666	9(9,6)	85(90,4)	1,000	2(2,1)	92(97,9)	0,541
Masculino	1(2,0)	50(98,0)		4(7,8)	47(92,2)		0(0,0)	51(100,0)	
Idade									
< 14 anos	0(0,0)	7(100,0)	0,929	0(0,0)	7(100,0)	0,246	0(0,0)	7(100,0)	0,524
15-29 anos	2(5,7)	33(94,3)		2(5,7)	33(94,3)		1(2,9)	34(97,1)	
30-44 anos	1(3,2)	30(96,8)		1(3,2)	30(96,8)		1(3,2)	30(96,8)	
45-59 anos	2(5,9)	32(94,1)		3(8,8)	31(91,2)		0(0,0)	34(100,0)	
≥ 60 anos	1(2,6)	37(97,4)		7(18,4)	31(81,6)		0(0,0)	38(100,0)	
Escolaridade									
Sem instrução	0(0,0)	1(100,0)	0,452	1(100,0)	0(0,0)	0,128	0(0,0)	1(100,0)	0,345
Ensino Fundamental	1(1,6)	60(98,4)		4(6,6)	57(93,4)		0(0,0)	61(100,0)	
Ensino Médio	3(6,8)	41(93,2)		4(9,1)	40(90,9)		1(2,3)	43(97,7)	
Ensino Superior	2(5,1)	37(94,9)		4(10,3)	35(89,7)		1(2,6)	38(97,4)	
Renda									
Não Possui Renda	4(11,1)	32(88,9)	0,026	5(13,9)	31(86,1)	0,128	1(2,8)	35(97,2)	0,693
Até 1 Salário Mínimo	1(2,3)	43(97,7)		1(2,3)	43(97,7)		0(0,0)	44(100,0)	
> de 1 até 2 Salários Mínimos	0(0,0)	24(100,0)		1(4,2)	23(95,8)		0(0,0)	24(100,0)	
> 2 Salários Mínimos	0(0,0)	36(100,0)		5(13,9)	31(86,1)		1(2,8)	35(97,2)	
Não informado	1(20,0)	4(80,0)		1(20,0)	4(80,0)		0(0,0)	5(100,0)	

Tabela 9 - Análise bivariada dos fatores associados à soropositividade anti-LID1, NDO-LID e NDO-HSA – Contatos Sociais – Juiz de Fora – MG – 2017-2018

Continuação

Variáveis	NDO-HSA		Valor de <i>p</i>	LID-1		Valor de <i>p</i>	NDO-LID		Valor de <i>p</i>
	Sim n(%)	Não n(%)		Sim n(%)	Não n(%)		Sim n(%)	Não n(%)	
Caso de hanseníase na família									
Sim	0(0,0)	5(100,0)	1,000	1(20,0)	4(80,0)	0,379	0(0,0)	5(100,0)	1,000
Não	6(4,3)	134(95,7)		12(8,6)	128(91,4)		2(1,4)	138(98,6)	
Tempo que reside na vizinhança									
< 5 anos	2(3,9)	49(96,1)	1,000	5(9,8)	46(90,2)	0,772	1(2,0)	50(98,0)	1,000
≥ 5 anos	4(4,3)	89(95,7)		8(8,6)	85(91,4)		1(1,1)	92(98,9)	
Não soube informar	0(0,0)	1(100,0)		0(0,0)	1(100,0)		0(0,0)	1(100,0)	
Tempo em horas de convívio diário na vizinhança									
≤ 11 horas	1(4,2)	23(95,8)	0,191	1(4,2)	23(95,8)	0,743	1(4,2)	23(95,8)	0,634
12 a 15 horas	4(7,7)	48(92,3)		4(7,7)	48(92,3)		1(1,9)	51(98,1)	
16 a 19 horas	1(5,3)	18(94,7)		2(10,5)	17(89,5)		0(0,0)	19(100,0)	
≥ 20 horas	0(0,0)	50(100,0)		6(12,0)	44(88,0)		0(0,0)	50(100,0)	
Raio de distância da moradia do caso									
≤ 25 metros	2(25,0)	6(75,0)	0,022	1(12,5)	7(87,5)	0,812	0(0,0)	8(100,0)	0,164
26 a 50 metros	2(5,4)	35(94,6)		4(10,8)	33(89,2)		2(5,4)	35(94,6)	
51 a 75 metros	0(0,0)	45(100,0)		3(6,7)	42(93,3)		0(0,0)	45(100,0)	
76 a 100 metros	2(3,6)	53(96,4)		5(9,1)	50(90,9)		0(0,0)	55(100,0)	

Tabela 9 - Análise bivariada dos fatores associados à soropositividade anti-LID1, NDO-LID e NDO-HSA – Contatos Sociais – Juiz de Fora – MG – 2017-2018

Variáveis	Conclusão								
	NDO-HSA			LID-1			NDO-LID		
	Sim n(%)	Não n(%)	Valor de <i>p</i>	Sim n(%)	Não n(%)	Valor de <i>p</i>	Sim n(%)	Não n(%)	Valor de <i>p</i>
Classificação operacional do caso									
PB	3(4,9)	58(95,1)	0,696	7(11,5)	54(88,5)	0,392	1(1,6)	60(98,4)	1,000
MB	3(3,6)	81(96,4)		6(7,1)	78(92,9)		1(1,2)	83(98,8)	
Caso Soropositivo									
Sim	0(0,0)	53(100,0)	0,147	3(5,7)	50(94,3)	0,578	0(0,0)	53(100,0)	0,337
Não	4(7,5)	49(92,5)		6(11,3)	47(88,7)		2(3,8)	51(96,2)	
Não há dados	2(5,1)	37(94,9)		4(10,3)	35(89,7)		0(0,0)	39(100,0)	
Presença de Cicatriz de BCG									
Zero	0(0,0)	19(100,0)	0,679	3(15,8)	16(84,2)	0,060	0(0,0)	19(100,0)	1,000
Uma cicatriz	4(4,2)	92(95,8)		5(5,2)	91(94,8)		2(2,1)	94(97,9)	
Duas cicatrizes	2(6,7)	28(93,3)		5(16,7)	25(83,3)		0(0,0)	30(100,0)	
Sinal Sugestivo de Hanseníase									
Sim	0(0,0)	11(100,0)	1,000	0(0,0)	11(100,0)	0,599	0(0,0)	11(100,0)	1,000
Não	6(4,5)	128(95,5)		13(9,7)	121(90,3)		2(1,5)	132(98,5)	

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Notas: ¹Foi considerado caso soropositivo aqueles que apresentaram $IE \geq 1,1$ para um ou mais dos três antígenos testados (NDO-HSA, NDO-LID, LID-1). ²Considerou-se sinal sugestivo de hanseníase a presença de no mínimo um dos seguintes sinais: alterações dermatológicas com redução ou perda de sensibilidade, espessamento de nervos, redução da força muscular, bem como alteração de sensibilidade de mãos e pés associada a alguns dos sinais anteriormente descritos.

As variáveis que apresentaram valor de $p \leq 0,20$ na análise bivariada foram consideradas com potencial de significância estatística para a análise multivariada. No grupo de contatos domiciliares, as variáveis foram: sexo ($p= 0,176$ LID-1), idade ($p= 0,183$ NDO-HSA), escolaridade ($p= 0,086$ NDO-HSA), renda ($p= 0,177$ NDO-LID), número de residentes ($p= 0,019$ NDO-HSA, $p= 0,029$ NDO-LID), número de cômodos ($p= 0,197$ NDO-HSA, $p= 0,163$ NDO-LID), número de cômodos por residentes ($p=0,019$ NDO-HSA, $p=0,029$ NDO-LID), compartilha quarto com o caso ($p= 0,084$ NDO-HSA), grau de parentesco ($p= 0,070$ NDO-HSA) e relação conjugal com o caso ($p=0,166$ NDO-HSA).

No grupo de contatos sociais, as variáveis consideradas com potencial de significância estatística foram: escolaridade ($p= 0,128$ LID-1), renda ($p= 0,026$ NDO-HSA, $p= 0,128$ LID-1), horas de convívio diário na vizinhança ($p= 0,191$ NDO-HSA), raio de distância da moradia do caso ($p= 0,022$ NDO-HSA, $p= 0,164$ NDO-LID), caso soropositivo ($p= 0,147$ NDO-HSA) e presença de cicatriz de BCG ($p= 0,060$ LID-1).

Foi testada a colinearidade entre estas variáveis para ambos os grupos, e entre aquelas que apresentaram coeficiente de correlação de *Spearman* superior a 0,600, foi escolhida apenas uma para inserir no modelo múltiplo. O critério de escolha se deu a partir da variável que obteve valor de p mais próximo de 0,05 na análise bivariada, uma vez que esta apresenta maior possibilidade de significância estatística na análise multivariada.

Entre as variáveis relacionadas aos contatos domiciliares, houve correlação positiva e significativa entre as variáveis número de residentes e número de cômodos ($rho= 0,608$, $p < 0,001$), assim como entre as variáveis relação conjugal com o caso e compartilha quarto com o caso ($rho= 0,861$, $p < 0,001$), sendo inseridas no modelo múltiplo as variáveis número de residentes e compartilha quarto com o caso. Com relação as variáveis relacionadas aos contatos sociais, não foi observada correlação superior a 0,600 entre nenhuma delas.

Na análise multivariada, no grupo de contatos domiciliares, para o antígeno NDO-HSA foram testadas as variáveis idade, escolaridade, número de residentes, número de cômodos por residentes, compartilha quarto com o caso e grau de parentesco. Para o antígeno LID-1 foi analisada a variável sexo. E para NDO-LID, as variáveis renda, número de residentes e número de cômodos por residentes.

No grupo de contatos sociais, para o antígeno NDO-HSA foram analisadas renda, horas de convívio diário na vizinhança, raio de distância da moradia do caso

e caso soropositivo. Para LID-1, as variáveis analisadas foram escolaridade, renda e presença de cicatriz de BCG. Para NDO-LID, foi avaliada a variável raio de distância.

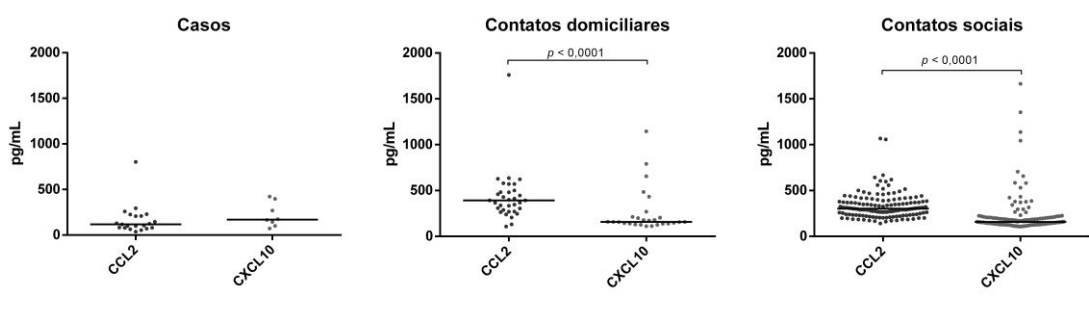
A análise de regressão logística no grupo de CD, para NDO-HSA mostrou que os indivíduos que residem em moradias com menos de um cômodo por residente apresentam 20,25 vezes mais chances de adoecer do que aqueles que residem em casas com mais de um cômodo por residente ($p=0,018$; IC=1,67-245,44).

Para este mesmo grupo, com relação a LID-1 e NDO-LID, assim como no grupo de CS, com relação aos três testes, nenhuma variável apresentou significância estatística ($p<0,05$) na regressão logística.

5.5 RESULTADOS DA DOSAGEM DAS QUIMIOCINAS CCL2 E CXCL10 E ASSOCIAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E SOCIODEMOGRÁFICAS

A figura 4, representa o resultado da análise das quimiocinas CCL2 e CXCL10, e a comparação entre suas medianas nos grupos de casos, CD e CS (Figura 4). A diferença entre as medianas das duas quimiocinas foi avaliada por meio do teste *Mann-Whitney* com correção de Bonferroni, apresentando diferença com significância estatística no grupo de CD e no de CS, ambos com valor de $p < 0,0001$. Além disso, nestes dois grupos a quimiocina CCL2 foi a que apresentou mediana mais elevada.

Figura 4 – Concentração sérica das quimiocinas CCL2 e CXCL10 nos grupos de casos, contatos domiciliares e contatos sociais – Juiz de Fora – MG – 2016-2018

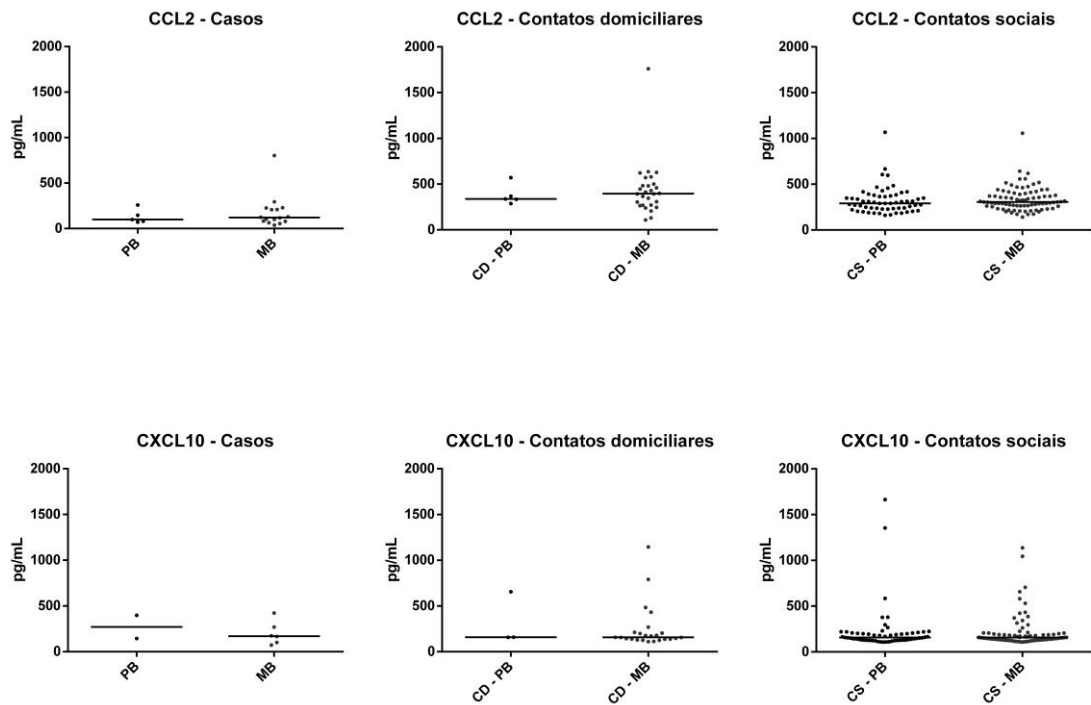


Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Nota: Cada ponto refere-se à concentração sérica em pg/mL de quimiocina presente na amostra de soro de um indivíduo. A mediana da concentração de cada quimiocina é representada pela linha horizontal contínua.

A figura 5, apresenta os níveis séricos das quimiocinas CCL2 e CXCL10, nos três grupos estudados comparando as diferenças de concentração entre elas, de acordo com a classificação operacional do caso índice.

Figura 5 – Concentração sérica das quimiocinas CCL2 e CXCL10 nos grupos de casos, contatos domiciliares e contatos sociais de acordo com a classificação operacional do caso índice – Juiz de Fora – MG – 2016-2018



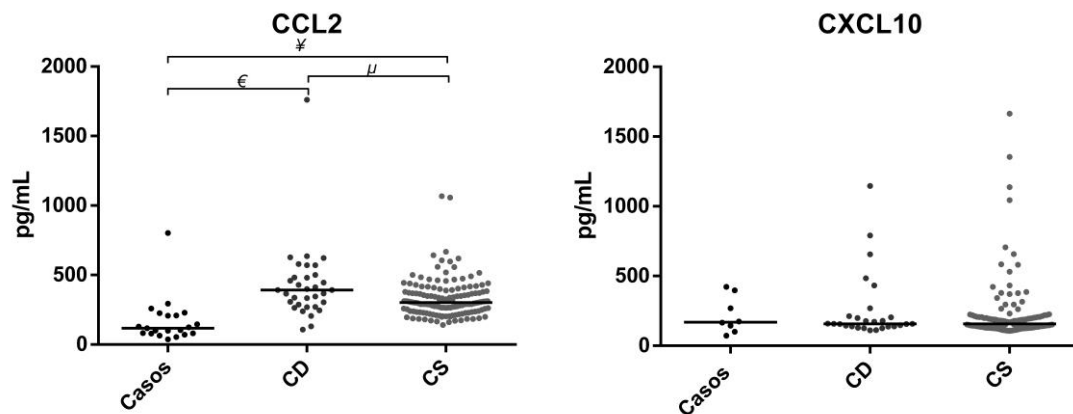
Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Nota: Cada ponto refere-se à concentração sérica em pg/mL de quimiocina presente na amostra de soro de um indivíduo. A mediana da concentração de cada grupo é representada pela linha horizontal contínua.

Nota-se na figura 5, que não houve diferença significativa entre os subgrupos PB e MB, em nenhum dos grupos estudados e para nenhuma das duas quimiocinas, entretanto é possível observar em todos os gráficos da figura 5, que em CCL2 a mediana é maior em todos os subgrupos MB, assim como em CXCL10 a mediana se destaca nos subgrupos paucibacilar.

A figura 6 mostra os níveis séricos de quimiocinas entre os grupos de casos, CD e CSC para CCL2 e CXCL10. Para CCL2, o resultado do teste de Kruskal-Wallis foi 39,96 ($p < 0,0001$), com diferença significativa entre os três grupos. Para CXCL10, Kruskal-Wallis = 0,4997 ($p = 0,7789$).

Figura 6 – Concentração sérica de CCL2 e CXCL10 entre casos, contatos domiciliares e contatos sociais – Juiz de Fora – MG – 2016-2018



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

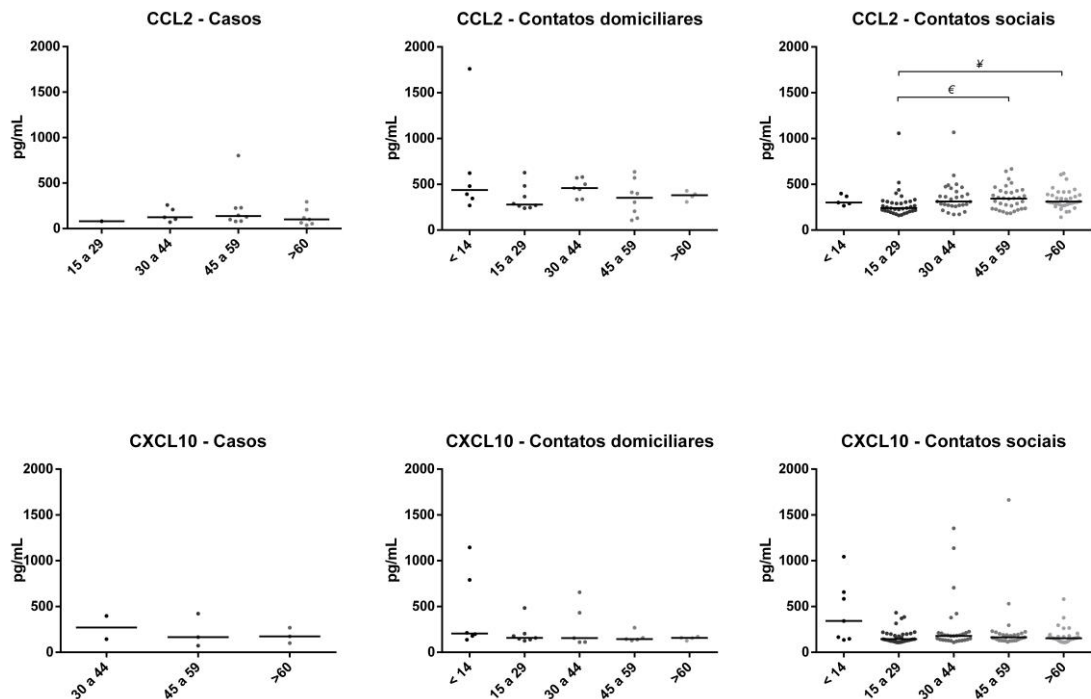
Nota: Cada ponto refere-se à concentração sérica em pg/mL de quimiocina presente na amostra de soro de um indivíduo. A mediana da concentração de cada grupo é representada pela linha horizontal contínua. Pós-teste de Dunn (€ = diferença significativa entre casos e CD. ¥ = diferença significativa entre casos e CS. μ = diferença significativa entre CD e CS).

Com relação a CXCL10, não houve diferença significativa entre as medianas dos grupos, entretanto ao observar CCL2 pode-se perceber diferença significativa entre as medianas dos três grupos, sendo que o grupo de casos foi o que apresentou mediana mais baixa.

Nas figuras 7, 8 e 9, estão apresentadas as comparações entre características clínicas e as concentrações séricas das quimiocinas CCL2 e CXCL10.

A figura 7 mostra a concentração sérica das quimiocinas, nos grupos de casos, CD e CS, de acordo com a faixa etária. Para CCL2, no grupo de CS o resultado do teste de Kruskal-Wallis foi 13,39 ($p= 0,0095$), com diferença significativa entre as faixas etárias de 15 a 29 versus 45 a 59, e 15 a 29 versus >60 anos.

Figura 7 – Comparação entre a concentração sérica de quimiocinas de acordo com a faixa etária – Juiz de Fora – MG – 2016-2018



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Nota: Cada ponto refere-se à concentração sérica em pg/mL de quimiocina presente na amostra de soro de um indivíduo. A mediana da concentração de cada grupo categorizado de acordo com a faixa etária é representada pela linha horizontal contínua. Pós-teste de Dunn (€ = diferença significativa entre 15 a 29 e 45 a 59 anos. ¥ = diferença significativa entre 15 a 29 e >60 anos).

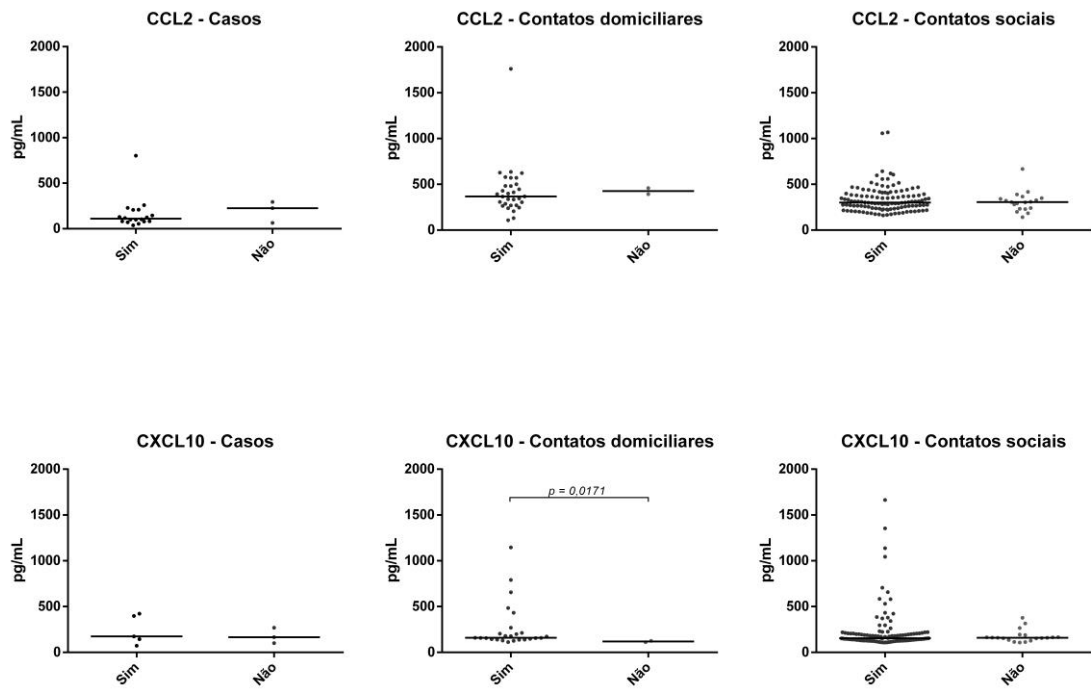
Pode-se observar que nos grupos de casos e contatos domiciliares não houve diferença significativa entre as medianas independente da faixa etária. No grupo de contatos sociais para CXCL10 também não houve diferença, entretanto para CCL2 as medianas apresentaram uma diferença estatisticamente significativa entre a faixa etária de 15 a 29 anos e as faixas etárias acima de 45 anos.

Além disso, é possível perceber que em CCL2 não houve um padrão linear de aumento ou redução de acordo com o aumento da idade, porém as faixas etárias que apresentaram mediana mais elevada foram da fase adulta, mais especificamente entre 30 e 44 anos em contatos domiciliares; e entre 45 e 59 anos em casos e contatos sociais. Com relação a CXCL10, apesar de não ter havido diferença significativa entre nenhuma faixa de idade, pode-se perceber uma discreta redução nos níveis séricos de acordo com o aumento da idade dos indivíduos.

Na figura 8, estão apresentadas comparações entre as concentrações séricas das quimiocinas, de acordo com a situação vacinal de BCG. A diferença entre as

medianas foi avaliada por meio do teste Mann-Whitney com correção de Bonferroni, apresentando diferença estatisticamente significativa no grupo de CD em relação à CXCL10 ($p=0,0171$).

Figura 8 – Comparação entre a concentração sérica de quimiocinas de acordo com a vacinação BCG – Juiz de Fora – MG – 2016-2018



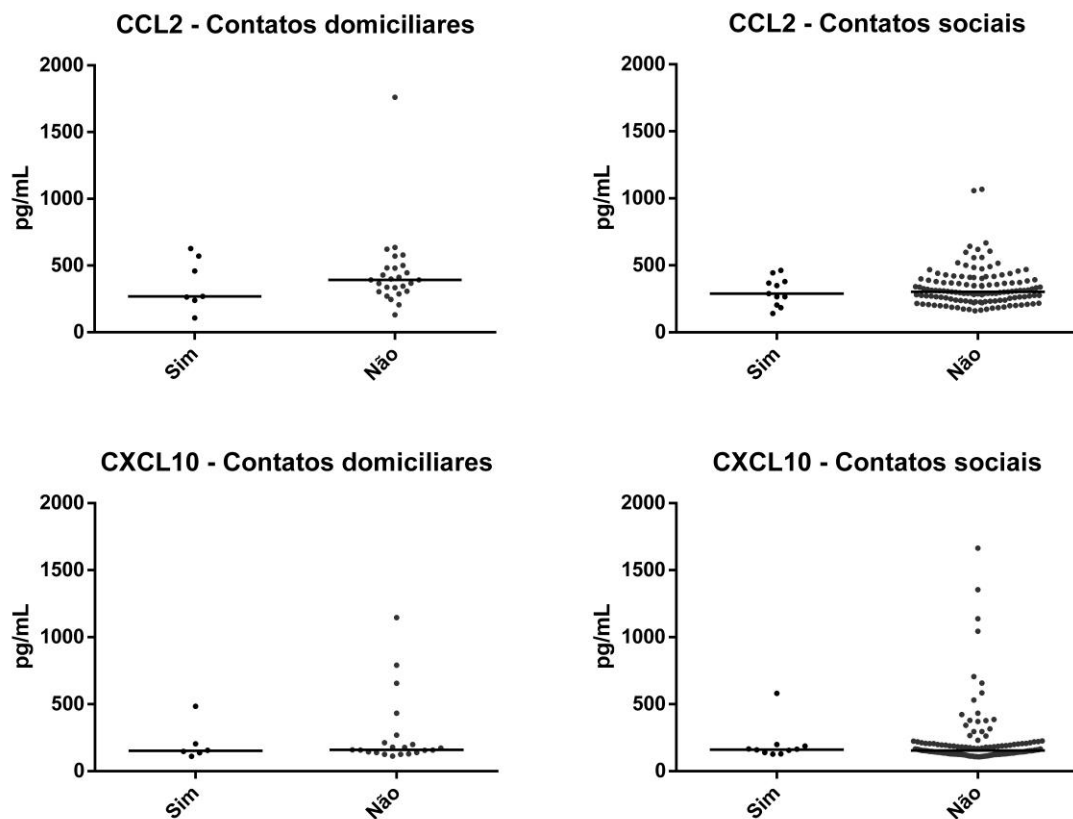
Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Nota: Cada ponto refere-se à concentração sérica em pg/mL de quimiocina presente na amostra de soro de um indivíduo. A mediana da concentração de cada grupo categorizado de acordo com a situação vacinal de BCG é representada pela linha horizontal contínua.

Pode-se notar que em CCL2, não houve diferença significativa entre as medianas em nenhum dos três grupos. Os grupos de casos e contatos sociais também não tiveram diferença significativa com relação à CXCL10 entre os indivíduos vacinados com BCG e os não vacinados. De maneira geral, foi observado em CXCL10 um discreto aumento nos níveis séricos dos indivíduos que já foram vacinados, ao passo que para CCL2 percebe-se uma tendência inversa.

A figura 9 apresenta os níveis séricos das quimiocinas CCL2 e CXCL10, nos grupos de contatos domiciliares e sociais, comparando aqueles que apresentaram ou não sinal sugestivo de hanseníase no momento da avaliação.

Figura 9 – Comparação entre a concentração de quimiocinas de acordo com a presença de sinal sugestivo de hanseníase – Juiz de Fora – MG – 2016-2018



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Nota: Cada ponto refere-se à concentração sérica em pg/mL de quimiocina presente na amostra de soro de um indivíduo. A mediana da concentração de cada grupo categorizado de acordo com a presença de sinal sugestivo de hanseníase é representada pela linha horizontal contínua.

Ao analisar a figura acima, nota-se que não houve diferença significativa entre as medianas dos indivíduos que apresentaram sinal sugestivo de hanseníase em relação aos que não apresentaram, em nenhum dos dois grupos e em relação a nenhuma das duas quimiocinas avaliadas. É possível perceber, entretanto, que apesar de não haver diferença significativa entre as medianas, com relação à CCL2, no grupo de contatos domiciliares houve um discreto aumento nos níveis séricos nos indivíduos que não apresentaram sinal sugestivo da doença.

5.6 CORRELAÇÃO E ANÁLISE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE OS TESTES LABORATORIAIS POR MEIO DA ANÁLISE DO COMPONENTE PRINCIPAL

Na tabela 10 é possível observar a correlação entre os testes.

Tabela 10 - Correlação entre os testes sorológicos nos casos, contatos domiciliares e sociais - Juiz de Fora –MG – 2016-2018

Antígenos	Casos		Contatos Domiciliares		Contatos Sociais	
	<i>rho</i>	<i>p</i>	<i>rho</i>	<i>p</i>	<i>rho</i>	<i>p</i>
NDO-HSA e LID-1	0,199	0,388	0,235	0,173	0,184	0,026
NDO-HSA e NDO-LID	0,545	0,011	0,724	<0,001	0,288	<0,001
NDO-HSA e CCL2	-0,249	0,277	-0,087	0,632	-0,152	0,071
NDO-HSA e CXCL10	-0,738	0,037	0,056	0,781	0,073	0,401
LID-1 e NDO-LID	0,481	0,027	0,345	0,042	0,282	0,001
LID-1 e CCL2	-0,095	0,681	-0,138	0,444	0,004	0,964
LID-1 e CXCL10	-0,500	0,207	0,209	0,295	0,102	0,238
NDO-LID e CCL2	0,038	0,871	-0,279	0,115	0,000	1,000
NDO-LID e CXCL10	-0,500	0,207	-0,010	0,959	-0,007	0,932
CCL2 e CXCL10	0,714	0,047	0,147	0,466	0,219	0,012

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

rho = Coeficiente de Spearman

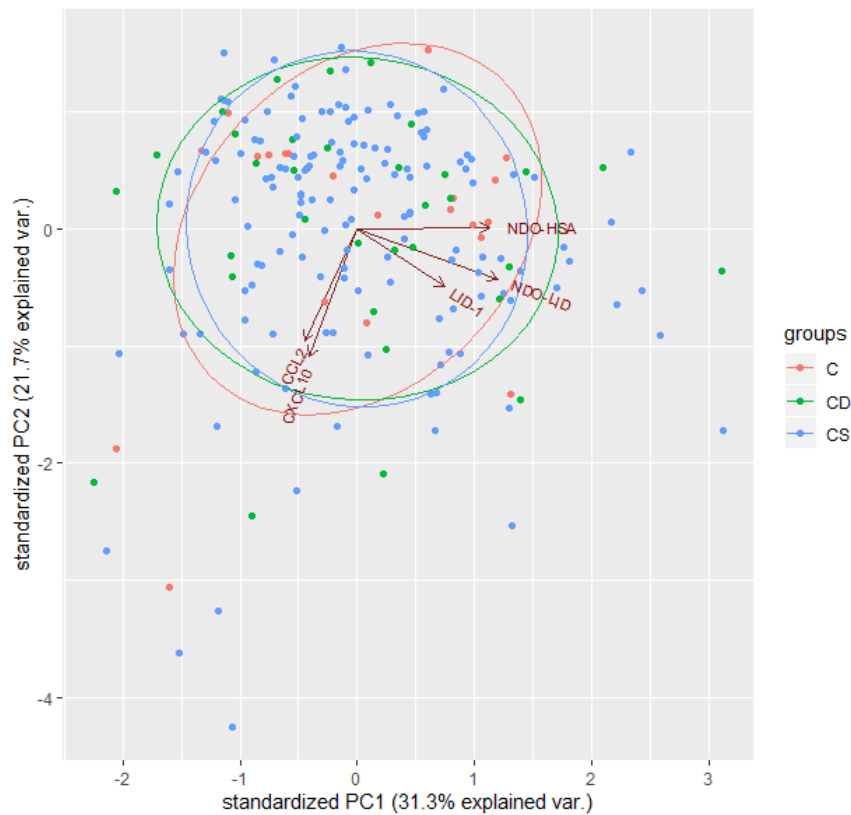
p = Valor de P

No grupo de casos houve correlação positiva e significativa entre NDO-HSA e NDO-LID, e entre LID-1 e NDO-LID, além de ser observada correlação negativa e significativa entre NDO-HSA e CXCL10. Entre os CD, assim como nos casos houve correlação positiva e significativa entre NDO-HSA e NDO-LID, e entre LID-1 e NDO-LID. No grupo de CS, foi possível observar correlação positiva e significativa entre os três antígenos.

As figuras 10, 11 e 12 apresentam a variação entre os grupos de caso, CD e CS, relacionando os parâmetros analisados por meio da PCA.

Na figura 10 pode-se visualizar a variação entre os grupos Caso, CD e CS, relacionando NDO-HSA, LID-1, NDO-LID, CCL2 e CXCL10 por meio da PCA.

Figura 10 - Análise do componente principal envolvendo antígenos e quimiocinas nos grupos de casos, contatos domiciliares e contatos sociais – Juiz de Fora – MG – 2016-2018



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Nota: Vetores em marrom indicam as quimiocinas e os antígenos. Grupo C (casos) em salmão (n = 21), grupo CD em verde (n=35) e grupo CS azul (n = 145).

O componente principal 1(PC1) abrange 31,3% da variabilidade das amostras e componente principal 2 (PC2) abrange 21,7% da variabilidade das amostras. A análise do PC1 em conjunto com o PC 2, são capazes de explicar 53% da variação total dos dados.

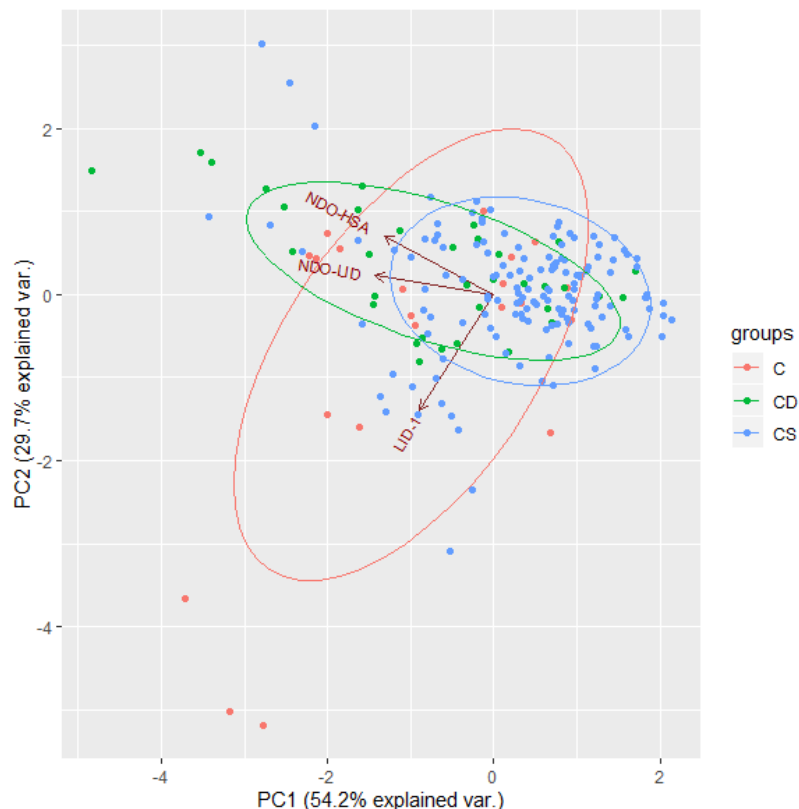
Além disso nesta figura, é possível constatar visualmente pela defasagem de aproximadamente 90° observada entre os vetores dos antígenos e das quimiocinas que não há correlação entre eles. Porém os vetores que representam os antígenos estão correlacionados entre si; estando ainda, o vetor de NDO-HSA mais relacionado a PC1, que é o componente que explica a maior parte da variabilidade dos dados. Entre as duas quimiocinas existe também uma correlação.

Pode-se observar ainda que os três grupos estão relacionados a todos os vetores. Desta maneira, ao avaliar os três grupos, considerando os cinco testes, nota-se uma distribuição com pouca variabilidade uma vez que as três elipses se

apresentam coincidentes em grande parte da figura. Esses dados, portanto, não permitem diferenciação clara entre o grupo de casos e seus contatos domiciliares e sociais.

A figura 11 apresenta a variação entre os grupos C, CD e CS, relacionando os antígenos NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID analisados por meio da PCA.

Figura 11- Análise do componente principal envolvendo os antígenos NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID nos grupos de casos, contatos domiciliares e contatos sociais – Juiz de Fora – MG – 2016-2018



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

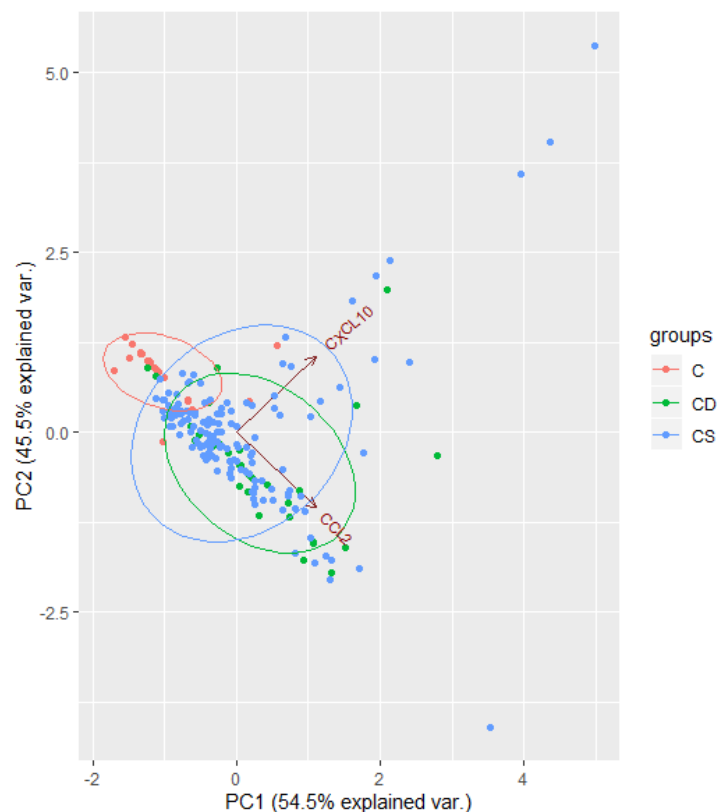
Nota: Vetores em marrom indicam os antígenos. Grupo C (casos) em salmão (n = 21), grupo CD em verde (n=35) e grupo CS azul (n = 145).

O componente principal 1(PC1) abrange 54,2% da variabilidade das amostras e componente principal 2 (PC2) abrange 29,7% da variabilidade das amostras. A análise do PC1 em conjunto com o PC 2, são capazes de explicar 83,9% da variação total dos dados. Nesta análise, nota-se que os CS se situaram, de maneira geral, mais próximos uns dos outros no espaço das componentes, indicando menor variabilidade dos dados representado por uma elipse menor, seguido de CD com uma variabilidade um pouco maior, e enfim o grupo de casos que demonstra maior variabilidade para estes parâmetros, representados por uma elipse maior.

Com relação aos testes, percebe-se uma correlação mais forte entre NDO-HSA e NDO-LID. Pode-se observar ainda que a variabilidade entre os grupos considerando estes três parâmetros é pequena, uma vez que as elipses se correlacionam em grande parte da figura formada, não permitindo diferenciar claramente os casos de seus contatos

A figura 12 apresenta a variação entre os grupos de casos, CD e CS, relacionando as quimiocinas CCL2 e CXCL10, analisados por meio da PCA.

Figura 12- Análise do componente principal envolvendo CCL2 e CXCL10 nos grupos de casos, contatos domiciliares e contatos sociais – Juiz de Fora – MG – 2016-2018



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Nota: Vetores em marrom indicam as quimiocinas. Grupo C (casos) em salmão (n = 21), grupo CD em verde (n=35) e grupo CS azul (n = 145).

Nesta figura é possível notar que os casos se situaram bem próximos uns dos outros no espaço das componentes, indicando baixa variabilidade entre eles. Os CD, porém, apresentaram uma variabilidade um pouco maior, e o grupo de CS demonstra maior variabilidade para estes parâmetros, representados por uma elipse maior.

Pode-se observar ainda, que o grupo de casos separou-se visualmente do grupo de CD e CS. Desta maneira, avaliar os três grupos concomitantemente com as duas quimiocinas, sugere ser útil para diferenciar o grupo de casos do grupo de contatos domiciliares e sociais, principalmente CCL2 em que o grupo de casos apresentou valores abaixo da mediana para CCL2. Porém esta análise não permite uma diferenciação clara entre os grupos de contatos.

6 DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo apresentam a maneira como os testes laboratoriais combinados entre si, e analisados em conjunto com características clínicas, sociodemográficas e de moradia, se tornam úteis na identificação de indivíduos com maior risco de adoecimento por hanseníase.

Os testes sorológicos, de maneira geral, tiveram maior proporção de resultados positivos no grupo de casos do que em seus contatos domiciliares e sociais. Este resultado era esperado, uma vez que casos índice geralmente possuem concentrações elevadas de anticorpos no soro, associada a baixa imunidade celular (FOOS, 1997).

O tratamento medicamentoso reduz consideravelmente os níveis de anticorpos nos pacientes, sendo que os níveis de IgM reduzem cerca de 90% em 30 dias após o início do tratamento e IgG reduz de maneira mais lenta, o que pode explicar a maior positividade para LID-1 no grupo dos casos índice (BACH *et al.*, 1986; CHO *et al.*, 2001; DROWART *et al.*, 1993). Além disso, a presença de anticorpos possui correlação positiva com o índice baciloscópico, o que justifica maior positividade em casos MB (CARVALHO *et al.*, 2017; DUTHIE *et al.*, 2007; FABRI *et al.*, 2015; FRADE *et al.*, 2017; GAMA *et al.*, 2019; LETURIONDO *et al.*, 2019; MARÇAL *et al.*, 2018).

Entre os contatos domiciliares, houve maior positividade para NDO-HSA, sendo que 20% dos CD apresentaram resultado positivo a este teste, e todos eles são CD de caso MB. O antígeno NDO-LID também apresentou resultados positivos referente a apenas contatos de MB. Sabe-se que pacientes MB possuem alta carga bacilar, e com isso tem alto potencial de transmissão do bacilo causador da hanseníase (BARRETO, 2014). Desta maneira, contatos de caso MB, são mais susceptíveis à exposição ao bacilo com conseqüente resposta imunológica e possível desenvolvimento de anticorpos do que aqueles que tem contato com casos PB.

É importante salientar, que o fato de a maioria dos indivíduos positivos aos testes no grupo de casos e CD serem referentes a caso MB, pode ter sido influenciado em partes pelas perdas deste estudo, uma vez que entre os casos, 76,19% dos participantes eram MB, e 82,90% dos CD eram contatos de caso MB.

Esses valores estão um pouco acima do perfil do município no período elencado para o estudo, que se caracteriza por 56,60% de casos MB.

No grupo de contatos sociais, assim como nos casos, o LID-1 apresentou maior positividade em relação aos outros dois antígenos. Entre os três grupos avaliados, os CS tiveram menor proporção de positividade, e praticamente não houve diferença de positividade aos testes entre contatos de PB e MB. A transmissão do *M. leprae* está associada ao contato prolongado com o doente não tratado (ARAÚJO, 2003), e o nível de intensidade de exposição ao bacilo, está diretamente ligado às chances de adoecer de hanseníase (BARRETO *et al.*, 2011). Em região de baixa endemicidade, como o local estudado, o convívio intradomiciliar com caso de hanseníase parece causar maior risco de adoecimento do que o convívio social. Além disso, a classificação do caso índice não interfere no risco de adoecimento.

Estudos anteriores demonstraram que NDO-LID possui maior capacidade em identificar indivíduos infectados pelo *M. leprae* se comparado a NDO-HSA (FABRI *et al.*, 2015), além de apresentar maior sensibilidade e especificidade do que NDO-HSA e LID-1 de maneira isolada, por ser uma combinação entre os dois (DUTHIE *et al.*, 2014). Porém neste estudo, diferente do que se esperava, NDO-LID não apresentou maior positividade em nenhum dos grupos. Isso também foi observado em outros estudos envolvendo contatos domiciliares (CARVALHO *et al.*, 2017; VIDAL *et al.*, 2018).

Ao avaliar a diferença entre as medianas dos três antígenos, percebe-se que tanto no grupo de casos quanto de seus contatos, o LID-1 apresentou mediana mais elevada. Entretanto, vale salientar que maior mediana não reflete maior positividade no grupo de CD. Esse dado pode estar associado ao fato de a IgG representar 75% das imunoglobulinas presentes no soro (MAYER, 2020), refletindo assim títulos mais elevados.

Quando se compara a diferença das medianas dos grupos para cada antígeno, percebe-se que houve diferença significativa entre a mediana de CS e os demais grupos nos três antígenos, sendo este o grupo que obteve títulos mais baixos de anticorpos. Para LID-1 e NDO-LID o grupo de casos apresentou títulos mais altos de anticorpos. O antígeno NDO-HSA, porém apresentou maiores títulos de IgM no grupo de CD. Destaca-se que todos os antígenos, nos três grupos apresentaram mediana inferior ao ponto de corte de positividade (IE= 1.1), o que

significa que a maior parte dos indivíduos avaliados não apresentou positividade aos testes.

Nos três grupos houve concordância entre o teste NDO-HSA e NDO-LID, tendo sido moderada nos casos e CD e regular em CS, apresentando significância estatística para ambos. Entre NDO-HSA e LID-1, houve concordância moderada no grupo de CS mas não foi significativa; além disso nos outros grupos não houve concordância entre estes testes.

Pessoas infectadas, mas que não possuem a doença instalada, podem apresentar sorologia positiva para apenas um ou outro antígeno, pois nem todos os antígenos são reconhecidos pelos anticorpos que aquele indivíduo está produzindo (FABRI *et al.*, 2015), o que pode explicar esta diferença na concordância entre os testes. Além disso, a concordância existente entre NDO-HSA e NDO-LID em todos os grupos pode estar relacionada à porção NDO presente nos dois testes, que é responsável por induzir a produção de IgM (STEFANI, 2008).

Ao observar as variáveis que podem influenciar na soropositividade dos testes, percebe-se maior positividade NDO-HSA e NDO-LID no sexo feminino, tanto no grupo de CD quanto nos CS. Esse resultado também foi observado em estudo recente com CD (GOMES *et al.*, 2019), e pode ser explicado pelo fato de que mulheres apresentam níveis mais elevados de IgM em relação aos homens (MADDISON *et al.*, 1975).

Com relação a idade, entre CD os adultos jovens, até 29 anos, foram os que tiveram mais resultado positivo aos testes, o que é esperado uma vez que já foram descritos menor índice de positividade a medida que ocorre aumento da idade (BAKKER *et al.*, 2004; DUPPRE *et al.*, 2012), além disso espera-se que o pico de níveis gerais de anticorpo principalmente IgM seja nos adultos jovens (OSKAM; SLIM; BHURER-SÉKULA, 2003). Entre os CS, essa tendência não foi observada.

Foi evidenciada relação entre a positividade aos testes, associada com escolaridade baixa para os CD e com níveis econômicos mais baixos para CD e CS, tendo apresentado associação significativa entre renda e NDO-HSA no grupo de CS. A hanseníase, assim como suas complicações, está atrelada entre outros fatores às condições socioeconômicas desfavoráveis (ARAÚJO, 2003; ALENCAR *et al.*, 2012).

O baixo nível de instrução pode refletir também em baixa renda, e além disso impactar na qualidade das informações recebidas, por exemplo, relacionadas aos sinais e sintomas e tratamento; o que pode refletir em disseminação da doença por

falta de tratamento medicamentoso, além de possibilitar o aumento das incapacidades geradas em decorrência do diagnóstico tardio. Estudo recente, também relacionou condições desfavoráveis de vida relativas à renda e educação com um aumento de até duas vezes na incidência de hanseníase (NERY *et al.*, 2019).

Entre os CS, apesar de este grupo ter sido constituído em 42,1% por indivíduos que estudaram apenas o ensino fundamental, observou-se maior positividade em indivíduos com nível de instrução mais alto, inclusive com ensino superior.

Este dado possibilita reflexão a respeito das características determinantes da hanseníase, que para além das condições socioeconômicas, está também atrelada ao estigma. Este, por séculos excluiu totalmente os doentes de hanseníase do convívio social, mas segundo Lana *et al.* (2014) ainda no século 21, faz com que as pessoas tenham medo de serem atendidos. Portanto, mesmo pessoas bem instruídas podem não procurar por tratamento de forma oportuna, e assim em seu ambiente social iniciar uma cadeia de transmissão.

Outro fator que esteve relacionado ao maior número de resultados positivos foi o fato de residir há mais de cinco anos com o caso índice ou na vizinhança quando se trata dos CS. Além disso, entre os CD a positividade aos testes também se mostrou mais associada a viver junto com o caso na época do diagnóstico.

Estes dados indicam que estes contatos foram expostos ao *M. leprae* antes do início do tratamento do caso, momento em que este apresentava níveis mais altos de bacilos, uma vez que já foi demonstrado que o tratamento medicamentoso reduz os títulos de anticorpos (FREITAS *et al.*, 2015; CARVALHO *et al.*, 2017). Sabe-se que os níveis de anticorpos possuem correlação positiva com o índice baciloscópico e conseqüentemente com o potencial de transmissão do bacilo causador da hanseníase (BARRETO, 2014).

A soropositividade do caso índice apresentou uma correlação negativa com a soropositividade dos contatos domiciliares e sociais. Este fato também pode estar relacionado ao tratamento do caso, uma vez que a transmissão da doença ocorre antes do início do tratamento medicamentoso, quando a carga bacilar é alta. Porém apesar de os níveis sorológicos reduzirem com o tratamento e acompanharem o índice baciloscópico, alguns anticorpos demoram mais tempo para deixarem de ser detectados como já foi mencionado anteriormente.

A variável apresentar sinal sugestivo de hanseníase, tanto para CD quanto para CS não refletiu a positividade dos testes. Esse resultado pode estar relacionado ao fato de que os testes são capazes de identificar indivíduos infectados com o *M. leprae* antes mesmo do surgimento de sinais e sintomas (AMORIM *et al.*, 2016; GAMA *et al.*, 2019; MOURA *et al.*, 2008), permitindo a detecção de infecção ainda em estágio inicial (FABRI *et al.*, 2016). Com isso, reforça-se a importância do uso destes testes em larga escala, para auxiliar na identificação de indivíduos infectados e consequente diagnóstico oportuno.

Com relação à consanguinidade, tiveram resultado positivo aos testes exclusivamente aqueles CD que apresentam parentesco consanguíneo com o caso índice. Os mecanismos de proteção ou susceptibilidade a hanseníase também estão ligados a fatores genéticos (BAKKER *et al.*, 2005, MARCOS; LATINI; SANTANA, 2014); desta maneira indivíduos que além de serem CD, apresentem parentesco consanguíneo com o caso índice são mais propensos ao adoecimento.

Outros estudos também demonstraram maior positividade aos testes em indivíduos com parentesco próximo (CARVALHO *et al.*, 2017; WAMBIER, 2016). No grupo de contatos sociais, essa tendência não foi notada, uma vez que indivíduos que disseram ter caso de hanseníase na família praticamente não apresentaram resultado positivo (apenas um caso para LID-1). Para este grupo, o grau de parentesco parece não interferir na soropositividade, uma vez que a exposição ao *M. leprae* ocorre fora do seu domicílio.

A vacinação com BCG oferece um efeito protetor para o indivíduo, sendo ainda mais eficaz entre aqueles que possuem duas doses da vacina (GOMES *et al.*, 2019). Além disso, a vacina pode estimular resposta do tipo Th1 e causar redução nos títulos de anticorpos (LIMEIRA *et al.*, 2013). Este estudo, porém, identificou que indivíduos sem cicatriz da vacina tiveram menor positividade aos testes do que aqueles vacinados, o que também foi observado em outros estudos (ANDRADE *et al.*, 2008; CARVALHO *et al.*, 2015).

Apesar de a situação de vacinação com BCG não ter demonstrado associação significativa com o resultado dos testes, os dados dos contatos relacionados à situação vacinal são preocupantes, uma vez que sugere deficiência nas atividades de vigilância de contatos no município.

O Ministério da Saúde preconiza que todos os contatos de caso de hanseníase devem ser avaliados na ocasião do diagnóstico do caso, e aqueles que

não apresentarem sinal e sintoma sugestivo de hanseníase na avaliação devem receber vacinação com BCG, excetuando-se aqueles que já possuem duas cicatrizes da vacina. Desta maneira, aqueles que não tem nenhuma cicatriz deve receber a primeira dose da vacina, e aqueles que tiverem apenas uma cicatriz, deve receber uma dose de reforço (BRASIL, 2016).

E de acordo com os dados deste estudo entre os CD que não possuíam nenhuma cicatriz de vacina BCG (2 pessoas), um deles não apresentou sinal sugestivo de hanseníase e entre os CS do ano de 2016 (22 pessoas), 1 não apresentou sinal sugestivo de BCG e 15 apresentaram apenas uma cicatriz, e dentre eles apenas 1 apresentou sinal sugestivo de hanseníase; desta maneira os demais deveriam ter sido vacinados no momento da avaliação pelos serviços de saúde do município de Juiz de Fora. Dados da SES-MG registram que 96% dos contatos domiciliares de hanseníase identificados no ano de 2016 foram examinados (MINAS GERAIS, 2016), entretanto os resultados deste estudo apontam que nesta avaliação não foram realizadas todas as medidas de vigilância recomendadas. Destaca-se que os contatos sociais não são registrados.

Ao avaliar as características de moradia e convívio com o caso índice, para o grupo de CS o raio de distância de moradia em relação ao domicílio do caso índice foi significativo estatisticamente para NDO-HSA. Estudos relatam que contatos peridomiciliares e sociais apresentam risco de desenvolver hanseníase (DOUGLAS *et al.*, 2004), sendo que os que vivem a um raio de distância de até 75 metros do caso índice possuem mais chance de adoecer (BAKKER, 2004).

Este estudo evidenciou que indivíduos que moram mais próximos, mais precisamente a um raio menor que 50 metros, tiveram maior positividade aos testes sorológicos para NDO-HSA e NDO-LID. A maior proximidade com o caso índice, aumenta a exposição destes indivíduos ao *M. leprae*, o que culmina em maior chance de adoecimento.

Com relação aos CD, foi observado que indivíduos que moravam em casas com menor número de cômodos, menor número de dormitórios, maior número de residentes e menor proporção de cômodos por residentes apresentaram maior positividade aos testes. Destaca-se as duas últimas variáveis citadas, em que residir com mais de cinco pessoas e ter menos de um cômodo por pessoa em seu domicílio apresentaram significância estatística para NDO-HSA e NDO-LID.

Outros estudos identificaram que as condições de moradia interferem no resultado da sorologia e conseqüente possibilidade de adoecimento (BAKKER *et al.*, 2006; GOMES *et al.*, 2019), pois a intensidade de exposição ao bacilo está diretamente ligada às chances de adoecimento (BARRETO *et al.*, 2011). Desta maneira viver com mais pessoas, e ter uma proporção de menos cômodos por pessoa em sua residência, aumentam a intensidade da exposição, pelo convívio mais próximo; logo aumentam as chances de infecção.

Ressalta-se que este estudo evidenciou no grupo de CD com relação ao antígeno NDO-HSA, 20,25 vezes mais chance de adoecimento entres aqueles indivíduos que vivem em domicílios com menos de um cômodo por pessoa.

Apesar de as condições de moradia, como ter menor número de quartos no domicílio interferirem na positividade dos testes, o fato de ter relação conjugal com o caso índice e compartilhar o quarto com o mesmo não interferiram no resultado dos testes. Os cônjuges, na maioria das vezes não possuem relação de consanguinidade com o caso índice. Sabendo que os fatores genéticos possuem influência na susceptibilidade à hanseníase (BAKKER *et al.*, 2005, MARCOS; LATINI; SANTANA, 2014), mesmo que eles tenham maior exposição ao *M. leprae*, podem adoecer menos que os demais contatos.

Este dado aponta para uma limitação deste estudo, uma vez que não é possível saber se estas pessoas já eram cônjuges e se compartilhavam quarto na época do diagnóstico, dificultando assim sua interpretação. Caso estas pessoas compartilhassem o quarto desde antes do diagnóstico, era esperado que essa variável interferisse no resultado dos testes. Entretanto se este convívio mais próximo tiver se estabelecido após o tratamento medicamentoso, não se espera relação com a positividade aos testes, uma vez que neste caso a exposição destes ocorre na mesma intensidade que os demais CD.

As características de convívio com o caso índice, em região de baixa endemicidade, parecem ser variáveis importantes para em conjunto com os resultados dos testes sorológicos direcionarem a identificação precoce de contatos com maior chance de adoecimento. Destaca-se ainda a exposição intradomiciliar, uma vez que a positividade aos testes foi maior entre os CD quando comparado aos CS.

Em regiões de alta endemicidade, porém, parece não haver essa associação, uma vez que a exposição ao *M. leprae* fora do domicílio é constante (CARVALHO *et*

al., 2017; HUNGRIA *et al.*, 2017). Desta maneira, as características de contato dentro do domicílio, assim como na vizinhança não impactam diretamente na chance de adoecer, pois a exposição ao bacilo parece ser constante e em qualquer tipo de ambiente nestas regiões.

Ao avaliar os resultados das quimiocinas, comparando as medianas entre CCL2 e CXCL10, percebeu-se mediana mais elevada de CCL2 nos grupos de contatos domiciliares e sociais, apresentando diferença significativa entre uma e outra. Ao comparar a diferença das medianas em cada um dos grupos estudados, é possível perceber que para CXCL10 não houve diferença significativa entre o grupo de casos e contatos. Apesar de CXCL10 apresentar capacidade limitada em diferir os casos de hanseníase de seus contatos, ela possui capacidade em identificar indivíduos infectados pelo *M. leprae* (HUNGRIA *et al.*, 2017). Com relação a CCL2, porém, observou-se diferença significativa entre os três grupos avaliados, sendo que o grupo de casos foi o que teve menor mediana.

Ao observar a comparação realizada para as duas quimiocinas, separando cada grupo em MB e PB, foi possível observar que para os três grupos em CCL2 a mediana foi mais elevada para os casos MB e para os contatos de MB, ao passo que CXCL10 se apresentou de maneira contrária tendo mediana mais elevada para casos PB e contatos de casos desta mesma classificação.

Sabe-se que CXCL10 está ligada ao perfil de resposta Th1 que configura boa resposta celular, de maneira que fornece proteção ao indivíduo ou adoecimento nas formas mais brandas da hanseníase (MENDONÇA *et al.*, 2008; HUNGRIA *et al.*, 2017). CCL2 por sua vez, está ligada à resposta Th2, com um perfil inflamatório mais acentuado, e desenvolvimento de hanseníase MB (HASAN *et al.*, 2006). Desta maneira, pode-se sugerir que CCL2 é útil para identificar pessoas mais propensas a desenvolver hanseníase, principalmente nas formas mais graves da doença.

Ao comparar os níveis séricos das quimiocinas com as faixas etárias nos grupos deste estudo, percebeu-se que em CCL2 não houve um padrão linear de comportamento, porém nos três grupos, entre os adultos as medianas foram mais elevadas. Já com relação a CXCL10, houve uma tendência inversa com pequena redução nas medianas de acordo com o envelhecimento.

Este assunto ainda é controverso na literatura, sendo que já foi descrito que tanto os níveis de CCL2 quanto os de CXCL10 aumentam em indivíduos idosos

(ANTONELLI *et al.*, 2006). Estudo recente, no entanto, constatou aumento nos níveis séricos de CCL2 em relação a indivíduos jovens (BONFANTE *et al.*, 2017).

Conforme já foi citado anteriormente, a BCG fornece uma proteção adicional para indivíduos que possuem duas doses da vacina, em relação aos não vacinados, favorecendo a resposta imune celular (GOMES *et al.*, 2019). Nos grupos avaliados neste estudo, a mediana para CCL2 foi maior naqueles indivíduos que não haviam recebido vacina de BCG, e o inverso foi observado para CXCL10. Isso permite inferir que a vacina acentuou a resposta celular contribuindo para aumento nos níveis de CXCL10, ao passo que entre aqueles indivíduos que já possuíam um perfil imunológico mais voltado para Th2, a ausência da vacina também favoreceu a maior expressão de CCL2.

A presença de sinal sugestivo de hanseníase tanto em CD quanto em CS não apresentou diferença significativa em suas medianas para nenhuma das duas quimiocinas. É curioso observar, que para CCL2 no grupo de CD, aqueles que não tinham sinal sugestivo da hanseníase apresentaram uma mediana mais elevada. Conforme já foi mencionado anteriormente, o contato prolongado com o doente não tratado (ARAÚJO, 2003), e o nível de intensidade de exposição ao bacilo possui correlação positiva com as chances de desenvolver hanseníase (BARRETO *et al.*, 2011).

Uma vez que este estudo foi realizado em área de baixa endemicidade, o convívio intradomiciliar é considerado importante na transmissão do bacilo. Desta maneira, esse resultado sugere que os CD tiveram exposição a uma carga bacilar maior que a dos CS e por isso a maior expressão mesmo nos indivíduos sem sinais da doença. É possível sugerir ainda, que a CCL2 possa exercer bom desempenho em identificar indivíduos infectados pelo *M. leprae* antes do surgimento dos sinais e sintomas.

A correlação entre os testes foi positiva entre os três antígenos, tanto no grupo de casos, quanto nos contatos domiciliares e sociais, e apesar de não ter sido significativa para todos, indica uma tendência unidirecional nos IE entre esses testes (FABRI *et al.*, 2015). Vale ressaltar que houve correlação positiva e significativa entre as quimiocinas CCL2 e CXCL10 no grupo de contatos sociais. E negativa e significativa entre NDO-HSA e CXCL10 no grupo de casos. Esta correlação negativa pode indicar uma tendência contrária entre esses testes, o que poderia ser esperado, uma vez que NDO-HSA está relacionado a resposta Th2 com indução de

anticorpos IgM (STEFANI, 2008), e CXCL10 está relacionada à Th1 (MENDONÇA *et al.*, 2008).

A análise PCA permitiu observar a correlação entre estes testes e sua tendência em cada grupo. Nota-se que ao analisar os cinco testes em conjunto não é possível fazer uma diferenciação entre os grupos, apesar de que o NDO-HSA se destaca por estar mais relacionado ao componente que explica a maior variabilidade do modelo. O mesmo é notado ao avaliar os três antígenos, uma vez que LID-1 se mostra bastante relacionado ao grupo de casos, porém não diferencia com clareza os grupos. Pode-se sugerir que os antígenos de maneira isolada, sem comparar com características sociodemográficas e de convívio com o caso índice não permitem uma boa diferenciação entre os grupos.

Entretanto ao avaliar as duas quimiocinas em conjunto nos três grupos, percebe-se que em CCL2, o grupo de casos se posiciona bem abaixo da mediana com relação aos contatos. Como já foi tratado neste capítulo, CXCL10 está ligada a resposta do tipo Th1 (MENDONÇA *et al.*, 2008), e CCL2 à resposta do tipo Th2, relacionada ao desenvolvimento de hanseníase MB (HASAN *et al.*, 2006). Sugere-se assim que CCL2 é útil na identificação de pessoas com maior chance de desenvolver hanseníase nas formas mais graves da doença.

7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

A comparação dos contatos domiciliares e sociais com casos já tratados se configura uma limitação deste estudo, uma vez que para comparar as diferenças de positividade aos antígenos, assim como as diferenças entre os níveis séricos das quimiocinas, o ideal seria casos novos, uma vez que o tratamento medicamentoso interfere nos níveis destes marcadores imunológicos. Entretanto, com o objetivo de superar esta limitação, foi realizada comparação entre casos com diferentes tempos de tratamento e não foi observada diferença significativa nos resultados dos testes entre eles.

Uma outra limitação do estudo, está relacionada a observação das características dos contatos domiciliares e sociais e do resultado dos testes laboratoriais em momento único, uma vez que não permitiu avaliar se houve a instalação da hanseníase em pessoas com infecção identificada nos testes. Sugere-se então, a realização de estudos com seguimento de coorte, com contatos domiciliares e sociais em região de baixa endemicidade, analisando estes antígenos e quimiocinas, em especial NDO-HSA e CCL2, que possam reforçar a eficácia do uso destes testes como auxiliares no diagnóstico oportuno e vigilância de contatos de casos de hanseníase.

8 CONCLUSÃO

A análise dos resultados dos testes com os três antígenos, configura uma maneira eficaz de identificar um número maior de indivíduos infectados, uma vez que a maioria dos participantes não apresentaram resultado positivo aos três testes de maneira simultânea podendo reagir a um ou outro de forma isolada.

A avaliação do resultado dos testes com os antígenos NDO-HSA, LID-1, e NDO-LID, e com as quimiocinas CCL2 e CXCL10 de maneira combinada podem potencializar a identificação de pessoas infectadas com o *M. leprae* e susceptíveis ao adoecimento por hanseníase.

Apesar de LID-1 ter apresentado maior positividade no grupo de casos e CS, o NDO-HSA foi o antígeno que melhor explicou a variabilidade no modelo PCA ao ser analisado em conjunto com todos os testes. Além disso, em proporção ele se destaca mais uma vez entre os contatos, visto que identificou 20% de CD positivos, que corresponde a mais que o triplo da capacidade de LID-1 neste grupo (5,7%). O inverso não foi notado no grupo de CS, além do que o NDO-HSA representou a segunda maior taxa de positividade no grupo dos CS. Desta maneira, sugere que entre os antígenos, de maneira geral, o NDO-HSA apresentou melhor desempenho para identificar indivíduos infectados.

A exposição intradomiciliar foi fortemente associada a soropositividade, principalmente ao antígeno NDO-HSA, o que sugere que em região de baixa endemicidade a exposição ao *M. leprae* está mais associada ao convívio entre as pessoas que vivem junto com o caso índice, dando destaque a importância da vigilância epidemiológica dos contatos domiciliares.

Não obstante, os contatos sociais que moram mais próximo da residência do caso de hanseníase, tiveram maior positividade aos testes em comparação a quem reside a um raio superior a 50 metros. Isso indica que, apesar de as características de exposição intradomiciliar estarem bastante associadas a exposição ao *M. leprae* em região de baixa endemicidade, os contatos sociais também se configuram importante foco de investigação na vigilância dos contatos de hanseníase. Dentre todos os contatos sociais, neste estudo, destacam-se os vizinhos, indicando necessidade de atenção especial na vigilância destes, com acompanhamento mais próximo e frequente.

A avaliação do resultado das quimiocinas CCL2 e CXCL10 em conjunto, também demonstram potencial elevado de identificação de casos e contatos, além disso o resultado das duas parece auxiliar na classificação operacional, visto que CCL2 está mais associada a MB e CXCL10 a PB. Destaca-se a utilidade de CCL2 para identificar pessoas mais propensas a desenvolver hanseníase nas formas mais graves da doença, além de diferenciar o grupo de casos de seus contatos.

Os cinco testes avaliados neste estudo, em conjunto, podem potencializar a identificação de indivíduos infectados com o *M. leprae*, entretanto a implementação do uso destes de maneira simultânea na rotina do serviço de saúde pode se configurar uma limitação, principalmente se for necessário a realização de vários exames laboratoriais isolados para obter esses resultados. Desta maneira, destaca-se o uso do antígeno NDO-HSA e da quimiocina CCL2 para identificação de indivíduos infectados pelo *M. leprae*.

Recomenda-se a realização de estudos que busquem o desenvolvimento de técnicas de mais fácil execução, a partir destes antígenos e quimiocinas, com vistas a ampliar as possibilidades do uso destes testes na rotina do SUS.

Os resultados desses testes podem contribuir com a assistência à saúde se forem utilizados para auxiliar e possibilitar melhorias nas ações de vigilância dos CD e CS de casos de hanseníase a partir de um acompanhamento mais frequente para os que apresentarem reatividade aos testes, com possível descoberta de novos casos e tratamento oportuno, contribuindo para a cura do indivíduo e quebra da cadeia de transmissão da doença.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, C. H. *et al.* Persisting leprosy transmission despite increased control measures in an endemic cluster in Brazil: the unfinished agenda. **Lepr Rev.**, London, v. 83, n. 4, p. 344-353, Dec. 2012.
- AMORIM, F.M. *et al.* Identifying Leprosy and Those at Risk of Developing Leprosy by detection of Antibodies against LID-1 and LID-NDO. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.l.], v. 10, n. 9, p. 1-17, 22 set. 2016.
- ANDRADE, *et al.* Seroprevalence of ML Flow test in leprosy contacts from State of Minas Gerais, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 41, suppl II, p. 56-59, 2008.
- ANDRADE, K. V. F. de *et al.* Geographic and socioeconomic factors associated with leprosy treatment default: An analysis from the 100 Million Brazilian Cohort. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.l.], v. 13, n. 9, p.e0007714, 6 set. 2019.
- ANTONELLI, A. *et al.* Increase of CXC chemokine CXCL10 and CC chemokine CCL2 serum levels in normal ageing. **Cytokine**, [S.l.], v. 34, n. 1-2, p. 32-38, 21 abr. 2006.
- ARAÚJO, M. G. Hanseníase no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.36, n.3, p.373-382, mai./jun. 2003.
- ARAÚJO, S. *et al.* Fatores de risco de adoecimento na vigilância de contatos domiciliares de pacientes com hanseníase. **Hansenologia Internationalis**, v.38, n.1, p.72, 2013.
- AVELLEIRA, J. C. *et al.* Micobacterioses: Hanseníase. In: AZULAY, Rubem David; AZULAY, David Rubem; AZULAY-ABULAFIA, Luna. **Dermatologia**. 6. ed., rev. e atual. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. Cap. 40. p. 396-412.
- AYDIN, S.. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. **Peptides**, [S.l.], v. 72, p. 4-15, out. 2015.
- BACH, M.A. *et al.* Antibodies to phenolic glycolipid-1 and to whole *Mycobacterium leprae* in leprosy patients: evolution during therapy. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.54, n.2, p. 256-267, 1986.
- BAKKER, M. I. *et al.* Population survey to determine risk factors for *Mycobacterium leprae* transmission and infection. **International Journal of Epidemiology**, Oxford, v. 33, p. 1329-1336, dez. 2004.
- BAKKER, M. I. *et al.* Genetic, household and spatial clustering of leprosy on an island in Indonesia: a population-based study. : a population-based study. **Bmc Medical Genetics**, [S.l.], v. 6, n. 1, p. 1-10, 24 nov. 2005.

BAKKER, M. I. *et al.* Risk factors for developing leprosy--a population-based cohort study in Indonesia. **Leprosy Review**, London, v. 77, n. 1, p. 48-61, mar. 2006.

BARRETO, J. G. *et al.* Anti-PGL-I seroepidemiology in leprosy cases: household contacts and school children from a hyperendemic municipality of the Brazilian. **Amazon. Lepr Rev.**, London, v. 82, n. 4, p. 358-370, Dec. 2011.

BARRETO, J. A. Diagnóstico laboratorial da hanseníase: Indicações e limitações. In: ALVES, Elioenai Dornelles; FERREIRA, Telma Leonel; NERY, Isaías (Org.). **Hanseníase: avanços e desafios**. Brasília: Nesprom, 2014. Cap. 7. p. 131-140.

BONFANTE, H. L. *et al.* CCL2, CXCL8, CXCL9 and CXCL10 serum levels increase with age but are not altered by treatment with hydroxychloroquine in patients with osteoarthritis of the knees. **International Journal Of Rheumatic Diseases**, [S.l.], v. 20, n. 12, p. 1958-1964, dez. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento Nacional de Saúde. **Manual de leprologia**. Brasília: Ministério da Saúde, 1960. 192 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Vigilância em Saúde: Dengue, Esquistossomose, Hanseníase, Malária, Tracoma e Tuberculose**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008a. 195 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Prevenção de Incapacidades**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Ciência e Tecnologia, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Doenças negligenciadas: estratégias do ministério da saúde. **Revista de Saúde Pública**, [S.l.], v. 44, n. 1, p. 200-202, fev. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. **Quimioprofilaxia de contatos de doentes de hanseníase com rifampicina em dose única**. Brasília: Ministério da Saúde, Jul. 2015. 10 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Diretrizes para vigilância, atenção e eliminação da Hanseníase como problema de saúde pública: manual técnico-operacional**. Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 58 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação-Geral de Hanseníase e Doenças em Eliminação (CGHDE). **Estratégia Nacional Para o Enfrentamento Da Hanseníase – 2019 – 2022**. [recurso eletrônico] Brasília: Ministério da Saúde, 2019a. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/marco/27/Estrategia-Nacional-CGHDE-Consulta-Publica-27mar.pdf>. Acesso em: 19/11/2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde: volume único** [recurso eletrônico] – 3ª. ed. – Brasília: Ministério da Saúde,

2019b. 740p. Disponível em:

<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/junho/25/guia-vigilancia-saude-volume-unico-3ed.pdf>. Acesso em: 19/11/2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos em saúde. Departamento de Ciência e Tecnologia. **Chamada CNPq/MS-SCTIE-Decit Nº 22/2019. PESQUISAS SOBRE DOENÇAS TRANSMISSÍVEIS E NEGLIGENCIADAS**. Brasil: Ministério da Saúde, 2019c. 22p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias e Inovação em Saúde. **Exclusão da rifampicina para quimioprofilaxia de contatos de pacientes com hanseníase**. Brasília: Ministério da Saúde, Fev. 2020. 14 p.

CARVALHO, A. P. M. *et al.* Factors associated with anti-phenolic glycolipid-I seropositivity among the household contacts of leprosy cases. **BMC Infectious Diseases**, London, v. 15, p. 219, mai. 2015.

CARVALHO, A. P. M. *et al.* Specific antigen serologic tests in leprosy: implications for epidemiological surveillance of leprosy cases and household contacts. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, V. 112, n. 9, p. 609-616, Sep. 2017.

CHEN, X. *et al.* Evaluation of antigen-specific immune responses for leprosy diagnosis in a hyperendemic area in China. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.l.], v. 12, n. 9, p. 1-5, 24 set. 2018. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0006777>.

CHO, S. N. *et al.* Detection of Phenolic Glycolipid I of Mycobacterium leprae in Sera from Leprosy Patients before and after Start of Multidrug Therapy. **Clin. diagn. lab. immunol.**, Washington, v. 8, n. 1, p. 138-142, Jan. 2001.

CURY, A. J. **Nunca desista de seus sonhos**. Rio de Janeiro: Sextante, 2004.

DAXBACHER, E. L. R.; FERREIRA, I. N. Epidemiologia da hanseníase. In: ALVES, Elíoenai Dornelles; FERREIRA, Telma Leonel; NERY, Isaías (Org.). **Hanseníase: avanços e desafios**. Brasília: Nesprom, 2014. Cap. 3. p. 45-65.

DIÓRIO, S. M. Aspectos microbiológicos e moleculares do Mycobacterium leprae. In: ALVES, Elíoenai Dornelles; FERREIRA, Telma Leonel; NERY, Isaías (Org.). **Hanseníase: avanços e desafios**. Brasília: Nesprom, 2014. Cap. 4. p. 67-79.

DOUGLAS, J. T. *et al.* Prospective study of serological conversion as a risk factor for development of leprosy among household contacts. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, Washington, v. 11, n. 5, p. 897-900, sep. 2004.

DROWART A. *et al.* Effects of chemotherapy on antibody levels directed against PGL-I and 85A and 85B protein antigens in lepromatous patients. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. V.61, n.1, p. 29-34, 1993.

- DUPPRE, N. C. *et al.* Impact of PGL-I Seropositivity on the Protective Effect of BCG Vaccination among Leprosy Contacts: A Cohort Study. **PLoS neglected tropical diseases**, San Francisco, v. 6, n. 6, p. e1711, jun. 2012.
- DUTHIE, M. S. *et al.* Use of protein antigens for early serological diagnosis of leprosy. **Clinical and Vaccine Immunology**, Washington, v.14, n. 11, p. 1400-1408, nov. 2007.
- DUTHIE, M. S. *et al.* A rapid ELISA for the diagnosis of MB leprosy based on complementary detection of antibodies against a novel protein-glycolipid conjugate. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, New York, v.79, n.2, p. 233-239, jun. 2014.
- ESPINOSA A.O. *et al.* **Accuracy of Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISAs) in Detecting Antibodies against Mycobacterium leprae in Leprosy Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis.** Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology.2018. Article ID 9828023
- FABRI, A. C. O. C. *et al.* Antigen-specific assessment of the immunological status of various groups in a leprosy endemic region. **BMC Infectious Diseases**, London, v. 15, p. 218, mai. 2015.
- FABRI, A. C. O. C. *et al.* Integrative literature review of the reported uses of serological tests in leprosy management. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S./], v. 49, n. 2, p.158-164, abr. 2016.
- FERREIRA, S. M. B. *et al.* Effectiveness of rifampicin chemoprophylaxis in preventing leprosy in patient contacts. **Jbi Database Of Systematic Reviews And Implementation Reports**, [S./], v. 15, n. 10, p. 2555-2584, out. 2017.
- FRADE, M. A. C. *et al.* Unexpectedly high leprosy seroprevalence detected using a random surveillance strategy in midwestern Brazil: A comparison of ELISA and a rapid diagnostic test. *Plos Neglected Tropical Diseases*, [S./], v. 11, n. 2, p.e0005375, 23 fev. 2017.
- FREITAS, A. A. *et al.* Alterations to antigen-specific immune responses before and after multidrug therapy of leprosy. **Diagn. microbiol. infect. dis.**, New York, v. 83, n. 2, p. 154-161, Oct. 2015.
- FONTES, J.T. Análise epidemiológica *da Hanseníase na Superintendência Regional de Saúde de Juiz de Fora*. 2016. 86 f. TCC (Graduação) - Curso de Enfermagem, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2016.
- FOSS, N. T. Aspectos imunológicos da hanseníase. **Revista Medicina**, Ribeirão Preto. v. 30, p. 335-339, jul/set. 1997.
- GAMA, R.S. *et al.* A novel integrated molecular and serological analysis method to predict new cases of leprosy amongst household contacts. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v.13, n.6, p.e0007400, 2019.

GELUK, A. *et al.*, Novos biomarcadores relevantes para o diagnóstico de hanseníase aplicáveis em áreas hiperendêmicas para hanseníase. **J Immunol**, v.188, n.10, p.4782-4791, 2012.

GOMES, R. R. *et al.* BCG vaccine and leprosy household contacts: Protective effect and probability to becoming sick during follow-up. **Elsevier BV**, v. 37, n. 43, p.6510-6517, out. 2019.

HADDAD, N. **Metodologia de estudos em ciências da saúde**. 1st ed. Sao Paulo: Roca; 2004.

HASAN, Z. *et al.* Elevated Serum CCL2 Concomitant with a Reduced Mycobacterium-Induced Response Leads to Disease Dissemination in Leprosy. **Scandinavian Journal Of Immunology**, [S.l.], v. 63, n. 3, p.241-247, mar. 2006.

HASTINGS, R. C. **Leprosy. Medicine in the tropics**. London: Churchill Livingstone, 1986. 350 p.

HUNGRIA, E. M. *et al.* Antigen-specific secretion of IFN γ and CXCL10 in whole blood assay detects Mycobacterium leprae infection but does not discriminate asymptomatic infection from symptomatic leprosy. **Diagnostic Microbiology And Infectious Disease**, [S.l.], v. 87, n. 4, p. 328-334, abr. 2017. Elsevier BV.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA – IBGE (BRASIL). Censo Demográfico 2010. **Sinopse do Censo Demográfico 2010**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/9662-censo-demografico-2010.html?=&t=resultados>. Acesso em: 03 nov. 2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA – IBGE (BRASIL). Cidades e Estados. Juiz de Fora. **População estimada**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/mg/juiz-de-fora.html>. Acesso em: 17 jul. 2020.

JUIZ DE FORA. Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares. Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora, 2015. **Carta De Serviços ao Cidadão**. Disponível em: <https://www2.ufjf.br/cartadeservicos/wp-content/uploads/sites/18/2019/03/JF-HU.pdf>. Acesso em: 14 maio 2020.

JUIZ DE FORA. Secretaria de Saúde. Subsecretaria de Atenção Primária em Saúde. **Catálogo de Normas da Atenção Primária [PDAPSJF]**. / Subsecretaria de Atenção Primária em Saúde, Thiago Augusto Campos Horta (Org.) – Juiz de Fora (MG): Funalfa, 2016. 112 p.

JUIZ DE FORA. Prefeitura de Juiz de Fora, c2020. CUIDADO E PREVENÇÃO DA HANSENÍASE. Disponível em: https://www.pjf.mg.gov.br/secretarias/ss/pam_marechal/clinicas_especializadas/outs_servicos/hanseniose.php. Acesso em: 14 maio 2020.

LANA, F. C. F. *et al.* O estigma em hanseníase e sua relação com as ações de controle. **Revista de Enfermagem da Ufsm**, [S.l.], v. 4, n. 3, 19 nov. 2014.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, Arlington, v.33, p. 159-174, mar.1977.

LAURINDO, C. R. *et al.* Trajetória de casos de hanseníase e fatores relacionados/Trajectory of leprosy cases and related factors. **Ciência, Cuidado e Saúde**, [S.l.], v. 17, n. 3, 12 nov. 2018.

LEHMAN L. F. *et al.* American Leprosy Missions International (ALM International). **Avaliação Neurológica Simplificada**. Belo Horizonte: ALM International, 1997. 104p.

LETURIONDO, A. L. *et al.* Performance of serological tests PGL1 and NDO-LID in the diagnosis of leprosy in a reference Center in Brazil. **Bmc Infectious Diseases**, [S.l.], v. 19, n. 1, p.1-5, 7 jan. 2019.

LEW, W. *et al.* Serum monocyte chemoattractant protein-1 is elevated in lepromatous leprosy patients with high bacterial indices. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. V.70, p.129-31, 2002.

LIMEIRA, O. M. *et al.* Active search for leprosy cases in Midwestern Brazil: a serological evaluation of asymptomatic household contacts before and after prophylaxis with bacillus Calmette-Guérin. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, São Paulo , v. 55, n. 3, p. 173-177, Jun. 2013.

LYON, S; GROSSI, M. A. F. Diagnóstico e tratamento da Hanseníase. In: ALVES, Elioenai Dornelles; FERREIRA, Telma Leonel; NERY, Isaías (Org.). **Hanseníase: avanços e desafios**. Brasília: Nesprom, 2014. Cap. 8. p. 141-169.

MARÇAL, P. H. F. *et al.* Utility of immunoglobulin isotypes against LID-1 and NDO-LID for, particularly IgG1, confirming the diagnosis of multibacillary leprosy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.l.], v. 113, n. 5, e170467, 26 fev. 2018.

MARCOS, E. V. C.; LATINI, A. C. P.; SANTANA, F. C. S. Genética em hanseníase. In: ALVES, Elioenai Dornelles; FERREIRA, Telma Leonel; NERY, Isaías (Org.). **Hanseníase: avanços e desafios**. Brasília: Nesprom, 2014. Cap. 5. p. 81-140.

MADDISON, S. E. *et al.* The relationship of race, sex, and age to concentrations of serum immunoglobulins expressed in international units in healthy adults in the USA. **Bulletin of the World Health Organization**. Geneve, v. 52, n. 2, p. 179-185, 1975.

MATOS, A. M. F. *et al.* Assessing epidemiology of leprosy and socio-economic distribution of cases. **Epidemiology And Infection**, [S.l.], v. 146, n. 14, p. 1750-1755, 6 jul. 2018.

MAYER, G. **IMUNOGLOBULINAS – ESTRUTURA E FUNÇÃO**. Disponível em: <https://www.microbiologybook.org/Portuguese/immuno-port-chapter4.htm>. Acesso em: 28 maio 2020.

MEDEIROS, M. F. *et al.* CXCL10, MCP-1, and Other Immunologic Markers Involved in Neural Leprosy. **Appl Immunohistochem Mol Morphol**, v. 23, n. 3, p. 220-229, mar. 2015.

MENDONÇA, V. A.I. *et al.* Imunologia da hanseníase. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [S.l.], v. 83, n. 4, p. 343-350, ago. 2008.

MINAS GERAIS. Secretaria de Estado da Saúde. **Casos Confirmados De Hanseníase Por Local De Notificação. Contatos examinados segundo Ano do diagnóstico - Minas Gerais– 2016**. Disponível em: http://tabnet.saude.mg.gov.br/tabcgi.exe?def/agravos/hans_n.def. Acesso em: 11 mai. 2020.

MINAS GERAIS. Secretaria de Estado da Saúde. **Casos Confirmados De Hanseníase Por Local De Residência - Minas Gerais.– 2018**. Disponível em: http://tabnet.saude.mg.gov.br/deftohtm.exe?def/agravos/hans_r.def. Acesso em: 11 mai. 2020.

MINAS GERAIS. Secretaria de Estado da Saúde. **Plano de Enfrentamento da Hanseníase em Minas Gerais, 2019-2022** [manuscrito] / Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais. Coordenadoria Estadual de Controle da Hanseníase 2019. BeloHorizonte: UFMG, 2019.

MOUBASHER, A. E. A *et al.* Cytokines in leprosy, I. Serum cytokine profile in leprosy. **International Journal Of Dermatology**, v. 37, p. 733-740, 1998.

MOURA, R. S. *et al.* Leprosy serology using PGL-I: a systematic review. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 41, suppl. II, p. 11-18, 2008.

NAÇÕES UNIDAS. Transformando Nosso Mundo: A Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável. 2015. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/pos2015/agenda2030/>. Acesso em: 11 maio 2020.

NERY, Joilda Silva *et al.* Socioeconomic determinants of leprosy new case detection in the 100 Million Brazilian Cohort: a population-based linkage study. **The Lancet Global Health**, [S.l.], v. 7, n. 9, p.1226-1236, set. 2019.

NICCHIO, M. V. C. *et al.* Avaliação da estratégia combinada de imunoprofilaxia com BCG-ID e quimioprofilaxia com esquema ROM em contatos de hanseníase e o impacto nos indicadores epidemiológicos em municípios hiperendêmicos do estado do maranhão. In: 9º SIMPÓSIO BRASILEIRO DE HANSENOLOGIA, São Luiz-MA. Hansen. Int. 2016;41(Suppl. 1):12

- OLIVEIRA, K. B. *et al.* Envolvimento das quimiocinas e seus receptores na patogênese de doenças infecciosas e inflamatórias. **Biosaúde**, Londrina, v.9, n. 1/2, p. 41-67, jan./dez. 2007.
- OSKAM, L.; SLIM, E.; BÜHRER-SÉKULA, S. Serology: recent developments, strengths, limitations and prospects: a state of the art overview. **Lepr Rev., London**, v. 74, n. 3, p. 196-205, Sept. 2003.
- PALOMINO, D.C. T.; MARTI, L. C. Chemokines and immunity. **FapUNIFESP, Einstein (São Paulo)**, [S.l.], v. 13, n. 3, p.469-473, set. 2015.
- QIONG-HUA, P. *et al.* Early revelation of leprosy in China by sequential antibody analyses with LID-1 and PGL-1. **Journal of Tropical Medicine**, Cairo, 2013.
- RICHARDUS, J.H.; OSKAM, L. Protecting people against leprosy: Chemoprophylaxis and immunoprophylaxis. **Clin Dermatol.** v.33, p.19–25, 2015.
- RIDLEY, D. S.; JOPLING, W. H. Classification of leprosy according to immunity: a five group system. **International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases**, Bloomfield, v. 34, n. 3, p. 255-273, jul./sep.1966.
- ROITT, I. M.; DELVES, P. J. **Fundamentos de Imunologia**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.a., 2004.
- SALGADO, C. G. *et al.* Are leprosy case numbers reliable? **The Lancet Infectious Diseases**, [S.l.], v. 18, n. 2, p.135-137, fev. 2018.
- SANTOS, D. F. dos *et al.* Revisiting primary neural leprosy: Clinical, serological, molecular, and neurophysiological aspects. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.l.], v. 11, n. 11, e0006086, 27 nov. 2017.
- SILVA, M. B. da *et al.* Evidence of zoonotic leprosy in Pará, Brazilian Amazon, and risks associated with human contact or consumption of armadillos. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.l.], v. 12, n. 6, p.e0006532, 28 jun. 2018.
- SOUZA, V. N. B. de. Imunologia da Hanseníase. In: ALVES, Elioenai Dornelles; FERREIRA, Telma Leonel; NERY, Isaías (Org.). **Hanseníase: avanços e desafios**. Brasília: Nesprom, 2014. Cap. 6. p. 105-130.
- SPENCER, J. S.; BRENNAN, P. J. The Role of Mycobacterium leprae Phenolic Glycolipid I (PGL-I) in Serodiagnosis and in the Pathogenesis of Leprosy. **Leprosy Review**. London, v. 82, n. 4, p.344-357, dez. 2011.
- STEFANI, M. M. A. Desafios na era pós genômica para o desenvolvimento de testes laboratoriais para o diagnóstico da hanseníase. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 41, suppl. II, p. 89-94, 2008.
- STEFANI, M. M. A. *et al.* Potential plasma markers of type 1 and type 2 leprosy reactions: a preliminary report. **Bmc Infectious Diseases**, [S.l.], v. 9, n. 1, 27 maio 2009.

STEFANI, M. M. A. *et al.* Leprosy survey among rural communities and wild armadillos from Amazonas state, Northern Brazil. ***PloS one***. v.14, n.1, p.e0209491, Jan. 2019.

THERMO FISHER SCIENTIFIC (S.i). **Overview of ELISA**: What is an ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)?. 2020. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/br/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-elisa.html>. Acesso em: 28 maio 2020

VIDAL, S. L. *et al.* Testes sorológicos anti-NDO-HSA, anti-LID-1 e anti-NDO-LID em contatos domiciliares de área não endêmica de hanseníase. **HU Revista**, Juiz de Fora, v.44, n. 3, p. 325-331, jul./set. 2018.

VAN HOOIJ, A. *et al.* Evaluation of Immunodiagnostic Tests for Leprosy in Brazil, China and Ethiopia. **Scientific Reports**, [S./], v. 8, n. 1, dez. 2018.

WAMBIER, C. G. *et al.* Factors associated with seropositivity for APGL-I among household contacts of leprosy patients. *Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Revista*, v. 49, p. 83-89, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guia para eliminação da hanseníase como problema de saúde pública**. Genebra: World Health Organization, Leprosy Elimination Group, 2000. 38p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global leprosy strategy 2016-2020: accelerating towards a leprosy-free world**. 20p. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Weekly epidemiological record**, v. 93, n. 35, p. 445-456, aug. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Weekly epidemiological record**, v. 94, n. 35/36, p. 389-412, aug. 2019.

APENDICE A – Geolocalização Espacial Com Relação a Moradia Do Caso Índice

Orientação com relação aos endereços para abordagem dos contatos sociais, com base no raio de distância da moradia do caso índice.

Bairro Eldorado

- Ano de diagnóstico: 2015

- Classificação Operacional: MB



Ruas para abordagem

Raio de 25m

- Rua Adelaíde Maria da Conceição nº 190 a 198.

Raio de 50m

- Rua Adelaíde Maria da Conceição nº 02 a 22;

- Rua Adelaíde Maria da Conceição nº 178 a 189.

Raio de 75m

- Rua Adelaíde Maria da Conceição nº 23 a 32;

- Rua Adelaíde Maria da Conceição nº 168 a 177;

- Rua Adelaíde Maria da Conceição nº 01 a Rua Manoel de Castro Lessa nº 77.

Raio de 100m

- Rua Adelaíde Maria da Conceição nº 33 a 44;

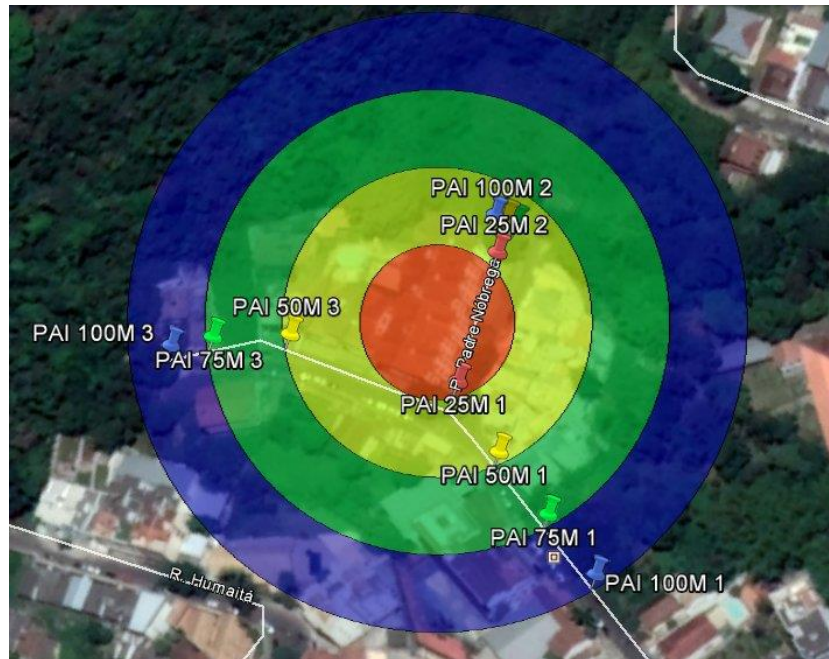
- Rua Adelaíde Maria da Conceição nº 158 a 167;

- Rua Manoel de Castro Lessa nº 77 a 100.

Bairro Paineiras

- Ano de diagnóstico: 2016

- Classificação Operacional: PB



Ruas para abordagem

Raio de 25m

- Rua Padre Nóbrega nº 15 a 30.

Raio de 50m

- Rua Almirante Barroso nº 180 a 225.

Raio de 75m

- Rua Almirante Barroso nº 139 a 179;

- Rua Almirante Barroso nº 181 a 298

Raio de 100m

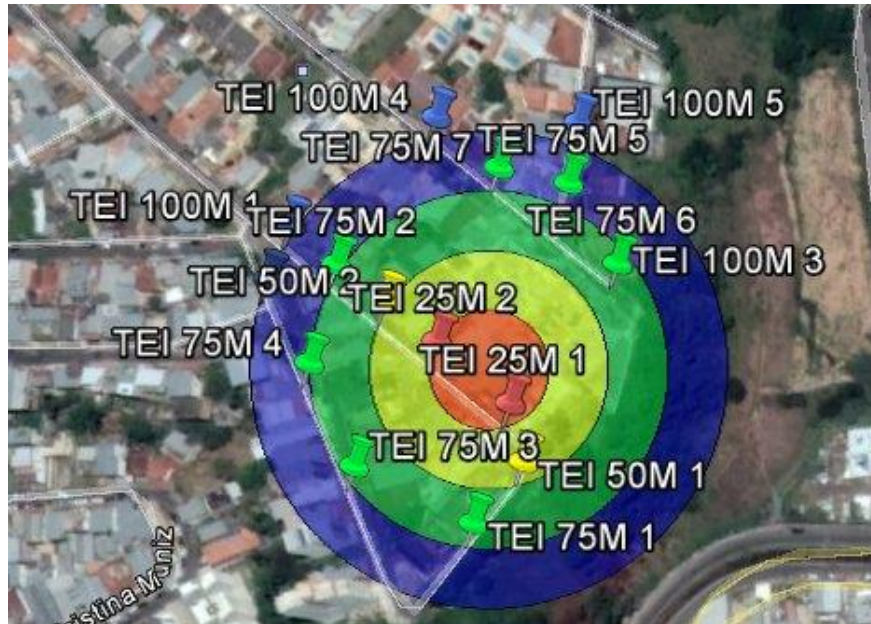
- Rua Almirante Barroso nº 113 a 138;

- Rua Almirante Barroso nº 299 a 332.

Bairro Teixeira

- Ano de diagnóstico: 2015

- Classificação Operacional: PB



Ruas para abordagem

Raio de 25m

- Rua Dalila de Lery Santos nº 259 a 299.

Raio de 50m

- Rua Dalila de Lery Santos nº 300 a 309;

- Rua Dalila de Lery Santos nº 239 a 258.

Raio de 75m

- Rua Dalila de Lery Santos nº 202 a 238;

- Rua Alfredo Salomão nº 02 a 55;

- Rua Joaquim de Almeida nº 250 a 320.

Raio de 100m

- Rua Dalila de Lery Santos nº 191 a 201;

- Rua Alfredo Salomão nº 56 a 82;

- Rua Professora Etelvina Faro nº 188 a 250;

- Rua Joaquim de Almeida nº 160 a 249;

- Rua José de Castro Barbosa nº 48 a 84.

Bairro Localização Vila Esperança II / Benfica

- Ano de diagnóstico: 2015

- Classificação Operacional: MB



Ruas para abordagem

Raio de 25m

- Rua João Ribeiro de Novais nº379 a 415.

Raio de 50m

- Rua João Ribeiro de Novais nº 240 a 378 e nº 416 a 428;
- Rua Linda Batista nº 130 a 201;
- Rua Clara Nunes nº 60 a 80;
- Rua Lima Duarte nº 32 a 48.

Raio de 75m

- Rua João Ribeiro de Novais nº 227 a 239 e nº 429 a 437;
- Rua Linda Batista nº 85 a 129 e 202 a 211;
- Rua Clara Nunes nº 20 a 59 e 81 a 110;
- Rua Clementina de Jesus nº 211 a 260;
- Rua Paraíso nº 20 a 50;
- Rua Lima Duarte nº 27 a 31 e 49 a 66

Raio de 100m

- Rua João Ribeiro de Novais nº 215 a 226 e nº 438 a 450;
- Rua Linda Batista nº 60 a 84;
- Rua Clara Nunes nº 10 a 19 e 111 a 140;
- Rua Clementina de Jesus nº 140 a 210 e 261 a 320;
- Rua Paraíso nº 51 a 72;
- Rua Lima Duarte nº 21 a 26 e 67 em diante.

APÊNDICE B – Questionário De Coleta De Dados Casos, Contatos Domiciliares e Sociais

DADOS GERAIS

Data da entrevista: ___/___/_____

Município: _____ Especificar o município: _____

Código de identificação do domicílio: _____

Código de identificação do entrevistado: _____

Unidade de Saúde/ESF: _____

Nome completo: _____

Endereço atual

Logradouro: _____

Número: _____ Bairro: _____ CEP: _____

Latitude: _____ Longitude: _____ Setor censitário: _____

Fone: () _____ Celular: () _____

Data de nascimento: ___/___/_____ Idade: _____ Sexo: () M () F

Escolaridade

() Menos de 05 anos de estudo

() Ensino fundamental

() Ensino médio

() Ensino técnico

() Ensino superior

Estado civil: () Solteiro(a) () Casado(a) () Separado(a) () Divorciado(a)

() Viúvo(a)

Renda mensal (R\$): _____

O (a) Sr. (a) já teve hanseníase? () Sim () Não Se sim, quando (ano): _____
(Pergunta destinada apenas aos CD e CS)

Coeficiente de detecção da hanseníase (por 100.000 habitantes): _____

Já teve ou tem caso de hanseníase na família? () Sim () Não

Cicatriz vacinal de BCG: () 0 () 1 () 2

CONTATO DOMICILIAR

DADOS DO DOMICÍLIO E RELACIONADOS AO CASO

Foi examinado por profissionais do serviço de saúde quando o Sr(a)_____ foi diagnosticado com hanseníase?

Número de residentes:

Número de cômodos do domicílio:

Número de dormitórios:

Número de pessoas que compartilham o dormitório com o caso índice:

Você dorme no mesmo cômodo que o caso índice?

Grau de parentesco com caso índice:

Há quanto tempo reside com caso índice (meses)?

Residia na época do diagnóstico?

Classificação operacional do caso índice: () PB () MB

CONTATO SOCIAL

DADOS RELACIONADOS AO CONTATO COM O CASO INDICE

Há quanto tempo o(a) Sr(a) mora/trabalha/estuda aqui? Em meses completos: _____

Quantas tempo o(a) Sr(a) convive diariamente neste ambiente? _____

Classificação operacional do caso índice: () PB () MB **(Resposta a ser preenchida por quem estiver coletando os dados, com base nos dados do SINAN)**

EXAME DERMATONEUROLÓGICO

Avaliação dermatológica

Possui Manchas? () Sim () Não Quantas: _____

Possui Manchas com alteração de sensibilidade? () Sim () Não
Quantas: _____

Possui Placas? () Sim () Não Quantas: _____

Possui Tubérculos? () Sim () Não Quantos: _____

Possui Nódulos? () Sim () Não Quantos: _____

Possui Infiltrações? () Sim () Não Quantas: _____

Possui alguma outra alteração dermatológica? () Sim () Não

Especificar _____

Avaliação neurológica

Membros Superiores:

Nervos espessados () Sim () Não Quantos? _____

Especificar (Escolher quantas opções forem cabíveis)

- 1) Ulnar direito 2) Ulnar esquerdo 3) Radial direito 4) Radial esquerdo
5) Mediano direito 6) Mediano esquerdo

Força muscular do Abductor do quinto dedo: () Forte () Diminuída () Paralisada

Força muscular do Abductor do polegar: () Forte () Diminuída () Paralisada

Força muscular do Extensor do punho: () Forte () Diminuída () Paralisada

Membros inferiores:

Nervos espessados () Sim () Não Quantos? _____

Especificar (Escolher quantas opções forem cabíveis)

- 1) Fibular direito 2) Fibular esquerdo 3) Tibial direito 4) Tibial esquerdo

Força muscular do Extensor do hálux: () Forte () Diminuída () Paralisada

Força muscular do Extensor longo dos dedos: () Forte () Diminuída () Paralisada

Força muscular do Tibial anterior: () Forte () Diminuída () Paralisada

Força muscular dos fibulares: () Forte () Diminuída () Paralisada

Avaliação de sensibilidade

Nariz: Sensibilidade alterada: () Sim () Não

Especificar (Escolher quantas opções forem cabíveis)

- 1) Ressecamento 2) Ferida 3) Perfuração de septo

Olhos: Força muscular das Pálpebras: () Forte () Diminuída () Paralisada

Olho direito: Sensibilidade alterada: () Sim () Não

Especificar (Escolher quantas opções forem cabíveis)

- 1) Fecha com força 2) Fecha sem força 3) Triquíase 4) Equitrópico
5) Diminuição da sensibilidade da córnea 6) Opacidade córnea 7) Catarata
8) Acuidade visual

Olho esquerdo: Sensibilidade alterada: () Sim () Não

Especificar (Escolher quantas opções forem cabíveis)

- 1) Fecha com força 2) Fecha sem força 3) Triquíase 4) Equitrópico
5) Diminuição da sensibilidade da córnea 6) Opacidade córnea 7) Catarata
8) Acuidade visual

Estesiometria

Avaliar a sensibilidade com monofilamentos e classificar de acordo com as cores:

- 1) Verde (0,05g)
- 2) Azul (0,02g)
- 3) Violeta (2,0g)
- 4) Vermelho (4g)
- 5) Laranja (10g)
- 6) Rosa (300g)
- 7) Preto (sem sensibilidade)

Mão esquerda

- Polegar
- Falange proximal do dedo indicador
- Falange distal do dedo indicador
- Falange proximal do dedo mínimo
- Falange proximal do dedo mínimo
- Palma da mão
- Dorso da mão

Possui Garra rígida? sim não

Possui Garra móvel? sim não

Mão direita

- Polegar
- Falange proximal do dedo indicador
- Falange distal do dedo indicador
- Falange proximal do dedo mínimo
- Falange proximal do dedo mínimo
- Palma da mão
- Dorso da mão

Possui Garra rígida? sim não

Possui Garra móvel? sim não

Pé esquerdo

- Hálux
- Terceiro artelho
- Quinto artelho
- Região plantar superior
- Região plantar mediana
- Calcâneo

Possui Garra rígida? sim não

Possui Garra móvel? sim não

Pé direito

- Hálux
- Terceiro artelho
- Quinto artelho
- Região plantar superior
- Região plantar mediana
- Calcâneo

Possui Garra rígida? sim não

Possui Garra móvel? sim não

Encaminhado ao serviço de saúde local: Sim Não

Quando (Data) _____

Diagnóstico confirmado:

Sim Não Não avaliado Não se aplica

APÊNDICE C – Protocolo Para Coleta de Sangue



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA



FACULDADE DE ENFERMAGEM

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	REVISÃO 0	PÁGINA 01	CÓDIGO 001
TÍTULO: COLETA DE SANGUE TOTAL POR MEIO DE PUNÇÃO VENOSA.			
Elaborado por: Sarah Lamas Vidal			

1 OBJETIVO: Padronizar a técnica de coleta de sangue por meio de punção venosa, de casos de hanseníase e de seus contatos domiciliares e sócias, em município da zona da mata – MG, para investigação da soropositividade anti-NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID e da concentração sérica de CXCL10 e CCL2.

2 APLICAÇÃO: Este POP aplica-se ao responsável pela coleta de sangue durante as entrevistas realizadas.

3 MATERIAL NECESSÁRIO

1. Maleta para transportar, guardar e apoiar o material da coleta;
2. 01 tubo para coleta de sangue (Vacutainer/Vacurette, com gel separador para obtenção de soro - tampa vermelha, volume 8 ml);
3. Caneta permanente para identificar os tubos;
4. Adaptador para coleta de sangue a vácuo de uso único;
5. Agulha para coleta de sangue a vácuo com dispositivo de segurança, 25x8;
6. Agulha para coleta de sangue 25x8 e 25x7;
7. Seringa de 10 ml
8. Algodão;
9. Álcool 70%;
10. Garrote;
11. Curativo do tipo *blood stop*;
12. Embalagem do tipo Descartak para descarte dos materiais pérfuro-cortantes;
13. Saco de lixo branco, identificado como material biológico;
14. Avental de manga comprida e punho fechado;
15. Luvas descartáveis;
16. Caixa de isopor para armazenar tubos;
17. Gelox para manter as amostras refrigeradas dentro da caixa de isopor.

Nota: o descarte de todo material deve obedecer a Resolução RDC/ Anvisa no 306, de 07 de dezembro de 2004, que dispõe sobre o Regulamento

Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. (<http://www.anvisa.gov.br/legis/index.htm>)

4 TÉCNICA PARA COLETA

1. Colocar o indivíduo acomodado;
 2. Explicar o procedimento que será realizado. No caso de criança explicar também para a pessoa responsável;
 3. Dispor todo o material necessário para a coleta de maneira organizada;
 4. Identificar o tubo para a coleta de sangue com o código alfanumérico;
 5. Lavar as mãos ou usar álcool a 70% em gel;
 6. Calçar as luvas de procedimento;
 7. Verificar o local mais apropriado para ser realizada a punção venosa;
 8. Colocar o garrote no membro do indivíduo, 5 cm acima do local da punção;
 9. Fazer antissepsia com álcool 70%;
 10. Puncionar a veia do paciente em ângulo de 45° e com bisel da agulha voltado para cima;
 11. Encaixar o tubo de coleta de sangue no adaptador, observar o início do fluxo do sangue para o seu interior, aguardar o preenchimento do tubo e retirar o tubo com cuidado para não lesionar o vaso;
 12. Retirar a agulha;
 13. Comprimir o local da punção venosa com algodão seco;
 14. Colocar o curativo *bloodstop* no local da punção;
 15. Acondicionar o tubo com a amostra de sangue na caixa de isopor;
 16. Desconectar a agulha do adaptador utilizando o dispositivo próprio presente no Descartak;
 17. Descartar a agulha no *Descartak*;
 18. Descartar o restante do material utilizado em saco de lixo branco, identificado como material biológico.
- Nota:** ¹Usar os equipamentos de proteção individual durante a coleta. ²Após o último dia de coleta desprezar o recipiente para descarte de perfurocortante em uma instituição de saúde.

APÊNDICE D – Termo De Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Maiores de 18 anos

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (Biorrepositório)

O Sr. (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa **“Teste anti-PGL-1 sintético (NDO-HSA), LID-1 e NDO-LID na vigilância dos casos de hanseníase, dos contatos e da população”**. Para tanto, pedimos a sua autorização para a coleta, o depósito, o armazenamento, a utilização e descarte do material biológico humano sangue, a utilização do material biológico está vinculada somente a este projeto de pesquisa e eventualmente em outros futuros. Nesta pesquisa pretendemos analisar se os testes sorológicos e a dosagem de quimiocinas ajudam na vigilância dos casos de hanseníase, dos contatos domiciliares e sociais, e população.

Para esta pesquisa adotaremos o(s) seguinte(s) procedimento(s): faremos uma entrevista para aplicação de um questionário com perguntas relacionadas ao estudo, realizaremos um exame da pele e dos nervos para identificar possíveis sinais e sintomas sugestivos de hanseníase e coletaremos 2 tubos de sangue de 5 ml cada para análise do teste sorológico e dosagem de quimiocinas. Esses procedimentos serão realizados pela equipe da pesquisa devidamente treinados. O material será armazenado e descartado após o uso no Centro de Tecnologia Celular e Imunologia Aplicada da Universidade Federal de Juiz de Fora. Esta pesquisa confere risco mínimo, uma vez que será realizada entrevista para aplicação do questionário, exame da pele e dos nervos e a coleta de sangue por meio de punção venosa para análise de laboratório. A pesquisa contribuirá para vigilância dos casos de hanseníase, dos contatos domiciliares e da população e os resultados podem contribuir para o planejamento das ações de controle e eliminação da doença no município.

Para participar deste estudo o Sr. (a) não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, o Sr.(a) tem assegurado o direito à indenização. O Sr. (a) terá o esclarecimento sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar e a qualquer tempo e sem quaisquer prejuízos, pode retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado no Biorrepositório, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A sua participação é voluntária, e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que o Sr. (a) é atendido (a). O pesquisador tratará a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados obtidos pela pesquisa, a partir de seu material biológico, estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão.

O (A) Sr. (a) não será identificado (a) em nenhuma publicação que possa resultar.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, na Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Juiz de Fora, e a outra será fornecida ao Sr. (a). Os dados, materiais e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos.

e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções Nº 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____ fui informado (a) dos objetivos da pesquisa **“Teste anti-PGL-1 sintético (NDO-HSA), LID-1 e NDO-LID na vigilância dos casos de hanseníase, dos contatos e da população”**, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

Declaro que concordo em participar desta pesquisa **e de outras que possam futuramente serem realizadas com o meu material biológico coletado.**

Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Você será contatado para consentir, a cada nova pesquisa, sobre a utilização do material biológico armazenado no biorrepositório.

Juiz de Fora, _____ de _____ de 20 .

Assinatura do Participante

Assinatura do (a) Pesquisador (a)

Menores de 18 anos

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO (Biorrepositório)

Você está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa “**Teste anti-PGL-1 sintético (NDO-HSA), LID-1 e NDO-LID na vigilância dos casos de hanseníase, dos contatos e da população**”. Para tanto, pedimos a sua autorização para a coleta, o depósito, o armazenamento, a utilização e descarte do seu **sangue**. A utilização está vinculada somente a este projeto de pesquisa e eventualmente em outros futuros. Nesta pesquisa pretendemos analisar se os testes sorológicos e a dosagem de quimiocinas ajudam na vigilância dos casos de hanseníase, dos contatos domiciliares e sociais, e população.

Para esta pesquisa adotaremos o(s) seguinte(s) procedimento(s): faremos uma entrevista para aplicação de um questionário com perguntas relacionadas ao estudo, realizaremos um exame da pele e dos nervos para identificar possíveis sinais e sintomas sugestivos de hanseníase e coletaremos 2 tubos de sangue de 5 ml cada para análise do teste sorológico e dosagem de quimiocinas. Esses procedimentos serão realizados pela equipe da pesquisa devidamente treinados. O material será armazenado e descartado após o uso no Centro de Tecnologia Celular e Imunologia Aplicada da Universidade Federal de Juiz de Fora. Esta pesquisa confere risco mínimo, uma vez que será realizada entrevista para aplicação do questionário, exame da pele e dos nervos e a coleta de sangue por meio de punção venosa para análise de laboratório. A pesquisa contribuirá para vigilância dos casos de hanseníase, dos contatos domiciliares e da população e os resultados podem contribuir para o planejamento das ações de controle e eliminação da doença no município.

Para participar desta pesquisa, o responsável por você deverá autorizar e assinar um termo de consentimento. Você não terá nenhum custo e nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, você tem assegurado o direito à indenização. Você será esclarecido (a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se. O responsável por você poderá, retirar o consentimento de guarda e utilização do material cedido, valendo a desistência a partir da data de formalização desta ou interromper a sua participação a qualquer momento sem quaisquer prejuízos. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido. O pesquisador que irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Você não será identificado em nenhuma publicação. Os resultados obtidos pela pesquisa, a partir de seu material, estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a permissão do responsável por você.

Você não será identificado (a) em nenhuma publicação que possa resultar.

Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 anos, e após esse tempo serão destruídos.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais: sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida a você. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções Nº 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

Eu, _____, portador (a) do documento de Identidade _____ (se já tiver documento), fui informado (a) dos objetivos da presente pesquisa, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações, e o meu responsável poderá modificar a decisão de participar se assim o desejar.

Tendo o consentimento do meu responsável já assinado, declaro que concordo em participar dessa pesquisa e de outras que possam futuramente ser realizadas com o meu material coletado. Recebi o termo de assentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Você será contatado para consentir, a cada nova pesquisa, sobre a utilização do material biológico armazenado no biorrepositório.

Juiz de Fora, ____ de _____ de 20__.

Menores de 18 anos – Consentimento do Responsável

I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (Biorrepositório)

O menor _____, sob sua responsabilidade, está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa **“Teste anti-PGL-1 sintético (NDO-HSA), LID-1 e NDO-LID na vigilância dos casos de hanseníase, dos contatos e da população”**. Para tanto, pedimos a sua autorização para a coleta, o depósito, o armazenamento, a utilização e descarte do seu sangue. A utilização está vinculada somente a este projeto de pesquisa e eventualmente em outros futuros. Nesta pesquisa pretendemos analisar se os testes sorológicos e a dosagem de quimiocinas ajudam na vigilância dos casos de hanseníase, dos contatos domiciliares e sociais, e população.

O motivo que nos leva a estudar esse assunto é que o Brasil é o segundo colocado em número de casos de hanseníase no mundo e o diagnóstico precisa ser realizado precocemente para conseguir controlar e eliminar a hanseníase. Para isso precisamos investir em pesquisas que ajudem a identificar testes de laboratório que auxiliem o diagnóstico precoce, a vigilância de casos diagnosticados com hanseníase e contatos domiciliares, e identificação de pessoas que apresentam risco elevado de adoecer.

Para esta pesquisa adotaremos o(s) seguinte(s) procedimento(s): faremos uma entrevista para aplicação de um questionário com perguntas relacionadas ao estudo, realizaremos um exame da pele e dos nervos para identificar possíveis sinais e sintomas sugestivos de hanseníase e coletaremos 2 tubos de sangue de 5 ml cada para análise do teste sorológico e dosagem de quimiocinas. Esses procedimentos serão realizados pela equipe da pesquisa devidamente treinados. O material será armazenado e descartado após o uso no Centro de Tecnologia Celular e Imunologia Aplicada da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Para participar desta pesquisa, o menor sob sua responsabilidade não terá nenhum custo e nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, ele tem assegurado o direito à indenização. Ele será esclarecido (a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. O (A) Sr. (a), como responsável pelo menor, poderá retirar o seu consentimento de guarda e utilização do material cedido, valendo a desistência a partir da data de formalização desta ou interromper a sua participação a qualquer momento sem quaisquer prejuízos. A participação dele é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido (a). O pesquisador irá tratar a identidade do menor com padrões profissionais de sigilo. O menor não será identificado em nenhuma publicação. Esta pesquisa confere risco mínimo, uma vez que será realizada entrevista para aplicação do questionário, exame da pele e dos nervos e a coleta de sangue por meio de punção venosa para análise de laboratório. A pesquisa contribuirá para vigilância dos casos de hanseníase, dos contatos domiciliares e da população e os resultados podem contribuir para o planejamento das ações de controle e eliminação da doença no município.

Os resultados a partir do material estarão à sua disposição quando finalizada. O nome ou o material que indique a participação do menor não será liberado sem a sua permissão. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável, por um período de 5 (cinco) anos, e após esse tempo serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, na Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Juiz de Fora e a outra será fornecida ao Sr. (a).

Eu, _____, portador (a) do documento de Identidade _____, responsável pelo menor _____, fui informado (a) dos objetivos do presente estudo de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar a decisão do menor sob minha responsabilidade de participar, se assim o desejar. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Você será contatado para consentir, a cada nova pesquisa, sobre a utilização do material biológico armazenado no biorrepositório.

Juiz de Fora, ____ de _____ de 20 ____.

Assinatura do (a) Responsável

Assinatura do (a) Pesquisador (a)

**ANEXO A - Anuência da Coordenadoria Estadual de Dermatologia Sanitária da
Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais - CEDS/SES/MG**



GOVERNO DO ESTADO DE MINAS GERAIS
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE
Subsecretaria de Vigilância e Proteção à Saúde
Superintendência de Vigilância Epidemiológica, Ambiental e Saúde do Trabalhador
Diretoria de Vigilância de Doenças Crônicas e Agravos Não Transmissíveis
Coordenação Estadual de Dermatologia Sanitária

Autorização

A Coordenadoria Estadual de Dermatologia Sanitária da Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais, aqui representada por sua atual coordenadora, Maria do Carmo Rodrigues de Miranda, autoriza a utilização de informações referentes às notificações de casos de hanseníase do estado de Minas Gerais, contidas na base de dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) - Hanseníase, que será fornecida por esta coordenadoria ao pesquisador responsável.

A identidade dos indivíduos será preservada, seguindo as diretrizes e normas regulamentadoras das pesquisas envolvendo os seres humanos contidas na Resolução 466/2012 da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde do Brasil.

As informações se referem ao projeto de pesquisa "Teste anti-PGL-1 sintético (NDO-HSA), LID-1 e NDO-LID na vigilância dos casos de hanseníase, dos contatos e da população.

O projeto é coordenado pela professora Angélica da Conceição Oliveira Coelho Fabri, da Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Belo Horizonte, 10 de março de 2016.

Atenciosamente,

Maria do Carmo Rodrigues de Miranda
Maria do Carmo Rodrigues de Miranda

Coordenadora Estadual de Dermatologia Sanitária.
Diretoria de Vigilância de Doenças Crônicas e Agravos Não Transmissíveis
Superintendência de Vigilância Epidemiológica, Ambiental e Saúde do Trabalhador.
Secretaria de Estado de Saúde/SES-MG.

ANEXO B - Roteiro Para Realização de Exame Dermatoneurológico – Adaptado

Elaborado por: Ana Paula Mendes Carvalho (CARVALHO, 2012).

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

2 - Avaliação Dermatológica

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

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

- Registrar em formulário de encaminhamento a descrição das lesões e as alterações de sensibilidade encontradas.

3 – Avaliação Neurológica

3.1 Inspeção

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

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

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

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

3.2 – Palpação de nervos

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

Deve-se verificar em cada nervo palpado:

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

Registrar no formulário as alterações identificadas.

- Realizar palpação dos nervos nos membros superiores:

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



Fonte:http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_de_hanseniose.pdf

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



Fonte:http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_de_hanseniose.pdf

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

as polpas dos dedos na face anterior do antebraço, ao longo do trajeto do nervo mediano.



Fonte:http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_de_hanseniose.pdf

- Realizar palpação dos nervos nos membros inferiores:

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



Fonte:http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_de_hanseniose.pdf

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



Fonte:http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_de_hanseniose.pdf

3.3 – Avaliação de força muscular

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

FORÇA		DESCRIÇÃO
Forte	5	Realiza o movimento completo contra a gravidade com resistência.
Diminuída	4	Realiza o movimento completo contra a gravidade com resistência parcial.
	3	Realiza o movimento completo contra a gravidade sem resistência.
	2	Realiza o movimento parcial.
Paralisada	1	Contração muscular sem movimento.
	0	Paralisia (nenhum movimento).

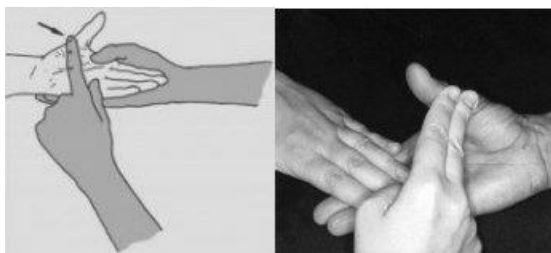
Fonte: Coordenação-Geral de Hanseníase e Doenças em Eliminação – CGHDE/DEVIT/SVS/MS.

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



Fonte: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_de_hanseníase.pdf

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



Fonte: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_de_hanseníase.pdf

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



Fonte: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_de_hanseniose.pdf

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

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



Fonte: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_de_hanseniose.pdf

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



Fonte: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_de_hanseniose.pdf

* **Músculo Extensor Longo dos dedos:** com o paciente sentado com os pés apoiados no chão e o joelho em extensão, o examinador estabiliza o pé e o tornozelo em posição neutra e solicita ao paciente para fazer flexão máxima dos

dedos. O examinador aplica força contrária no dorso das falanges proximais do segundo e quinto dedos.



Fonte:http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_de_hanseniose.pdf

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



Fonte:http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_de_hanseniose.pdf

4 - Pesquisa da Sensibilidade

A presença da sensibilidade cutânea normal depende da integridade do sistema nervoso central e periféricos (troncos nervosos e suas terminações nervosas na pele). Para realização da pesquisa de sensibilidade são necessários alguns cuidados: - explicar ao paciente o exame a ser realizado; - manter a concentração do examinador e do paciente; - ocluir campo de visão do paciente; - selecionar aleatoriamente a seqüência de pontos a serem testados. Tocar a pele deixando tempo suficiente (contar de um a dois) para os pacientes responder, repetir o teste para confirmar resultados em cada ponto, se necessário. - realizar o teste em área próxima, dentro do mesmo território específico, quando na presença de calosidades, cicatrizes ou úlceras;

4.1 - Técnica de avaliação da sensibilidade com estesiômetro.

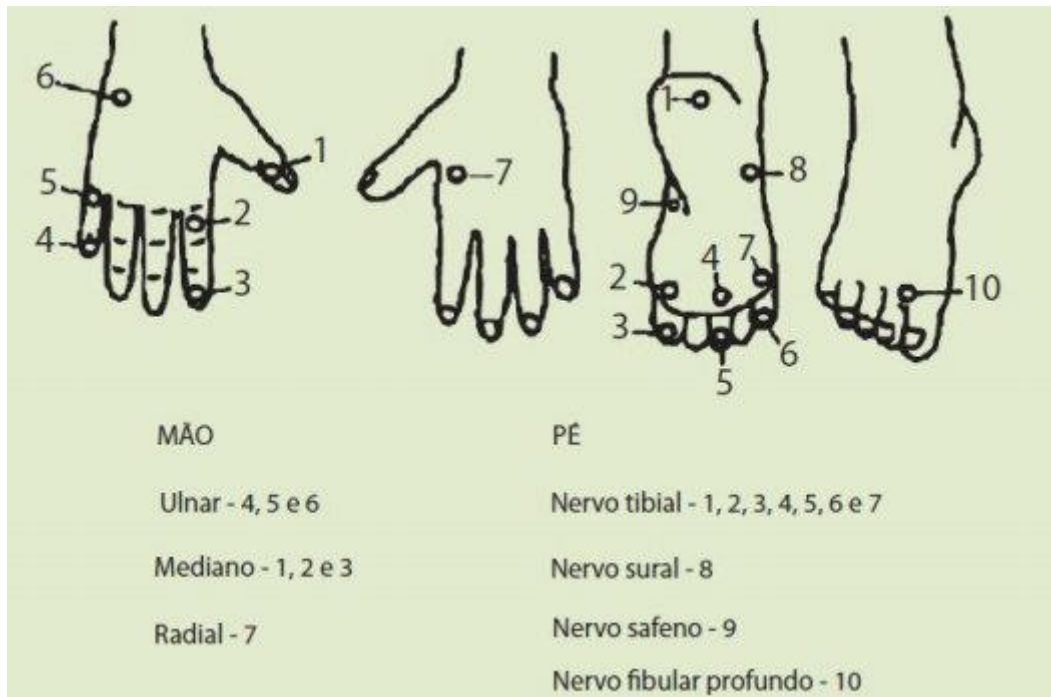
Antes de iniciar o teste, retire os monofilamentos do tubo e encaixe-os cuidadosamente no furo lateral do cabo, dispondo-os em ordem crescente, do mais fino para o mais grosso.

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

Realização do teste de sensibilidade com estesiômetro:








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

Pontos que devem ser testados:



Fonte: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_de_hanseniose.pdf

Legenda dos monofilamentos:

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

Fonte: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_de_hanseniose.pdf

ANEXO C - Formulário de Encaminhamento de Caso Suspeito De Hanseníase

Elaborado por: Ana Paula Mendes Carvalho (CARVALHO, 2012).

Dados do usuário

Nome: _____

Endereço completo: _____

Dados Clínicos

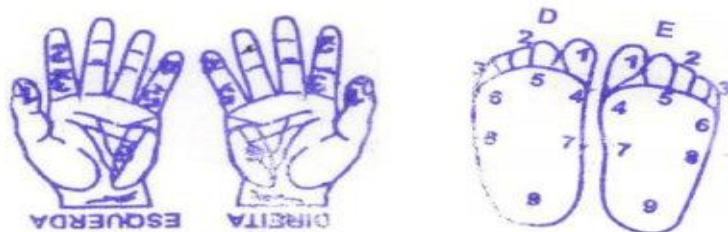
Queixa:

Avaliação dermatoneurológica (alterações):

Palpação de nervos (alterações):

Avaliação de força muscular (alterações):

Avaliação de sensibilidade



Data: ___/___/___.

Nome de quem realizou a avaliação: _____.

ANEXO D – Ficha de Avaliação Neurológica Simplificada

MINISTÉRIO DA SAÚDE
Secretaria de Vigilância em Saúde
Departamento de Vigilância em Doenças Transmissíveis
Coordenação-Geral de Hanseníase e Doenças de Eliminação




FORMULÁRIO PARA AVALIAÇÃO NEUROLÓGICA SIMPLIFICADA

Nome _____ Data Nasc. ___/___/___
 Ocupação: _____ Sexo: M F
 Município _____ Unidade Federada _____
 Classificação Operacional PB B Data início PQT: ___/___/___ Data Alta PQT: ___/___/___

FACE	1 ^a / /		2 ^a / /		3 ^a / /	
Nariz	D	E	D	E	D	E
Queixa principal						
Ressecamento (S/N)						
Ferida (S/N)						
Perfuração de septo (S/N)						
Olhos	D	E	D	E	D	E
Queixa principal						
Fecha olhos s/ força (mm)						
Fecha olhos c/ força (mm)						
Triquiase (S/N) / Ectrópio (S/N)						
Diminuição da sensibilidade da córnea (S/N)						
Opacidade córnea (S/N)						
Catarata (S/N)						
Acuidade Visual						



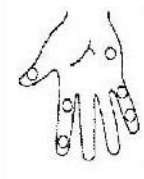
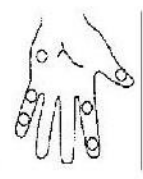
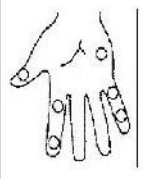

Membros Superiores	1 ^a / /		2 ^a / /		3 ^a / /	
Palpação de nervos	D	E	D	E	D	E
Queixa principal						
Ulnar						
Mediano						
Radial						

Legenda: N = normal E = espessado D = dor



Avaliação da Força	1 ^a / /		2 ^a / /		3 ^a / /	
	D	E	D	E	D	E
Abriu dedo mínimo Abdução do 5 ^o dedo (nervo ulnar) 						
Elevar o polegar Abdução do polegar (nervo mediano) 						
Elevar o punho Extensão de punho (nervo radial) 						

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

Inspeção e Avaliação Sensitiva



1 ^a / /		2 ^a / /		3 ^a / /	
D	E	D	E	D	E
					

Legenda: Canela/filamento lilás (2g): Sente ✓ Não sente X ou Monofilamentos: seguir cores

Garra móvel: M Garra rígida: R Reabsorção:  Ferida: 

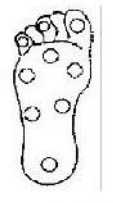
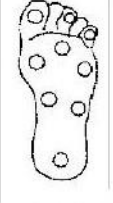
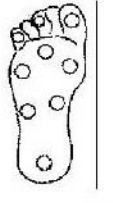
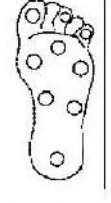
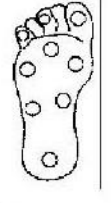
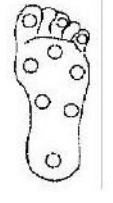
MEMBROS INFERIORES						
	1ª / /		2ª / /		3ª / /	
Queixa principal						
Palpação de nervos	D	E	D	E	D	E
Fibular						
Tibial						

Legenda: N = normal E = espessaco D = dor

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

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

Inspeção e Avaliação Sensitiva

1ª / /		2ª / /		3ª / /	
D	E	D	E	D	E
					

Legenda: Caneta/filamento lilás (2g): Sente ✓ Não sente X ou Monofilamentos: seguir cores
Garra móvel: M Garra rígida: R Reabsorção: // Ferida: □

Fonte: BRASIL, 2016, P. 57 E 58.

ANEXO E - Protocolo de Análise Laboratorial – Adaptado

Elaborado por: Angélica C. O. Coelho Fabri e Sérgio Araújo (FABRI, 2015).

Adaptado por: Sarah Lamas Vidal e Kyssia Paiva em 09/01/2019

1. TÍTULO

Procedimento de análise da reatividade de anticorpo ANTI-NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID

2. PROPÓSITO

Analisar a reatividade de anticorpos da classe IgM anti-PGL-1, utilizando seu análogo sintético NDO conjugado a HSA, da classe IgG anti-LID-1 e das classes IgG e IgM anti-NDO-LID.

3. PRECAUÇÕES

Equipamento de Proteção Individual (EPI) deve ser utilizado durante todo o processo; Observe as instruções de uso e precauções no rótulo e manuais dos reagentes e equipamentos utilizados.

4. CONDIÇÕES DO AMBIENTE / EXIGÊNCIAS

O preparo das soluções e os procedimentos devem ser realizados em laboratório e toda vidraria utilizada deve estar devidamente limpa.

5. MATERIAIS

PBS

Solução de Lavagem (PBS-T)

Solução bloqueadora (PBS1% BSA)

Soro padrão

Soro controle positivo

Soro controle negativo

Conjugado

Substrato (OPD = O-phenylenediamine)

Stop solution (ácido sulfurico)

Equipamento

Placas de ELISA

Pipetas

Ponteiras

Leitora de ELISA

6. SOLUÇÕES UTILIZADAS

- PBS 0,05% Tween-20

Tween -20

500µl

PBS

1 L

-	PBS	1X	BSA	1%	(Bovine	Serum	Albumin)
	PBS					350	ml
	BSA					3,5 g	

- Tampão Carbonato (100ml – pH 9,6)

* Solução A: 0,84g de NaHCO₃ em 10mL de água destilada

* Solução B: 0,53g de Na₂CO₃ em 5mL de água destilada

*Adicionar 4,532mL da Sol. A + 1,82mL da Sol. B. Completar com água destilada qsp100mL no balão volumétrico.

*Ajustar pH 9,6

- Tampão Citrato de Fosfato (100ml – pH 5,5)

- * Solução A: 0,595g de Na₂HPO₄ em 50mL de água destilada
- * Solução B: 0,35g de ácido cítrico monohidratado em 50mL de água destilada
- *Misturar na proporção 1:1
- *Ajustar pH 5,5

- OPD

Tampão citrato de fosfato	10 ml
OPD	0,01g
H ₂ O ₂	10µl

-	Ácido	Sulfúrico	2,5	N
H ₂ SO ₄ (P.A.)			70	ml
H ₂ O			930 ml	

7. PROCEDIMENTO

7.1 Preparo do antígeno:

- Ressuspender o vial contendo NDO-HSA , LID-1 ou NDO-LID (0.5mg) com 1mL de água ultra pura para se obter a concentração final de 0,5µg/µl para NDO-HSA, 1µg/µl para LID-1, 0,5µg/µl para NDO-LID
- Fazer alíquotas de 50µl.
- Armazenar a -20°C.

7.2 Sensibilização:

- Concentração dos antígenos por poço:
 - NDO-HSA: 0,2µg/ml;
 - LID-1: 1µg/ml;
 - LID-NDO: 0,2µg/ml;
- Para cada placa deve-se diluir 2µl do antígeno NDO-HSA, 5µl do antígeno LID-1 e 2µl do antígeno LID-NDO em 5ml de tampão de sensibilização (carbonato de sódio Na₂CO₃ + bicarbonato de sódio NaHCO₃);
- Transferir 50µl do antígeno diluído para cada poço da placa;
- Cobrir a placa com fita adesiva;
- Incubar overnight a 4°C.

7.3 Bloqueio

Descartar toda a solução da placa (por inversão) e bater;
Adicionar 300µl da solução de bloqueio (PBS 1X + BSA 1%) em toda placa;
Incubar por 1 hora a 37°C;

7.4 Diluição do Soro

Adicionar 4,33 µl de soro teste em 1295,67ml de PBS 1X + BSA 1%, que corresponde a uma diluição de 1:300.

7.5 Adição das amostras

Descartar toda a solução da placa com a solução de bloqueio (por inversão) e bater.

- Adicionar 50µl de soro 1:300, conforme diagrama de teste no item 8.
- Cobrir a placa e incubar por 1h a 37°C.

Obs: Ter sempre em cada placa soros controle positivo e negativo diluídos 1:300 em PBS 1X + BSA 1%. Distribuir conforme diagrama de teste.

7.6 Anticorpo secundário

- Diluir 1µl do anticorpo secundário IgM em 9.999 µl de PBS1% BSA (concentração final: 1:10.000);
- Transferir 50µl para as placas contendo NDO-HSA;
- Diluir 1µl do anticorpo secundário IgG em 9.999 µl de PBS1% BSA (concentração final: 1:10.000);
- Transferir 50µl para as placas contendo LID-1;
- Diluir 1µl dos anticorpos secundários IgM e 2 µl de IgG em 19.997µl de PBS1% BSA (concentração final: 1:20.000 e 1:10.000);
- Transferir 50µl para as placas contendo NDO-LID;
- Cobrir a placa e incubar por 1h a 37°C.

7.7 Adição de OPD

- Lavar a placa 4X com 300µl de solução de lavagem, deixando a solução da última lavagem na placa por 5min;
- Transferir 50µl do OPD para toda a placa
- Incubar por 5 min a temperatura ambiente (no escuro).

7.8 Leitura das placas

- Adicionar 50µl de H₂SO₄ 2,5N;
- Ler a placa em espectrofotômetro a 492nm;

8. DIAGRAMA DE TESTE

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Antígeno	A											
Antígeno	B											
Antígeno	C											
Antígeno	D											
Antígeno	E											
Antígeno	F											
Antígeno	G							Ct+	Ct-	Ct-	Ct-	Br
Antígeno	H							Ct+	Ct-	Ct-	Ct-	Br

Ct+ = Amostra de casos novos de hanseníase sabidamente positivo

Ct- = Amostra de indivíduo com sorologia negativa

Br = Branco

Antígenos: NDO-HSA; LID-1 ou; NDO-LID

9. CÁLCULOS

O título de anticorpo deverá ser expresso em índice ELISA (IE) de acordo com a fórmula $IE = OD \text{ (amostra)} / OD \text{ (cut-off)}$. O valor do cut-off deverá ser determinado pela média da OD dos três controles negativos mais três vezes o desvio padrão (LOBATO *et al.*, 2006). O valor do IE igual ou superior a 1.1 será considerado positivo (FABRI *et al.*, 2015).

ANEXO F - Protocolo de Análise Laboratorial CCL2



Human CCL2/MCP-1 DuoSet ELISA, 5 Plate

Catalog Number: DY279-05

Expiration: 09 Feb 2023

Lot: P170213

Certificate of Analysis

SPECIFICATIONS

REAGENT	PART NUMBER	# OF VIALS	AMOUNT PER VIAL	WORKING CONCENTRATION	LOT #
Capture	840204	1	60.0 µg	1.00 µg/mL	JU1318041
Detection	840205	1	1.50 µg	25.0 ng/mL	AKY2018041
Standard	840206	1	70.0 ng	15.6-1000 pg/mL	1372789
Streptavidin-HRP*	893975	1	N/A	40-fold dilution	P164339

PREPARATION & STORAGE

Store unopened kit at 2-8 °C. Do not use past kit expiration date.

REAGENT	PREPARATION	STORAGE OF OPENED/RECONSTITUTED MATERIAL
Capture	Reconstitute with 0.5 mL of PBS	Store at 2-8 °C for up to 8 weeks or aliquot and store at -20 °C to -70 °C in a manual defrost freezer for up to 12 weeks.*
Detection	Reconstitute with 1.0 mL of Reagent Diluent	
Standard	Reconstitute with 0.5 mL of Reagent Diluent	Store reconstituted standard at 2-8 °C for up to 8 weeks or aliquot and store at -70 °C for up to 12 weeks.*
Streptavidin-HRP*	Dilute with Reagent Diluent	Store undiluted at 2-8 °C for up to 12 weeks. DO NOT FREEZE!*

*Provided this is within the expiration date of the kit.

It is hereby certified that the above product has been tested for proper performance and function under our established Quality Control Testing criteria. It is authorized by our Quality Assurance program to be released for sale.

Diane R. Wotta, Ph.D.
Sr. Director, Quality and Regulatory Affairs
This C of A was updated on 4/12/2018, Rev. 0

For Research Use or Further Manufacturing Purposes Only

Invent# 727481 M09 2220

Global bio-techne.com info@bio-techne.com techsupport@bio-techne.com TEL +1 612 379 2956
USA TEL 800 343 7475 Canada TEL 855 668 8722 China TEL +86 (21) 52380373
Europe | Middle East | Africa TEL +44 (0)1235 528449

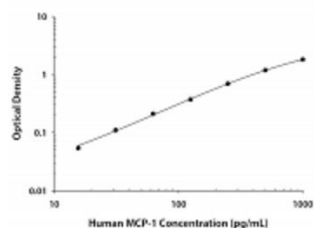
CALCULATION OF RESULTS

Average the duplicate readings for each standard, control, and sample and subtract the average zero standard optical density (O.D.).

Create a standard curve by reducing the data using computer software capable of generating a four parameter logistic (4-PL) curve-fit. As an alternative, construct a standard curve by plotting the mean absorbance for each standard on the y-axis against the concentration on the x-axis and draw a best fit curve through the points on the graph. The data may be linearized by plotting the log of the human MCP-1 concentrations versus the log of the O.D. and the best fit line can be determined by regression analysis. This procedure will produce an adequate but less precise fit of the data. If samples have been diluted, the concentration read from the standard curve must be multiplied by the dilution factor.

TYPICAL DATA

This standard curve is only for demonstration purposes. A standard curve should be generated for each set of samples assayed.



SPECIFICITY

The following factors prepared at 50 ng/mL were assayed and exhibited no cross-reactivity or interference.

Recombinant human:	Recombinant mouse:
MCP-2	JE/MCP-1
MCP-3	MCP-5
MCP-4	MARC

TECHNICAL HINTS & LIMITATIONS

- We recommend the use of R&D Systems' Reagent Diluent Concentrate 2 (Catalog # DY995) to prepare Reagent Diluent for use in this assay.
- The use of high quality Bovine Serum Albumin (BSA) for the Reagent Diluent is crucial for the optimum performance of the DuoSet ELISA Development kit. Impurities such as proteases, binding proteins, soluble receptors or other interfering substances can be found to varying degrees in virtually all BSA preparations and can inhibit or interfere with the detection of certain analytes. If the standard curve appears suppressed, consider evaluating a different preparation of BSA.
- It is suggested to start Reagent Diluent optimization for serum and plasma samples by using PBS supplemented with 10-50% animal serum. Do not use buffers with animal serum to reconstitute or dilute the Detection Antibody or Streptavidin-HRP.
- It is important that the Reagent Diluent selected for reconstitution and dilution of the standard reflects the environment of the samples being measured.
- Avoid microbial contamination of reagents and buffers.
- A thorough and consistent wash technique is essential for proper assay performance. Wash Buffer should be dispensed forcefully and removed completely from the wells by aspiration or decanting. Remove any remaining Wash Buffer by inverting the plate and blotting it against clean paper towels.
- Individual results may vary due to differences in technique, plasticware and water sources.
- It is recommended that all standards and samples be assayed in duplicate.
- The use of PBS from tablets may interfere in this assay.

TROUBLESHOOTING

Note: For more detailed troubleshooting, please visit: www.RnDSystems.com/ELISADevelopment

Poor Standard Curve

- Impure BSA used for Reagent Diluent preparation.
- Improper reconstitution and/or storage of standard.
- Improper dilution of highest standard and standard curve.
- Incomplete washing and/or aspiration of wells.
- Unequal volumes added to wells/pipetting error.
- Incorrect incubation times or temperatures.

Poor Precision

- Unequal volumes added to wells/pipetting error.
- Incomplete washing and/or aspiration of wells.
- Unequal mixing of reagents.

Low or No Color Development

- Inadequate volume of substrate added to wells.
- Incorrect incubation times or temperatures.
- Impure BSA used for Reagent Diluent preparation.

DuoSet® ELISA
DEVELOPMENT SYSTEM

Human CCL2/MCP-1

Catalog Numbers: DY279-05 (5 plates)
DY279 (15 plates)

INTENDED USE

For the development of sandwich ELISAs to measure natural and recombinant human Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1). The Reagent Diluent recommended may be suitable for most cell culture supernate, serum, and plasma samples. The Reagent Diluent selected for use can alter the performance of an immunoassay. Reagent Diluent optimization for samples with complex matrices such as serum and plasma, may improve their performance in this assay.

This kit contains sufficient materials to run ELISAs on at least five 96 well plates, provided the following conditions are met:

- The reagents are prepared as described in this package insert.
- The assay is run as described in the General ELISA Protocol.
- The recommended microplates, buffers, diluents, substrates, and solutions are used.

This package insert must be read in its entirety before using this product.

Refer to the Certificate of Analysis for component concentrations as they may vary. For research use only. Not for use in diagnostic procedures.

MANUFACTURED AND DISTRIBUTED BY:

USA & Canada | R&D Systems, Inc.
614 McKinley Place NE, Minneapolis, MN 55413, USA
TEL: (800) 343-7475 (612) 379-2956 FAX: (612) 656-4400
E-MAIL: info@RnDSystems.com

DISTRIBUTED BY:

UK & Europe | R&D Systems Europe, Ltd.
19 Barton Lane, Abingdon Science Park, Abingdon OX14 3NB, UK
TEL: +44 (0)1235 529449 FAX: +44 (0)1235 533420
E-MAIL: info@RnDSystems.co.uk

China | R&D Systems China Co., Ltd.

24A1 Hua Min Empire Plaza, 726 West Yan An Road, Shanghai PRC 200050
TEL: +86 (21) 52380373 FAX: +86 (21) 52371001
E-MAIL: info@RnDSystemsChina.com.cn

OTHER MATERIALS & SOLUTIONS REQUIRED

DuoSet Ancillary Reagent Kit 2 (5 plates): (R&D Systems, Catalog # DY008) containing 96 well microplates, plate sealers, substrate solution, stop solution, plate coating buffer (PBS), wash buffer, and Reagent Diluent Concentrate 2.

The components listed above may be purchased separately:

96 well microplates: (R&D Systems, Catalog # DY990).

Plate Sealers: (R&D Systems, Catalog # DY992).

PBS: 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 8.1 mM Na₂HPO₄, 1.5 mM KH₂PO₄, pH 7.2-7.4, 0.2 µm filtered (R&D Systems, Catalog # DY006).

Wash Buffer: 0.05% Tween® 20 in PBS, pH 7.2-7.4 (R&D Systems, Catalog # WA126).

Reagent Diluent: 1% BSA in PBS, pH 7.2-7.4, 0.2 µm filtered (R&D Systems, Catalog # DY995).

Quality of BSA is critical (see Technical Hints).

Substrate Solution: 1:1 mixture of Color Reagent A (H₂O₂) and Color Reagent B (Tetramethylbenzidine) (R&D Systems, Catalog # DY999).

Stop Solution: 2 N H₂SO₄ (R&D Systems, Catalog # DY994).

PRECAUTIONS

Some components in this kit contain ProClin® which may cause an allergic skin reaction. Avoid breathing mist.

The Stop Solution suggested for use with this kit is an acid solution.

The Color Reagent B suggested for use with this kit may cause skin, eye, and respiratory irritation. Avoid breathing fumes.

Wear protective gloves, clothing, eye, and face protection. Wash hands thoroughly after handling. Please refer to the MSDS on our website prior to use.

CALIBRATION

This DuoSet is calibrated against a highly purified E. coli-expressed recombinant human MCP-1 produced at R&D Systems.

MATERIALS PROVIDED & STORAGE CONDITIONS

Store the unopened kit at 2-8 °C. Do not use past kit expiration date.

DESCRIPTION	PART #	CATALOG # DY279-05	CATALOG # DY279	STORAGE OF OPENED/ RECONSTITUTED MATERIAL
Human MCP-1 Capture Antibody	840304	1 vial	3 vials	Refer to the lot-specific Certificate of Analysis (C of A) for storage conditions.
Human MCP-1 Detection Antibody	840305	1 vial	3 vials	
Human MCP-1 Standard	840306	1 vial	3 vials	
Streptavidin-HRP	893875	1 vial	3 vials	

REAGENT PREPARATION

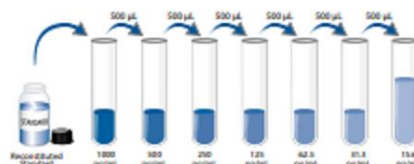
Bring all reagents to room temperature before use. Allow all components to sit for a minimum of 15 minutes with gentle agitation after initial reconstitution. Working dilutions should be prepared and used immediately.

Streptavidin-HRP: Each vial contains 2.0 mL of streptavidin conjugated to horseradish-peroxidase. Dilute to the working concentration specified on the vial label using Reagent Diluent.

Mouse Anti-Human MCP-1 Capture Antibody: Refer to the lot-specific C of A for amount supplied. Reconstitute each vial with 0.5 mL of PBS. Dilute in PBS without carrier protein to the working concentration indicated on the C of A.

Biotinylated Goat Anti-Human MCP-1 Detection Antibody: Refer to the lot-specific C of A for amount supplied. Reconstitute each vial with 1.0 mL of Reagent Diluent. Dilute in Reagent Diluent to the working concentration indicated on the C of A.

Recombinant Human MCP-1 Standard: Refer to the lot-specific C of A for amount supplied. Reconstitute each vial with 0.5 mL of Reagent Diluent. A seven point standard curve using 2-fold serial dilutions in Reagent Diluent is recommended. Prepare 1000 µL of high standard per plate assayed at the concentration indicated on the C of A.



All trademarks and registered trademarks are the property of their respective owners.

GENERAL ELISA PROTOCOL

Plate Preparation

- Dilute the Capture Antibody to the working concentration in PBS without carrier protein. Immediately coat a 96-well microplate with 100 µL per well of the diluted Capture Antibody. Seal the plate and incubate overnight at room temperature.
- Aspirate each well and wash with Wash Buffer, repeating the process two times for a total of three washes. Wash by filling each well with Wash Buffer (400 µL) using a squirt bottle, manifold dispenser, or autowasher. Complete removal of liquid at each step is essential for good performance. After the last wash, remove any remaining Wash Buffer by aspirating or by inverting the plate and blotting it against clean paper towels.
- Block plates by adding 300 µL of Reagent Diluent to each well. Incubate at room temperature for a minimum of 1 hour.
- Repeat the aspiration/wash as in step 2. The plates are now ready for sample addition.

Assay Procedure

- Add 100 µL of sample or standards in Reagent Diluent, or an appropriate diluent, per well. Cover with an adhesive strip and incubate 2 hours at room temperature.
- Repeat the aspiration/wash as in step 2 of Plate Preparation.
- Add 100 µL of the Detection Antibody, diluted in Reagent Diluent, to each well. Cover with a new adhesive strip and incubate 2 hours at room temperature.
- Repeat the aspiration/wash as in step 2 of Plate Preparation.
- Add 100 µL of the working dilution of Streptavidin-HRP to each well. Cover the plate and incubate for 20 minutes at room temperature. Avoid placing the plate in direct light.
- Repeat the aspiration/wash as in step 2.
- Add 100 µL of Substrate Solution to each well. Incubate for 20 minutes at room temperature. Avoid placing the plate in direct light.
- Add 50 µL of Stop Solution to each well. Gently tap the plate to ensure thorough mixing.
- Determine the optical density of each well immediately, using a microplate reader set to 450 nm. If wavelength correction is available, set to 540 nm or 570 nm. If wavelength correction is not available, subtract readings at 540 nm or 570 nm from the readings at 450 nm. This subtraction will correct for optical imperfections in the plate. Readings made directly at 450 nm without correction may be higher and less accurate.

ANEXO G - Protocolo de Análise Laboratorial CXCL10



Human CXCL10/IP-10 DuoSet ELISA, 15 Plate

Catalog Number: DY266

Expiration: 09 Sep 2019

Lot: 342382

Certificate of Analysis

SPECIFICATIONS

REAGENT	PART NUMBER	# OF VIALS	AMOUNT PER VIAL	WORKING CONCENTRATION	LOT #
Capture	840420	3	120 µg	2.00 µg/mL	ADN0410051
Detection	840421	3	0.750 µg	12.5 ng/mL	AAP1410051
Standard	840422	3	55.0 ng	31.2-2000 pg/mL	1366072
Streptavidin-HRP*	893975	3	N/A	40-fold dilution	338391

PREPARATION & STORAGE

Store unopened kit at 2-8 °C. Do not use past kit expiration date.

REAGENT	PREPARATION	STORAGE OF OPENED/RECONSTITUTED MATERIAL
Capture	Reconstitute with 0.5 mL of PBS	Store at 2-8 °C for up to 8 weeks or aliquot and store at -20 °C to -70 °C in a manual defrost freezer for up to 12 weeks.*
Detection	Reconstitute with 1.0 mL of Reagent Diluent	
Standard	Reconstitute with 0.5 mL of Reagent Diluent	Store reconstituted standard at 2-8 °C for up to 8 weeks or aliquot and store at -70 °C for up to 12 weeks.*
Streptavidin-HRP*	Dilute with Reagent Diluent	Store undiluted at 2-8 °C for up to 12 weeks. DO NOT FREEZE.*

*Provided this is within the expiration date of the kit.

It is hereby certified that the above product has been tested for proper performance and function under our established Quality Control Testing criteria. It is authorized by our Quality Assurance program to be released for sale.

Diane R. Woffa, Ph.D.
Sr. Director, Quality and Regulatory Affairs
This C of A was updated on 6/16/2016, Rev. 0

biotechne	800-541-7366	855-1100	FOR RESEARCH USE ONLY. NOT FOR USE IN HUMANS.	
bio.techne.com	North America	Europe - Middle East - Africa	China	Rest of World
info@bio.techne.com			info.cn@bio.techne.com	bio.techne.com/Rest-of-World
techsupport@bio.techne.com	TEL: 800-541-7375	TEL: +44 (0) 1235 529649	TEL: +86 (21) 5296373	TEL: +81 378 2090
Bio Techne is a trading name for R&D Systems.				

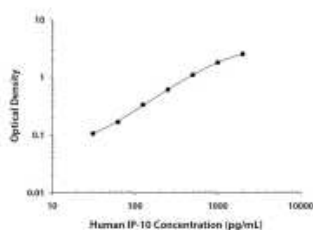
CALCULATION OF RESULTS

Average the duplicate readings for each standard, control, and sample and subtract the average zero standard optical density (O.D.).

Create a standard curve by reducing the data using computer software capable of generating a four parameter logistic (4-PL) curve-fit. As an alternative, construct a standard curve by plotting the mean absorbance for each standard on the y-axis against the concentration on the x-axis and draw a best fit curve through the points on the graph. The data may be linearized by plotting the log of the human IP-10 concentrations versus the log of the O.D. and the best fit line can be determined by regression analysis. This procedure will produce an adequate but less precise fit of the data. If samples have been diluted, the concentration read from the standard curve must be multiplied by the dilution factor.

TYPICAL DATA

This standard curve is only for demonstration purposes. A standard curve should be generated for each set of samples assayed.



SPECIFICITY

The following factors prepared at 50 ng/mL were assayed and exhibited no cross-reactivity or interference.

Recombinant human:
GRO α
NRG1- β 1/H9G1- β 1
Lymphotactin
MIG
TNF- α
TYK-2

Recombinant mouse:
IP-10/CRG-2

TECHNICAL HINTS & LIMITATIONS

- We recommend the use of R&D Systems' Reagent Diluent Concentrate 2 (Catalog # DY995) to prepare Reagent Diluent for use in this assay.
- The use of high quality Bovine Serum Albumin (BSA) for the Reagent Diluent is crucial for the optimum performance of the DuoSet ELISA Development kit. Impurities such as proteases, binding proteins, soluble receptors or other interfering substances can be found to varying degrees in virtually all BSA preparations and can inhibit or interfere with the detection of certain analytes. If the standard curve appears suppressed, consider evaluating a different preparation of BSA.
- It is suggested to start Reagent Diluent optimization for serum and plasma samples by using PBS supplemented with 10-50% animal serum. Do not use buffers with animal serum to reconstitute or dilute the Detection Antibody or Streptavidin-HRP.
- It is important that the Reagent Diluent selected for reconstitution and dilution of the standard reflects the environment of the samples being measured.
- Avoid microbial contamination of reagents and buffers.
- A thorough and consistent wash technique is essential for proper assay performance. Wash Buffer should be dispensed forcefully and removed completely from the wells by aspiration or decanting. Remove any remaining Wash Buffer by inverting the plate and blotting it against clean paper towels.
- Individual results may vary due to differences in technique, plasticware and water sources.
- It is recommended that all standards and samples be assayed in duplicate.
- The use of PBS from tablets may interfere in this assay.

TROUBLESHOOTING

Note: For more detailed troubleshooting, please visit: www.RnDSystems.com/ELISADevelopment

Poor Standard Curve

- Impure BSA used for Reagent Diluent preparation.
- Improper reconstitution and/or storage of standard.
- Improper dilution of highest standard and standard curve.
- Incomplete washing and/or aspiration of wells.
- Unequal volumes added to wells/pipetting error.
- Incorrect incubation times or temperatures.

Poor Precision

- Unequal volumes added to wells/pipetting error.
- Incomplete washing and/or aspiration of wells.
- Unequal mixing of reagents.

Low or No Color Development

- Inadequate volume of substrate added to wells.
- Incorrect incubation times or temperatures.
- Impure BSA used for Reagent Diluent preparation.

DuoSet® ELISA
DEVELOPMENT SYSTEM

Human CXCL10/IP-10

Catalog Numbers: DY266-05 (5 plates)
DY266 (15 plates)

INTENDED USE

For the development of sandwich ELISAs to measure natural and recombinant human Interferon-inducible Protein 10 (IP-10). The Reagent Diluent recommended may be suitable for most cell culture supernate, serum, and plasma samples. The Reagent Diluent selected for use can alter the performance of an immunoassay. Reagent Diluent optimization for samples with complex matrices such as serum and plasma, may improve their performance in this assay.

This kit contains sufficient materials to run ELISAs on at least five 96 well plates, provided the following conditions are met:

- The reagents are prepared as described in this package insert.
- The assay is run as described in the General ELISA Protocol.
- The recommended microplates, buffers, diluents, substrates, and solutions are used.

This package insert must be read in its entirety before using this product.

Refer to the Certificate of Analysis for component concentrations as they may vary. For research use only. Not for use in diagnostic procedures.

MANUFACTURED AND DISTRIBUTED BY:

USA & Canada | R&D Systems, Inc.
614 McKinley Place NE, Minneapolis, MN 55413, USA
TEL: (800) 343-7475 (612) 379-2956 FAX: (612) 656-4400
E-MAIL: info@RnDSystems.com

DISTRIBUTED BY:

UK & Europe | R&D Systems Europe, Ltd.
19 Barton Lane, Abingdon Science Park, Abingdon OX14 3NB, UK
TEL: +44 (0)1235 529449 FAX: +44 (0)1235 533420
E-MAIL: info@RnDSystems.co.uk

China | R&D Systems China Co., Ltd.

24A1 Hua Min Empire Plaza, 726 West Yan An Road, Shanghai PRC 200050
TEL: +86 (21) 52380373 FAX: +86 (21) 52371001
E-MAIL: info@RnDSystemsChina.com.cn

OTHER MATERIALS & SOLUTIONS REQUIRED

DuoSet Ancillary Reagent Kit 2 (5 plates):

(R&D Systems, Catalog # DY008) containing 96 well microplates, plate sealers, substrate solution, stop solution, plate coating buffer (PBS), wash buffer, and Reagent Diluent Concentrate 2.

The components listed above may be purchased separately:

96 well microplates: (R&D Systems, Catalog # DY990).

Plate Sealers: (R&D Systems, Catalog # DY992).

PBS: 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 8.1 mM Na_2HPO_4 , 1.5 mM KH_2PO_4 , pH 7.2-7.4, 0.2 μm filtered (R&D Systems, Catalog # DY006).

Wash Buffer: 0.05% Tween® 20 in PBS, pH 7.2-7.4 (R&D Systems, Catalog # WA126).

Reagent Diluent: 1% BSA in PBS, pH 7.2-7.4, 0.2 μm filtered (R&D Systems, Catalog # DY995).

Quality of BSA is critical (see Technical Hints).

Substrate Solution: 1:1 mixture of Color Reagent A (H_2O_2) and Color Reagent B (Tetramethylbenzidine) (R&D Systems, Catalog # DY999).

Stop Solution: 2 N H_2SO_4 (R&D Systems, Catalog # DY994).

PRECAUTIONS

Some components in this kit contain ProClin® which may cause an allergic skin reaction. Avoid breathing mist.

The Stop Solution suggested for use with this kit is an acid solution.

The Color Reagent B suggested for use with this kit may cause skin, eye, and respiratory irritation. Avoid breathing fumes.

Wear protective gloves, clothing, eye, and face protection. Wash hands thoroughly after handling. Please refer to the MSDS on our website prior to use.

CALIBRATION

This DuoSet is calibrated against a highly purified *E. coli*-expressed recombinant human IP-10 produced at R&D Systems.

MATERIALS PROVIDED & STORAGE CONDITIONS

Store the unopened kit at 2-8 °C. Do not use past kit expiration date.

DESCRIPTION	PART #	CATALOG # DY268-01	CATALOG # DY268	STORAGE OF OPENED/ RECONSTITUTED MATERIAL
Human IP-10 Capture Antibody	84040	1 vial	3 vials	Refer to the lot-specific Certificate of Analysis (C of A) for storage conditions.
Human IP-10 Detection Antibody	84041	1 vial	3 vials	
Human IP-10 Standard	84042	1 vial	3 vials	
Streptavidin-HRP	891875	1 vial	3 vials	

REAGENT PREPARATION

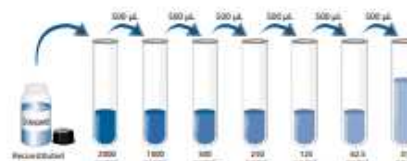
Bring all reagents to room temperature before use. Allow all components to sit for a minimum of 15 minutes with gentle agitation after initial reconstitution. Working dilutions should be prepared and used immediately.

Streptavidin-HRP: Each vial contains 2.0 mL of streptavidin conjugated to horseradish-peroxidase. Dilute to the working concentration specified on the vial label using Reagent Diluent.

Mouse Anti-Human IP-10 Capture Antibody: Refer to the lot-specific C of A for amount supplied. Reconstitute each vial with 0.5 mL of PBS. Dilute in PBS without carrier protein to the working concentration indicated on the C of A.

Biotinylated Goat Anti-Human IP-10 Detection Antibody: Refer to the lot-specific C of A for amount supplied. Reconstitute each vial with 1.0 mL of Reagent Diluent. Dilute in Reagent Diluent to the working concentration indicated on the C of A.

Recombinant Human IP-10 Standard: Refer to the lot-specific C of A for amount supplied. Reconstitute each vial with 0.5 mL of Reagent Diluent. A seven point standard curve using 2-fold serial dilutions in Reagent Diluent is recommended. Prepare 1000 μL of high standard per plate assayed at the concentration indicated on the C of A.



All trademarks and registered trademarks are the property of their respective owners.

GENERAL ELISA PROTOCOL


Plate Preparation

- Dilute the Capture Antibody to the working concentration in PBS without carrier protein. Immediately coat a 96-well microplate with 100 μL per well of the diluted Capture Antibody. Seal the plate and incubate overnight at room temperature.
- Aspirate each well and wash with Wash Buffer, repeating the process two times for a total of three washes. Wash by filling each well with Wash Buffer (400 μL) using a squirt bottle, manifold dispenser, or autowasher. Complete removal of liquid at each step is essential for good performance. After the last wash, remove any remaining Wash Buffer by aspirating or by inverting the plate and blotting it against clean paper towels.
- Block plates by adding 300 μL of Reagent Diluent to each well. Incubate at room temperature for a minimum of 1 hour.
- Repeat the aspiration/wash as in step 2. The plates are now ready for sample addition.

Assay Procedure

- Add 100 μL of sample or standards in Reagent Diluent, or an appropriate diluent, per well. Cover with an adhesive strip and incubate 2 hours at room temperature.
- Repeat the aspiration/wash as in step 2 of Plate Preparation.
- Add 100 μL of the Detection Antibody, diluted in Reagent Diluent, to each well. Cover with a new adhesive strip and incubate 2 hours at room temperature.
- Repeat the aspiration/wash as in step 2 of Plate Preparation.
- Add 100 μL of the working dilution of Streptavidin-HRP to each well. Cover the plate and incubate for 20 minutes at room temperature. Avoid placing the plate in direct light.
- Repeat the aspiration/wash as in step 2.
- Add 100 μL of Substrate Solution to each well. Incubate for 20 minutes at room temperature. Avoid placing the plate in direct light.
- Add 50 μL of Stop Solution to each well. Gently tap the plate to ensure thorough mixing.
- Determine the optical density of each well immediately, using a microplate reader set to 450 nm. If wavelength correction is available, set to 540 nm or 570 nm. If wavelength correction is not available, subtract readings at 540 nm or 570 nm from the readings at 450 nm. This subtraction will correct for optical imperfections in the plate. Readings made directly at 450 nm without correction may be higher and less accurate.

**ANEXO H - Anuência do Departamento de Atenção Primária à Saúde do Município de
Juiz De Fora - Minas Gerais**


Prefeitura de Juiz de Fora

TERMO DE AUTORIZAÇÃO


Autorizamos a realização do Projeto de Pesquisa intitulado "**Teste ANTI-PGL-1 sintético (NDO-HSA), LID-1 e NDO-LID na vigilância dos casos de hanseníase, dos contatos domiciliares e da população**" a ser conduzida sob a responsabilidade da Coordenadora do Projeto Angélica da Conceição Oliveira Coelho Fabri e dos pesquisadores Henrique Couto Teixeira, Thayenne Barrozo Mota Monteiro, Francisco Carlos Félix Lana, Rodrigo Correa Oliveira, Ana Paula Mendes Carvalho, nas Unidades de Atenção Primária à Saúde da Subsecretaria de Atenção Primária à Saúde – PJF.

Ressaltamos que as unidades contam com a infraestrutura necessária à realização da referida pesquisa e que os dados deste estudo deverão ser utilizados exclusivamente para fins acadêmicos e de pesquisa.

Esta declaração é válida apenas no caso de haver parecer favorável do Comitê de Ética da Universidade Federal de Juiz de Fora para a referida pesquisa.

Juiz de Fora, 07 de Março de 2016.

Cristina Márcia da Silva
Chefe de DPAAPS/SSAPS/PJF


Cristina Márcia da Silva
Chefe de DPAAPS/SSAPS/PJF

Secretaria da Saúde
Rua Haffeld, 1.400 - Centro - CEP: 36.016-000 - Tel: (32) 3690-8557
Juiz de Fora - MG

ANEXO I - Parecer Consubstanciado do CEP-UFJF



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Teste anti-PGL-1 sintético (NDO-HSA), LID-1 e NDO-LID na vigilância dos casos de hanseníase, dos contatos e da população

Pesquisador: Angélica da Conceição Oliveira Coelho Fabri

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 54372116.0.0000.5147

Instituição Proponente: Faculdade de Enfermagem

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.233.583

Apresentação do Projeto:

Apresentação do projeto está clara, detalhada de forma objetiva, descreve as bases científicas que justificam o estudo, estando de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12 de 2012, Item III.

Objetivo da Pesquisa:

Analisar o resultado dos testes anti-PGL-1 sintético (NDO-HSA), LID-1 e NDO-LID; e CXCL10 e GCL2 e sua utilização na vigilância dos casos de hanseníase, dos contatos domiciliares e sociais, e população. Objetivos específicos: a) Avaliar a soropositividade dos testes e a concentração sérica de CXCL10 e GCL2 nos casos de hanseníase, contatos domiciliares e sociais, e população; b) Avaliar a correlação e a concordância entre os testes anti-NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID; c) Avaliar a correlação entre os testes anti-NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID e a concentração sérica de CXCL10 e GCL2 nos casos de hanseníase, contatos domiciliares e sociais, e população; d) Avaliar a correlação entre a soropositividade dos testes anti-NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID dos casos de hanseníase e a forma clínica, classificação operacional, índice baciloscópico, itinerário terapêutico e acesso ao diagnóstico oportuno, concentração sérica de CXCL10 e GCL2, estado reacional e poliquimioterapia; e) Avaliar a relação entre a soropositividade dos testes anti-NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID dos contatos domiciliares e sociais e as características clínicas dos casos índices de hanseníase;

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N
 Bairro: SAO PEDRO CEP: 38.036-000
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA
 Telefone: (32)2102-3788 Fax: (32)1102-3788 E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br



Contribuição do Pesquisador 3.233.563

f) Avaliar a relação entre a soropositividade dos testes anti-NDO-HSA, LID-1 e NDOLID e as variáveis sociodemográficas, a presença de sinais e sintomas de hanseníase, o histórico vacinal de BCG, o contato prévio com a hanseníase, o coeficiente de detecção da hanseníase e condições de moradia; g) Avaliar a distribuição espacial dos casos de hanseníase e dos participantes com sorologia anti-NDO-HSA, LID-1 e NDO-LID; h) analisar a presença de sinais e sintomas característicos da hanseníase entre os contatos de casos de hanseníase e população.

Os Objetivos da pesquisa estão claros bem delineados, apresenta clareza e compatibilidade com a proposta, tendo adequação da metodologia aos objetivos pretendido, de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013, Item 3.4.1 - 4.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Esta pesquisa confere risco mínimo, uma vez que será realizada entrevista para aplicação do questionário, exame dermatoneurológico e a realização de punção venosa para coleta de sangue para análise laboratorial. Os benefícios do atual estudo será contribuir para a vigilância dos casos de hanseníase, dos contatos domiciliares e sociais e da população e os resultados podem contribuir para o planejamento das ações de controle e eliminação da doença no município.

Riscos e benefícios descritos em conformidade com a natureza e propósitos da pesquisa. O risco que o projeto apresenta é caracterizado como risco mínimo e benefícios esperados estão adequadamente descritos. A avaliação dos Riscos e Benefícios está de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12 de 2012, Itens III; III.2 e V.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está bem estruturado, delineado e fundamentado, sustenta os objetivos do estudo em sua metodologia de forma clara e objetiva, e se apresenta em consonância com os princípios éticos norteadores da ética na pesquisa científica envolvendo seres humanos elencados na resolução 466/12 do CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013-CNS.

A pesquisadora solicita a inclusão de novo objetivo específico, TCLE, Termo de Assentimento Livre e Esclarecido - menor e TCLE - Participação de menor envolvendo apenas uma parte da pesquisa que atenda a este objetivo, tendo em vista que uma das etapas da coleta de dados não envolverá coleta de sangue e sim de dados do questionário e exame dermatoneurológico (exame da pele e dos nervos).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto está bem estruturado, apresenta o tipo de estudo, número de participantes, critério de

Endereço: JOSÉ LOURENÇO KELMER S/N
 Bairro: SÃO PEDRO CEP: 36.036-000
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA
 Telefone: (35)2102-3788 Fax: (35)1102-3788 E-mail: dep.processo@ufjf.edu.br



Continuação do Parecer: 3.201.503

inclusão e exclusão, forma de recrutamento. As referências bibliográficas são atuais, sustentam os objetivos do estudo e seguem uma normatização. O cronograma mostra as diversas etapas da pesquisa, além de mostra que a coleta de dados ocorrerá após aprovação do projeto pelo CEP. O orçamento lista a relação detalhada dos custos da pesquisa que serão financiados com recursos próprios conforme consta no campo apoio

financeiro. A pesquisa proposta está de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466 de 2012, itens IV/6, II.11 e XI.2; com a Norma Operacional CNS 001 de 2013, itens: 3.4.1-6, 8, 9, 10 e 11; 3.3 - f; com o Manual Operacional para CEPs item: VI - c.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, a emenda ao projeto está aprovada, pois está de acordo com os princípios éticos norteadores da ética em pesquisa estabelecido na Res. 466/12 CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS. Data prevista para o término da pesquisa: Agosto de 2021

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa CEP/UFJF, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 466/12 e com a Norma Operacional Nº001/2013 CNS, manifesta-se pela **APROVAÇÃO** a emenda ao protocolo de pesquisa proposto. Vale lembrar ao pesquisador responsável pelo projeto, o compromisso de envio ao CEP de relatórios parciais e/ou total de sua pesquisa informando o andamento da mesma, comunicando também eventos adversos e eventuais modificações no protocolo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	FB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_131671_2_E3.pdf	18/03/2019 12:00:42		Aceito
Outros	TCLEResponsavel2.doc	18/03/2019 11:56:38	Angélica da Conceição Oliveira Coelho Fabr	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDetalhado.doc	18/03/2019 11:55:28	Angélica da Conceição Oliveira Coelho Fabr	Aceito
Outros	TCLECAMenor2.doc	18/03/2019 11:47:42	Angélica da Conceição Oliveira Coelho Fabr	Aceito
Outros	TCLE2.doc	18/03/2019	Angélica da	Aceito

Endereço: JOSÉ LOURENÇO KELMER S/N
 Bairro: SAO PEDRO CEP: 36.036-000
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA
 Telefone: (32)2102-3788 Fax: (32)1102-3788 E-mail: cep.proposa@ufjf.edu.br



Continuação do Parecer 3.203.503

Outros	TCLE2.doc	11:47:06	Conceição Oliveira Goelho Fabr	Aceito
Outros	PopGeraQuest.doc	30/08/2016 11:39:50	Angélica da Conceição Oliveira Goelho Fabr	Aceito
Outros	ContatosSociaisQuest.doc	30/08/2016 11:39:08	Angélica da Conceição Oliveira Goelho Fabr	Aceito
Outros	ContatoDomiciliarQuestionario.docx	30/08/2016 11:38:44	Angélica da Conceição Oliveira Goelho Fabr	Aceito
Outros	CasoQuestionario.doc	30/08/2016 11:38:03	Angélica da Conceição Oliveira Goelho Fabr	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TermodeAssentimentoBiomepositorio.doc	28/06/2016 12:24:33	Angélica da Conceição Oliveira Goelho Fabr	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TermoAssentimento.doc	28/06/2016 12:24:25	Angélica da Conceição Oliveira Goelho Fabr	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEresponsaveisMenorBiomepositorio.doc	28/06/2016 12:24:17	Angélica da Conceição Oliveira Goelho Fabr	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEresponsaveisMenor.doc	28/06/2016 12:24:05	Angélica da Conceição Oliveira Goelho Fabr	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEBiomepositorio.doc	28/06/2016 12:23:29	Angélica da Conceição Oliveira Goelho Fabr	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	28/06/2016 12:23:21	Angélica da Conceição Oliveira Goelho Fabr	Aceito
Declaração de instalação e infraestrutura	DeclaracaoBiomepositorio.pdf	16/06/2016 14:00:00	Angélica da Conceição Oliveira Goelho Fabr	Aceito
Declaração de instalação e infraestrutura	DeclaracaoCTGIA.pdf	16/06/2016 13:57:36	Angélica da Conceição Oliveira Goelho Fabr	Aceito
Outros	ProtocoloExameDermatoneurologico.doc	16/06/2016 10:23:40	Angélica da Conceição Oliveira Goelho Fabr	Aceito

Endereço: JOSE LOURENÇO KELMER S/N
 Bairro: SAO PEDRO CEP: 36.036-900
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA
 Telefone: (32)2102-3788 Fax: (32)2102-3788 E-mail: cnp.proposicoes@ufjf.edu.br