

ELAINE SILVA NASCIMENTO ANDRADE

RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DA HANSENÍASE NO BRASIL

Brasília, 2022



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE COLETIVA

ELAINE SILVA NASCIMENTO ANDRADE

RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DA HANSENÍASE NO BRASIL

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutora em Saúde Coletiva pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva da Universidade de Brasília.

Área de Concentração: Epidemiologia, Ambiente e Trabalho.

Orientador: Prof. Dr. Wildo Navegantes de Araújo

Coorientador: Prof. Dr. Ciro Martins Gomes

Brasília

2022

ELAINE SILVA NASCIMENTO ANDRADE

RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DA HANSENÍASE NO BRASIL

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutora em Saúde Coletiva pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva da Universidade de Brasília.

Aprovada em 30 de junho de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Wildo Navegantes de Araújo – (Presidente)  
Universidade de Brasília – Faculdade de Ceilândia

Prof.<sup>a</sup> Dra. Andrea de Faria Fernandes Belone – (Membro Externo)  
Instituto Lauro de Souza Lima

Prof.<sup>a</sup> Dra. Rossilene Conceição da Silva Cruz – (Membro Externo)  
Fundação Alfredo da Matta

Prof. Dr. Walter Massa Ramalho – (Membro Interno)  
Universidade de Brasília – Faculdade de Ceilândia

Prof. Dr. Edgar Hamann – (Membro Interno Suplente)  
Universidade de Brasília – Faculdade de Ciências da Saúde

*Dedico esta tese a todos os profissionais e gestores que se dedicam diariamente para estruturar um Sistema Único de Saúde cada vez melhor e a todos os pacientes de hanseníase no Brasil.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, que me abençoou e me guiou ao longo desta trajetória;

Ao meu marido, companheiro e meu amor, Alberto Nascimento, meu eterno agradecimento por sua paciência e por compreender todos os meus momentos e dificuldades. Seu valioso e incansável apoio foi definitivo em todas as etapas deste trabalho;

Ao meu amado filho, Bernardo Nascimento, pelo amor incondicional e pela compreensão da minha ausência em alguns momentos de sua vida.

À minha mãe, Marise Machado, meu profundo apreço por todo apoio durante toda a minha vida. Com seu amor e incentivo, você me impulsionou nos momentos mais conturbados desta trajetória;

A todos os meus professores da universidade, que foram essenciais na minha trajetória acadêmica;

Aos meus amigos do doutorado, pelo convívio, com quem eu tanto aprendi;

Às minhas amigas, Juliana Souza, Jurema Brandão e Michelle Tricarico, por todo carinho, incentivo e ajuda nos momentos mais difíceis deste trabalho.

Aos meus familiares e amigos, toda a minha gratidão.

A todos os meus colegas de equipe da Coordenação-Geral das Doenças em Eliminação do Ministério da Saúde, em especial, a coordenadora Carmelita Ribeiro, por terem me proporcionado toda estrutura e as ferramentas necessárias para a conclusão deste trabalho.

Aos meus orientadores, Wildo Navegantes e Ciro Gomes, meu especial e sincero agradecimento pelo aprendizado, confiança e amizade. Obrigada por aceitarem conduzir este trabalho ao longo de todo o curso.

*"Longe se vai. Sonhando demais.  
Mas onde se chega assim?  
Vou descobrir o que me faz sentir.  
**Eu, caçador de mim."***

*(Milton Nascimento)*

## RESUMO

**Introdução:** A hanseníase é uma doença crônica infecciosa e transmissível. A atual estratégia de controle está fundamentada, principalmente, na poliquimioterapia (PQT), que tem como um dos objetivos prevenir a resistência antimicrobiana (RAM). Em 2018, o Brasil implementou a vigilância da RAM na hanseníase. No entanto, poucos são os estudos sobre a temática, principalmente de abrangência nacional. **Objetivo:** Esta tese teve como objetivo analisar a acurácia dos testes diagnósticos para a resistência antimicrobiana e a frequência de resistência antimicrobiana nos pacientes de hanseníase no Brasil. **Método:** Foram desenvolvidos dois estudos: o primeiro foi uma revisão sistemática com metanálise dos estudos de acurácia diagnóstica e dos estudos de rastreamento para a RAM. Foram feitas buscas em bases de dados científicas em saúde e na literatura cinzenta, sem limite de data ou idioma. Os estudos foram eleitos por dois pesquisadores independentes, que retiraram os dados e avaliaram a qualidade. O segundo foi um estudo transversal que procurou determinar a frequência da RAM nos pacientes de hanseníase no Brasil por grupo de investigação no período de 01 de outubro de 2018 a setembro de 2020. Além de investigar fatores associados à RAM por meio de regressão logística. **Resultados:** Na revisão sistemática, foram incluídos 129 estudos. Desses, 27 para análise da precisão diagnóstica. Os testes moleculares para resistência à dapsona tiveram sensibilidade de 78,8% (IC95% = 65,6-87,9) e especificidade de 97,0% (IC95% = 94,0-98,6). Testes moleculares para resistência à rifampicina tiveram sensibilidade e especificidade de 88,7% (IC95% = 80,0-93,9) e 97,3% (IC95% = 94,3-98,8), respectivamente. Os testes moleculares para resistência a ofloxacino tiveram sensibilidade e especificidade de 80,9% (IC95% = 60,1-92,3) e 96,1% (IC95% = 90,2-98,5), respectivamente. No estudo transversal, 1.183 casos de hanseníase investigados para RAM no Brasil foram incluídos. No total, apenas 16 (1,4%) pacientes apresentaram mutações associadas à RAM. Desses, 8 (50%) foram em casos de recidiva de hanseníase, 7 (43,8%) em casos classificados como suspeita de falha terapêutica com tratamento padrão, e 1 (6,2%) era caso novo de apresentação de hanseníase. Mutações associadas à RAM foram encontradas para todos os três genes examinados (*folP1*, *rpoB* e *gyrA*). Dois pacientes apresentaram resistência simultânea à dapsona e à rifampicina, indicando resistência multidroga. Não foi identificada relação significativa entre variáveis clínicas e presença de resistência antimicrobiana. **Conclusão:** Apesar das diferenças entre os estudos incluídos na revisão sistemática, é possível afirmar que a sensibilidade e a especificidade dos testes moleculares são boas para detectar resistência aos principais antimicrobianos usados no tratamento da hanseníase e que a proporção de casos resistentes não aumentou significativamente após a introdução da PQT. No Brasil, evidenciaram-se baixa frequência de RAM na hanseníase, especificamente à rifampicina, a principal droga bactericida para hanseníase e a importância da PQT. No entanto, a maior frequência de RAM entre pacientes com recidiva no Brasil sustenta a necessidade constante do monitoramento.

**Palavras-chave:** Hanseníase; Revisão Sistemática; Estudo Transversal; Resistência às drogas Bacterianas; Diagnóstico; Análise de Sequência de DNA; Metanálise; Vigilância; Brasil.

## ABSTRACT

**Introduction:** Leprosy is a chronic infectious and transmissible disease. The current control strategy is based mainly on multidrug therapy (MDT), that intends to prevent the antimicrobial resistance (AMR). In 2018, Brazil implemented the AMR surveillance in leprosy. However, the studies about this specific theme are scarce, mainly nationally. **Objective:** This thesis had as objective to analyze the accuracy of the diagnosis testing related to antimicrobial resistance and the frequency that the antimicrobial resistance happens on Leprosy Patients in Brazil. **Method:** Two studies were developed: the first one was a systematic review with a meta-analysis of the diagnostics accuracy studies and of the tracking studies for the AMR. There were searches on scientific data base conducted in health and gray literature, with no date or language limits. The studies were chosen by two independent researchers, that drew the data and evaluated their quality. The second study was a transversal one that intended to determinate the frequency of the AMR on leprosy patients in Brazil by investigation group from 01 October 2018 to September 2020. Besides that, to investigate factors associated to AMR by logistic regression. **Results:** In the systematic review, there were included 129 studies. From those ones, 27 were selected to diagnostic precision analysis. The molecular tests to resistance to dapsons had the sensibility of 78,8% (CI95%=65,6-87,9), and the specificity of 97,0% (CI95%=94,0-98,6). The molecular tests to resistance to rifampicin had the sensibility and specificity of 88,7% (CI95%= 80,0-93,9%) and 97,3% (CI95%=94,3-98,8), respectively. The molecular tests to resistance to ofloxacin had the sensibility and specificity of 80,9% (CI95% =60,1-92,3) and 96,1% (CI95% =90,2-98,5), respectively. In the transversal study, 1.183 leprosis investigated cases to AMR in Brazil were included. In total, only 16 (1,4%) patients showed mutations associated to AMR. From those ones, 8 (50%) were in relapsed cases of leprosis, 7 (43,8%) in cases were classified as suspects of therapeutic failure with the standard treatment, and 1 (6,2%) was a new case of leprosis. Mutations associated to AMR were found to all of the three examine genes (*folP1*, *rpoB* and *gyrA*). Two patients presented simultaneous resistance to dapsons and rifampicin, indicating multidrug resistance. It was not identified any significative relation between clinical variables and the antimicrobial resistance presence. **Conclusion:** Although the differences between the included studies on the systematic review, it's possible to affirm that the sensibility and the specificity of the molecular tests are good to detect resistance to the mainly antimicrobials used on the leprosis treatment and that the proportion of resistant cases didn't increase significantly after the introduction of the MDT. In Brazil, it showed the low frequency of AMR in leprosis specifically to rifampicin, the mainly bactericidal drug to leprosis and the importance of MDT. However, the higher frequency of AMR between relapsed patients in Brazil sustains the constant necessity for monitorization.

**Keywords:** Leprosy; Systematic Review; Transversal Study; Drug Resistance Bacterial; Diagnostic; DNA Sequence Analyses, Meta-analyses; Surveillance; Brazil.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Espectro clínico da hanseníase proposto por Ridley & Jopling.....	21
Figura 2	Tendência global na detecção de novos casos de hanseníase, 1985-2018.....	24
Figura 3	Distribuição espacial dos novos casos de hanseníase, por país, detectados em 2019.....	26
Figura 4	Tendência da detecção de novos casos de hanseníase no Brasil, 1985-2018.....	29
Figura 5	Taxa de detecção geral de casos novos de hanseníase por 100 mil habitantes segundo Unidade da Federação de residência. Brasil, 2019.....	31
Figura 6	Número e percentual de casos com o modo de entrada recidiva, entre todas as entradas. Brasil, 2010 a 2019.....	32
Figura 7	Disseminação da hanseníase pelo mundo.....	36
Figura 8	Multidroga terapia para hanseníase utilizada no Brasil.....	40
Figura 9	Linha do tempo com as descobertas ou patentes iniciais dos antibióticos e o período do “vazio da descoberta”.....	44
Figura 10	Mecanismos de ação de alguns antimicrobianos.....	45
Figura 11	Mecanismos de resistência bacteriana.....	46
Figura 12	Mutações de resistência às drogas no genoma do <i>M. leprae</i> .....	52
Figura 13	Inoculação de <i>M. leprae</i> na pata de camundongos.....	53
Figura 14	Etapas da técnica de PCR-sequenciamento direto de DNA do <i>M. leprae</i> .....	54
Figura 15	Vigilância sentinela de resistência às drogas da hanseníase da OMS.....	59
Figura 16	Países que relatam resistência à rifampicina em hanseníase entre 2009 e 2015.....	62
Figura 17	Sistema de vigilância da RAM em hanseníase no Brasil.....	71
Figura 18	Tratamento da heterogeneidade na metanálise.....	75
Figura 19	Fluxograma da seleção dos estudos para a revisão sistemática.....	81

## LISTA DE FIGURAS - ARTIGO 1

Figura 1	Via clínica para detecção e manejo clínico da resistência antimicrobiana em hanseníase.....	97
Figura 2	Diagrama de fluxo da revisão.....	101
Figura 3	Risco de viés e preocupações com relação à análise da aplicabilidade usando o <i>checklist Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies-2</i> (QUADAS-2).....	103
Figura 4	Testes índice, padrões de referência, valores de sensibilidade e valores de especificidade de testes de resistência antimicrobiana da dapsona em hanseníase.....	104
Figura 5	Testes índice, padrões de referência, valores de sensibilidade e valores de especificidade de testes de resistência antimicrobiana da rifampicina em hanseníase.....	106
Figura 6	Testes índice, padrões de referência, valores de sensibilidade e valores de especificidade de testes de resistência antimicrobiana de ofloxacino em hanseníase.....	107
Figura 7	Curvas ROC. Cada símbolo reflete uma tabela 2x2 de dapsona, rifampicina e estudos de resistência de ofloxacino.....	108
Figura Supl 1	Estudos de rastreamento inseridos na metanálise e a proporção de RAM entre os casos de hanseníase por subgrupo de droga investigada.....	121

## LISTA DE FIGURAS - ARTIGO 2

Figura 1	Fluxograma dos casos de hanseníase investigados para RAM no Brasil entre outubro de 2018 e setembro de 2020.....	132
Figura 2	Mapa das unidades federativas brasileiras que investigaram casos de hanseníase para RAM e amostras com resistência às drogas entre outubro de 2018 e setembro de 2020.....	134

## LISTA DE TABELAS - ARTIGO 1

Tabela 1	Resultados de metanálise e metarregressão de sensibilidade e especificidade para testes moleculares para detecção de resistência antimicrobiana da hanseníase e influência de covariáveis.....	109
Tabela 2	Metanálise e metarregressão de proporções de casos de hanseníase com resistência antimicrobiana a dapsona, rifampicina, ofloxacino e multirresistência e influência de covariáveis.....	111
Tabela 3	Resultados individuais de estudos que avaliaram a proporção de resistência antimicrobiana à minociclina, claritromicina, moxifloxacina, desoxifruco-serotonina e outros macrolídeos.....	112
Tabela Supl 1	Estudos de acurácia inseridos na metanálise e na metarregressão.....	120

## LISTA DE TABELAS - ARTIGO 2

Tabela 1	Características de pacientes com hanseníase investigadas para RAM de outubro de 2018 a setembro de 2020, Brasil.....	133
Tabela 2	Características dos casos de hanseníase com resistência antimicrobiana de outubro de 2018 a setembro de 2020, Brasil.	136
Tabela 3	Características demográficas e clínicas dos pacientes com hanseníase e resultados das análises univariadas e multivariadas dos fatores de risco.....	137
Tabela Supl 1	Número de casos de hanseníase por grupo de investigação para RAM e casos de hanseníase resistentes. Brasil, Regiões e Unidades Federativas no período de outubro de 2018 a setembro de 2020.....	144
Tabela Supl 2	Completude das variáveis do Formsus no período de outubro de 2018 a setembro de 2020.....	145
Tabela Supl 3	Número de casos de hanseníase por grupo de investigação para RAM sem presença de DNA do <i>M. leprae</i> detectado por PCR. Brasil e Unidades Federativas, no período de outubro de 2018 a setembro de 2020.....	145

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Características das estruturas genômicas das espécies de <i>Mycobacterium</i> .....	35
Quadro 2	Atual esquema único de tratamento da hanseníase no Brasil..	41
Quadro 3	Mecanismos moleculares de resistência ao <i>M. leprae</i> .....	51
Quadro 4	Principais estudos sobre RAM na hanseníase no Brasil.....	64
Quadro 5	Principais recomendações para vigilância da RAM em hanseníase descritas nos documentos publicados pelo Ministério da Saúde, no período de 1973 a 2020, no Brasil.....	67
Quadro 6	Bases bibliográficas e estratégia de busca.....	80
Quadro 7	Principais dados retirados dos estudos de acurácia.....	82
Quadro 8	Principais dados retirados dos estudos de rastreamento.....	82
Quadro 9	Avaliação do risco de vieses e aplicabilidade, por domínios QUADAS-2.....	84
Quadro 10	Checklist segundo o Instituto Joanna Briggs.....	85
Quadro 11	Blocos e variáveis do FormSus.....	91
Quadro 12	Variáveis do Sinan.....	91

## LISTA DE QUADROS - ARTIGO 1

Quadro Supl 1	Principais genótipos associados com à resistência aos antimicrobianos da hanseníase.....	124
---------------	--	-----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BCG	Bacilo de Calmette e Guérin
CIM	Concentração Mínima Inibitória
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FormSus	Formulários para Sistema Único de Saúde
FUAM	Fundação Alfredo da Matta
GIF	Grau de Incapacidade Física
GRADE	<i>Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation</i>
ILSL	Instituto Lauro de Souza Lima
LACEN	Laboratório Central de Saúde Pública
MB	Multibacilar
MFP	<i>Mouse FootPad</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
PB	Paucibacilar
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PQT	Poliqumioterapia
PRISMA	<i>Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses</i>
QUADAS	<i>Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies</i>
RAM	Resistência Antimicrobiana
RNA	Ácido Ribonucleico
ROM	Rifampicina Ofloxacino Minociclina
Sinan	Sistema de Informação de agravos de Notificação
SUS	Sistema Único de Saúde
UF	Unidade Federada

## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	16
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	18
1.1 REFERENCIAL TEÓRICO.....	20
1.1.1 Manifestações Clínicas e Diagnóstico da Hanseníase.....	20
1.1.2 Contexto Epidemiológico da Hanseníase no Mundo e no Brasil.....	23
1.1.3 <i>Mycobacterium leprae</i> e Transmissibilidade .....	33
1.1.4 Tratamento da Hanseníase .....	37
1.1.5 Resistência Antimicrobiana .....	44
1.1.6 Resistência Antimicrobiana na Hanseníase.....	48
1.1.6.1 Mecanismo de Resistência do <i>M. leprae</i> e Seu Diagnóstico .....	50
1.1.6.2 A Iniciativa da OMS para a Vigilância Molecular .....	58
1.1.6.3 Contexto Epidemiológico da Resistência Antimicrobiana na Hanseníase ...	60
1.1.7 Vigilância Molecular da Resistência Antimicrobiana em Hanseníase no Brasil.....	66
1.1.8 Revisão Sistemática de Literatura .....	72
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	76
2.1 Objetivo Geral.....	76
2.2 Objetivos Específicos.....	76
<b>3 MÉTODOS</b> .....	77
3.1 ESTUDO DE REVISÃO SISTEMÁTICA PARA ANALISAR A ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DOS TESTES PARA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E DETERMINAR A FREQUÊNCIA DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA NOS PACIENTES DE HANSENÍASE. ....	77
3.1.1 Desenho do Estudo .....	77
3.1.2 Caracterização da Amostra e os Critérios de Inclusão e Exclusão .....	78
3.1.3 Estratégia de Busca e Seleção dos Estudos.....	79
3.1.4 Extração e Avaliação da Qualidade dos Dados .....	82
3.1.5 Análise dos Dados .....	87
3.1.6 Considerações Éticas .....	89

3.2 ESTUDO TRANSVERSAL PARA DETERMINAR A FREQUÊNCIA DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E INVESTIGAR SEUS FATORES ASSOCIADOS NOS PACIENTES DE HANSENÍASE NO BRASIL.....	89
3.2.1 Desenho e População do Estudo.....	89
3.2.2 Fonte de Dados .....	90
3.2.3 Variáveis do Estudo .....	91
3.2.4 Detecção da RAM.....	91
3.2.5 Análise dos Dados .....	92
3.2.6 Considerações Éticas .....	93
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>94</b>
4.1 PRIMEIRO ARTIGO: ESTUDO DE REVISÃO SISTEMÁTICA PARA ANALISAR A ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DOS TESTES PARA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E DETERMINAR A FREQUÊNCIA DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA NOS PACIENTES DE HANSENÍASE.....	94
4.2 SEGUNDO ARTIGO: ESTUDO TRANSVERSAL PARA DETERMINAR A FREQUÊNCIA DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E INVESTIGAR SEUS FATORES ASSOCIADOS NOS PACIENTES DE HANSENÍASE NO BRASIL. ....	126
<b>5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES .....</b>	<b>146</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>149</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>172</b>
Apêndice A – Cópia da primeira página do Artigo 1 publicado.....	172
Apêndice B – Cópia da primeira página do Artigo 2 publicado.....	173
<b>ANEXOS .....</b>	<b>174</b>
Anexo I – Parecer Comitê de Ética .....	174
Anexo II – Termo de responsabilidade diante da cessão de base de dados nominais.....	175

## APRESENTAÇÃO

A hanseníase despertou o meu interesse desde o início de minha atuação profissional como fisioterapeuta em municípios endêmicos de Rondônia e do Rio de Janeiro. Em 2013, ao ingressar no mestrado do Instituto de Saúde Coletiva da Universidade Federal Fluminense (ISC/UFF), confirmou-se o meu entusiasmo pela epidemiologia da doença.

Atualmente, estou alocada na Coordenação Geral de Doenças em Eliminação do Ministério da Saúde (CGDE/SVS/MS), na qual atuo desenvolvendo atividades de monitoramento e avaliação dos indicadores epidemiológicos e operacionais da hanseníase. Desde 2017, vem sendo discutida a implementação da rede de vigilância da resistência antimicrobiana dentro da CGDE, visto que essa é uma recomendação da Organização Mundial da Saúde para os países de alta carga, como o Brasil.

O meu envolvimento e entusiasmo com o tema me fez abraçar uma linha de investigação no doutorado como possibilidade de contribuir para a gestão nacional do agravo na implementação da vigilância em todo país. Diante disso, a partir das conversas com meus colegas de trabalho e meus orientadores, questionamos: Qual é a acurácia diagnóstica, a sensibilidade e a especificidade dos testes diagnósticos para a detecção da resistência antimicrobiana do *M. leprae*? Qual é a proporção de resistência antimicrobiana nos pacientes de hanseníase rastreados descritos na literatura e no Brasil?

Esta tese de doutorado explana sobre a resistência antimicrobiana na hanseníase, com ênfase nos testes diagnósticos e na proporção de casos. Ela está organizada em cinco capítulos: introdução, objetivos, métodos, resultados e discussão, e conclusões e recomendações.

As pesquisas foram organizadas na forma de artigo científico tradicional, sendo apontadas no capítulo resultados e discussão da tese. Os artigos estão descritos em língua portuguesa, mas foram submetidos a revistas científicas internacionais em língua inglesa, visando a uma maior divulgação da pesquisa.

O artigo 1, intitulado “Revisão sistemática e metanálise de estudos sobre acurácia diagnóstica e testes de rastreio para detecção de resistência antimicrobiana em hanseníase”, apresenta a pesquisa realizada tendo por base a literatura preexistente sobre os dois temas propostos. Nesse primeiro artigo, pretendeu-se resumir os dados sobre a acurácia diagnóstica, bem como compilar a estimativa de

proporção de resistência antimicrobiana na hanseníase. Academicamente, o artigo foi desenhado para trazer maior conhecimento teórico sobre os temas, de modo a embasar o artigo 2.

No artigo 2, “Resistência antimicrobiana em pacientes com hanseníase no Brasil: resultados do Plano Nacional de Vigilância”, são detalhados os procedimentos realizados e os resultados de um inquérito populacional realizado no Brasil, que visou a estimar a proporção da resistência antimicrobiana nos pacientes de hanseníase. Esse estudo foi o primeiro a apresentar dados de resistência antimicrobiana na hanseníase em nível nacional, representando a principal pesquisa realizada durante o período de doutorado.

Por fim, o capítulo conclusões e recomendações sintetiza os principais desfechos dos artigos e, concomitantemente, propõe recomendações para futuras pesquisas e para a gestão da hanseníase no país.

## 1 INTRODUÇÃO

A hanseníase ou mal de Hansen (MH) é uma das doenças mais antigas do mundo, com registro de casos há mais de 4000 anos, na China, no Egito e na Índia (1). É uma doença transmissível, infecciosa e de caráter crônico que apesar dos avanços em seu controle, permanece como um problema de saúde pública em alguns países em desenvolvimento, especialmente no Brasil (2).

Os agentes causadores da hanseníase são o *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) e o *Mycobacterium lepromatosis* (*M. lepromatosis*), tendo sido este último descoberto recentemente (3,4). O *M. leprae* acomete primariamente nervos superficiais da pele e troncos nervosos periféricos, assim como pode ter um espectro sistêmico, afetando, por exemplo, olhos e órgãos internos (5). A lesão neural pode causar incapacidades permanentes e, conseqüentemente, gerar impactos físicos, psicológicos, sociais e econômicos para as pessoas acometidas (6). A carga de morbimortalidade pode ser ampliada pela possibilidade de ocorrência de episódios reacionais que, ao potencializarem o dano neural, provocam uma resposta imunológica exacerbada (7).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2020 foram reportados 127.396 casos novos de hanseníase no mundo. Desses, 67,3% foram diagnosticados na forma mais tardia da doença, 5,6% com deformidades visíveis no momento do diagnóstico registrado como Grau de Incapacidade Física 2 (GIF2) e 6,8% foram diagnosticados em menores de quinze anos que indica a ocorrência da transmissão contínua da infecção na comunidade. Neste mesmo ano, 19.195 foram diagnosticados nas Américas e 17.979 (93,6%) notificados no Brasil. Do total de casos novos diagnosticados no país, 8,3% apresentaram deformidades visíveis e 4,8% em menores de quinze anos (8).

Diante do cenário brasileiro, o país é classificado como uma país de alta carga para a hanseníase e ocupa o segundo lugar na relação dos países com maior número de casos no mundo e o primeiro das Américas (9). Assim, a hanseníase configura-se como importante endemia para a saúde pública do Brasil que está fortemente relacionada a condições econômicas, sociais e ambientais desfavoráveis (10).

A hanseníase faz parte de um grupo de 20 doenças consideradas negligenciadas pela OMS, que são aquelas causadas por agentes infecciosos ou parasitários, transmissíveis e que incidem e prevalecem em países tropicais e

subtropicais, acometendo, primordialmente, populações que vivem em situações de vulnerabilidade da África, Ásia e América Latina (11).

A doença também integra uma agenda internacional importante, estando inserida no objetivo 3 dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU), que objetiva promover o bem-estar e uma vida saudável, com a meta proposta de combater as epidemias de aids, tuberculose, malária e outras doenças transmissíveis e tropicais negligenciadas, até o ano de 2030 (12).

A Estratégia Global de Hanseníase de 2016-2020 trouxe uma mudança de paradigma na meta mundial, da eliminação da hanseníase como um problema de saúde pública para zero hanseníase com foco em eliminá-la completamente. Para alcançar a meta proposta, a Estratégia aborda que é preciso superar as barreiras existentes e antecipar os desafios emergentes (2).

Um desses desafios é a resistência do *M. leprae* aos antimicrobianos utilizados no tratamento da hanseníase. Isso porque as opções de substituição para o tratamento padrão da doença são escassas, e a Resistência Antimicrobiana (RAM) pode resultar em infecções persistentes e tratamentos longos e ineficazes, prejudicando as medidas de controle (13).

O monitoramento da RAM do *M. leprae*, nos casos novos e nas recidivas, é recomendado pela OMS desde 2009, com o propósito de avaliar a efetividade da poliquimioterapia (PQT). As orientações são voltadas, principalmente, para áreas endêmicas e investigação de resistência à rifampicina, droga central da PQT (14). Embora se tenha observado um aumento nos relatos sobre a RAM na hanseníase nas últimas décadas (15,16), sua magnitude ainda é desconhecida e não se sabe o quanto a RAM afeta a manutenção da carga da doença nos países endêmicos.

Estudos anteriores, no Brasil, mostraram 5% de resistência à rifampicina e 2% de resistência multidroga (MDR) (17,18). A maioria dos casos resistentes foi identificada por meio de projetos de pesquisa desenvolvidos em centros de referência na área de hanseníase para o país (17,19) e pode não representar o verdadeiro cenário epidemiológico nacional.

Por esse motivo e, também, frente à recomendação da OMS, o Ministério da Saúde do Brasil, em 2018, implementou no país a vigilância da resistência aos antimicrobianos utilizados no tratamento da hanseníase com objetivo principal de detectar as resistências primária e secundária entre as pessoas acometidas pela

doença (20). Até o momento, nenhum estudo foi realizado utilizando dados de abrangência nacional.

Diante do exposto, estudos sobre RAM na hanseníase tornam-se importantes para buscar o preenchimento de lacunas que possam ajudar no seu monitoramento no Brasil. Nesse sentido, a elaboração desta tese tem como intuito prover informações importantes para a vigilância nacional, de forma que possam subsidiar o planejamento e o desenvolvimento de ações para RAM e, assim, o efetivo controle da hanseníase no país.

## 1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

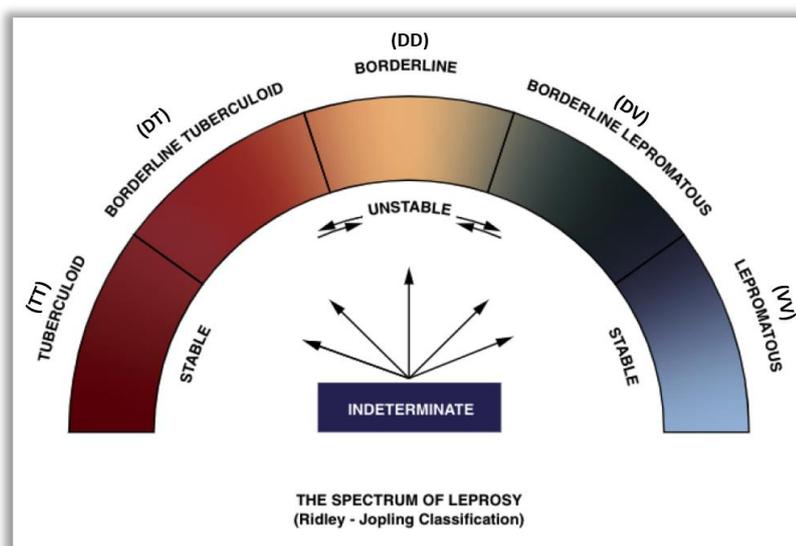
### 1.1.1 Manifestações Clínicas e Diagnóstico da Hanseníase

As manifestações clínicas da hanseníase são muito variáveis e dependem mais da resposta imunecelular do hospedeiro ao *M. leprae* que da capacidade de multiplicação bacilar (21). Normalmente, são lesões cutâneas e neurais, mas podendo suceder, também, comprometimento da mucosa das vias áreas superiores e dos olhos.

As lesões cutâneas mais comuns na hanseníase são manchas esbranquiçadas ou avermelhadas, com redução de sensibilidade, pápulas, tubérculos e nódulos. Nas lesões neurais, as funções sensitivas (térmica, dolorosa e tátil), autonômicas e motoras são alteradas, e, com isso, podem ocorrer espessamentos neurais, dor à palpação do nervo, parestesias, paralisias, diminuição de força, amiotrofias, tendões retraídos, fixações articulares, entupimento e ressecamento do nariz e ressecamento nos olhos. Essas manifestações, uma vez não tratadas precocemente, podem causar deformidades visíveis e irreversíveis ao paciente com hanseníase (7).

As classificações mais utilizadas para as manifestações clínicas da hanseníase são a de Madri, a de Ridley e Jopling e a Classificação Operacional proposta pela OMS. Na classificação de Madrid (1953), a hanseníase é categorizada em quatro formas de manifestações clínicas e baciloscópicas: indeterminada, tuberculoide, dimorfa e virchowiana (7,22). Ridley & Jopling, em 1966, classificaram a hanseníase em cinco fases distintas, baseando-se em critérios clínicos, baciloscópicos, imunológicos e histopatológicos: Tuberculoide (TT), Dimorfa-Tuberculoide (DT),

Dimorfa-Dimorfa (DD), Dimorfa-Virchowiana (DV) e Virchowiana (VV). Tudo começa com a fase indeterminada que evolui para alguma das fases já mencionadas a depender de diversos fatores como genéticos e nutricionais do hospedeiro ou da suscetibilidade dos genes. A figura 1 representa a complexidade dessa classificação da hanseníase. Há duas formas polares: a forma TT, que apresenta uma predominância de resposta celular com poucos bacilos; e a forma VV, o polo de extrema suscetibilidade ao *M. leprae*, com predominância da resposta humoral resultando em proliferação disseminada do bacilo e em lesões de pele difusas pelo corpo do paciente. As formas DT e DD refletem graduais variações de resistência ao bacilo, e, nelas, há uma diminuição da resposta imunocelular acompanhada por aumento da carga bacilar e dos níveis de anticorpos específicos contra o bacilo, lesões de pele e um grande número de nervos afetados (23).



Fonte: (24) Alemu Belachew W, Naafs B. Position statement: LEPROSY: Diagnosis, treatment and follow-up. 2019

**Figura 1** - Espectro clínico da hanseníase proposto por Ridley & Jopling

Alguns estudos mostraram que pacientes com a forma DD foram mais suscetíveis à recorrência da hanseníase (25,26). Os autores se referiram à instabilidade imunológica presente nessa forma, o que contribuiu para a recidiva da doença. No entanto, em um outro estudo a forma VV teve quatro vezes mais chance de ocorrer a recidiva em comparação com outras formas clínicas (27).

A OMS propôs uma nova classificação para a hanseníase em 1981, com finalidades operacionais, direcionada à PQT, classificando-a de duas formas: a paucibacilar e a multibacilar. A forma paucibacilar caracteriza-se pela presença de 1

a 5 lesões cutâneas e baciloscopia obrigatoriamente negativa. Já a forma multibacilar caracteriza-se pela presença de mais de cinco lesões de pele e/ou baciloscopia positiva. Há consenso sobre a classificação como MB dos casos de hanseníase que apresentam mais de um nervo periférico comprometido, desde que devidamente documentado pela perda ou diminuição de sensibilidade nos seus respectivos territórios. Para os casos que apresentam o comprometimento de apenas um nervo periférico, a OMS recomenda a classificação multibacilar, porém, na literatura brasileira, é clássica a descrição do comprometimento isolado de um nervo periférico na forma tuberculoide, consensualmente reconhecida como paucibacilar (28).

O Ministério da Saúde recomenda para a rede de saúde no Brasil, visando ao tratamento com a PQT, a utilização da classificação proposta pela OMS, ou seja, classificação operacional (paucibacilar e multibacilar) do número de lesões cutâneas e/ou resultado da baciloscopia. Ademais, adota, também, a classificação de Madri para categorizar a forma clínica da doença no país (5).

A alta incidência de hanseníase multibacilar e elevado número de incapacidades funcionais podem ser reflexo de déficits no sistema de saúde de um país no que diz respeito à vigilância epidemiológica e educação em saúde, demonstrando diagnóstico tardio da doença (29).

O diagnóstico de caso de hanseníase é essencialmente clínico e epidemiológico, realizado por meio da anamnese e exame físico (exame dermatoneurológico) para identificar lesões ou áreas de pele com alteração de sensibilidade e/ou comprometimento de nervos periféricos, com alterações sensitivas e/ou motoras e/ou autonômicas. Além disso, exames complementares como baciloscopia, histopatologia (cutânea ou de nervo periférico sensitivo) e eletrofisiológicos podem ajudar a melhorar o diagnóstico da doença (5). No entanto, o diagnóstico ainda é um grande desafio, principalmente nas fases iniciais, em uma forma paucibacilar, caracterizada pela ausência de bacilos na baciloscopia. Além disso, os sinais encontrados nas fases iniciais da doença podem ser confundidos com outras dermatoses (30).

No contexto atual, métodos imunológicos e técnicas em biologia molecular têm sido estudados e propostos para fins diagnósticos (31,32). Até o momento, não existe nenhum teste que tenha 100% de acurácia para o diagnóstico da hanseníase, uma vez que existem amplas variações da forma clínica, que impactam diretamente na capacidade diagnóstica de cada exame. Ademais, não existem testes para

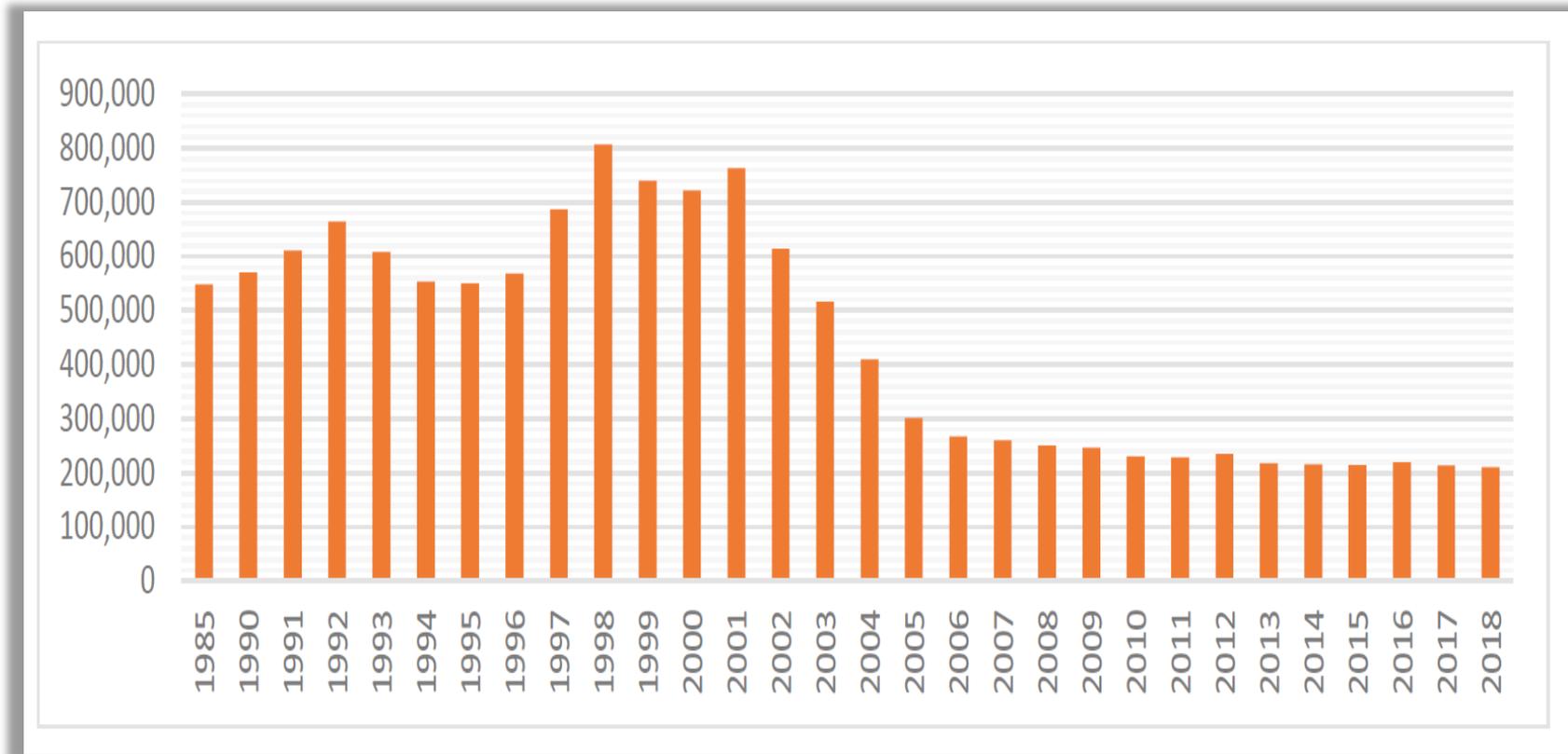
diagnosticar casos assintomáticos ou para prever a progressão da doença em indivíduos expostos, representando um grande desafio para o controle da doença.

### **1.1.2 Contexto Epidemiológico da Hanseníase no Mundo e no Brasil**

A pandemia do novo coronavírus SARS-CoV2 (COVID-19) impactou substancialmente a detecção e a notificação dos casos de hanseníase nos anos de 2020 e 2021 em todo mundo, ocorrendo uma redução do número de casos novos quando comparados aos anos anteriores (8,33). No Brasil, não foi diferente. A pandemia influenciou o diagnóstico e o acompanhamento dos casos de hanseníase no país nesses últimos dois anos (9,34). Um estudo apresentou uma redução de 41,4% no número de casos de hanseníase notificados no país em 2020, quando comparado com o número médio de casos entre os anos 2015 e 2019, mostrando redução no diagnóstico da população geral em todos os estados e regiões brasileiras (35).

Devido a essa situação, o ano de 2019 foi utilizado como base para contextualizar a situação epidemiológica da hanseníase no mundo e no Brasil.

A introdução de estratégias, como a PQT no tratamento e a vacina Bacilo de Calmette e Guérin (BCG) na imunoprevenção, contribuiu para redução do tempo de tratamento e, conseqüentemente, para a redução acentuada da prevalência global da hanseníase. No entanto, desde 2006, o número de casos novos da doença permanece estável, sendo registrados mais de 200 mil novos casos todo ano no mundo, indicando a permanência da transmissão ativa (36).

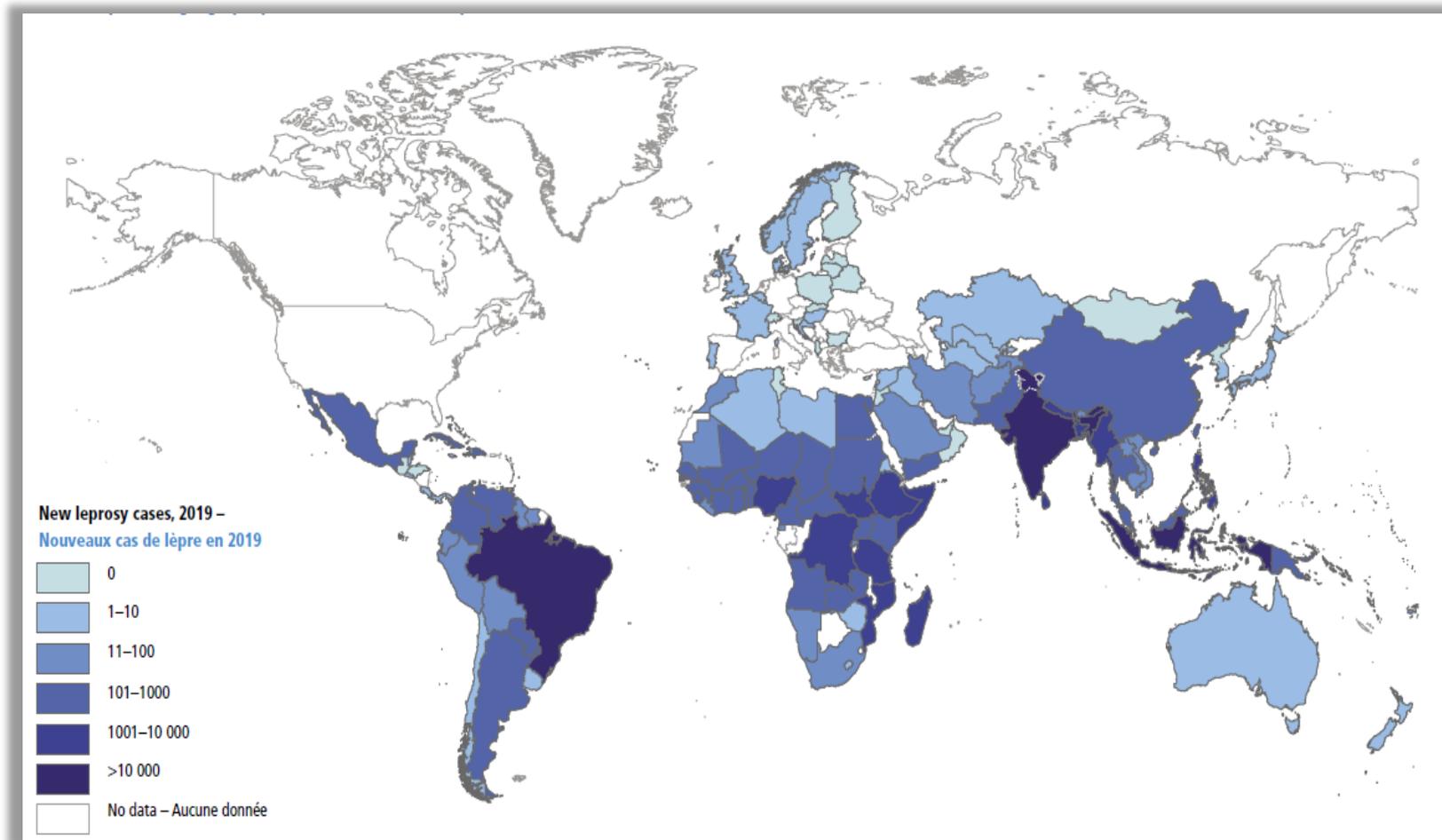


Fonte: (33) WHO. Global leprosy (Hansen disease) update, 2019: time to step-up prevention initiatives

**Figura 2** - Tendência global na detecção de novos casos de hanseníase, 1985-2018

Esta estabilização pode ser devido a multifatores, como a genética do bacilo, a complexidade do diagnóstico, o grau de centralização e verticalidade do processo de controle, a falta de participação dos gestores locais nas ações de controle e pela percepção negativa sobre a hanseníase por parte da população e profissionais de saúde (37).

Em 2019, foram registrados 202.185 mil casos novos de hanseníase no mundo: 123.560 mil homens, 78.625 mil mulheres e 14.981 mil crianças. A região do sudeste asiático é a que apresenta o maior risco para a hanseníase, com uma taxa de detecção de 7.04 casos novos por 100 mil habitantes, enquanto a média é de 2,7 vezes no mundo (2.59 casos novos por 100 mil habitantes). Na região das Américas, o risco de adoecimento por hanseníase foi de 2.95 casos por 100 mil habitantes (33).



Fonte: (33) WHO. Global leprosy (Hansen disease) update, 2019: time to step-up prevention initiatives

**Figura 3** - Distribuição espacial dos novos casos de hanseníase, por país, detectados em 2019

Em 2019, os três países com as mais altas cargas da doença foram Índia, Brasil e Indonésia, juntos, contribuíram com 79,0% dos casos novos do mundo, com 114.451, 27.863 e 17.439 casos novos, respectivamente. Altas taxas de prevalência da doença refletem, em geral, baixos níveis de condições de vida, de desenvolvimento socioeconômico e de atenção à saúde. No final do ano de 2019, a prevalência global apresentou uma taxa classificada como média de 2.24 caso por 100.000 habitantes, perfazendo 177.175 casos em tratamento (33).

O diagnóstico tardio, a transmissão ativa e a incapacidade física visível no momento do diagnóstico são parâmetros importantes para indicar o status da doença. Esses são mensurados pelos indicadores: proporção de casos novos multibacilares, proporção de casos novos em menores de 15 anos e proporção de casos novos com GIF2, respectivamente (5). Do total de casos novos detectados mundialmente em 2019, 64,3% (130.058) foram classificados como multibacilares, 7,4% (14.981) ocorreram em menores de 15 anos e 5,3% (10.813) apresentaram GIF2. Nesse mesmo ano, foram reportados 370 casos novos em menores de 15 anos com grau 2 de incapacidade física, não atingindo uma das três principais metas da Estratégia Global 2016 que é zero criança com diagnóstico de hanseníase e deformidades visíveis (6,38).

Outro indicador importante para a hanseníase são as taxas de retratamento, estabelecido pela OMS como nova notificação de hanseníase em paciente que já tenha recebido tratamento anterior. As causas de retratamento incluem recidiva, abandono, insuficiência terapêutica, falência terapêutica e alteração de esquema por erro diagnóstico (39). No ano de 2019, no mundo, registraram-se 3.897 mil casos de recidiva, ou seja, casos que tiveram reativação da doença após a conclusão do tratamento medicamentoso e 15.733 mil casos classificados com outros tipos de retratamento, como, por exemplo, reingresso após abandono, insuficiência ou falência terapêutica. A taxa de recidiva é importante para avaliar a eficácia da terapêutica e a cada ano, essa taxa vem aumentando. De acordo com os dados globais, os maiores números de casos de recidiva e retratamento, em 2019, foram reportados pelo Brasil, seguido de Indonésia e Índia (33). Para todos esses casos que necessitam refazer o tratamento para a hanseníase, a OMS recomenda a investigação da RAM como possível fator predisponente (6,7).

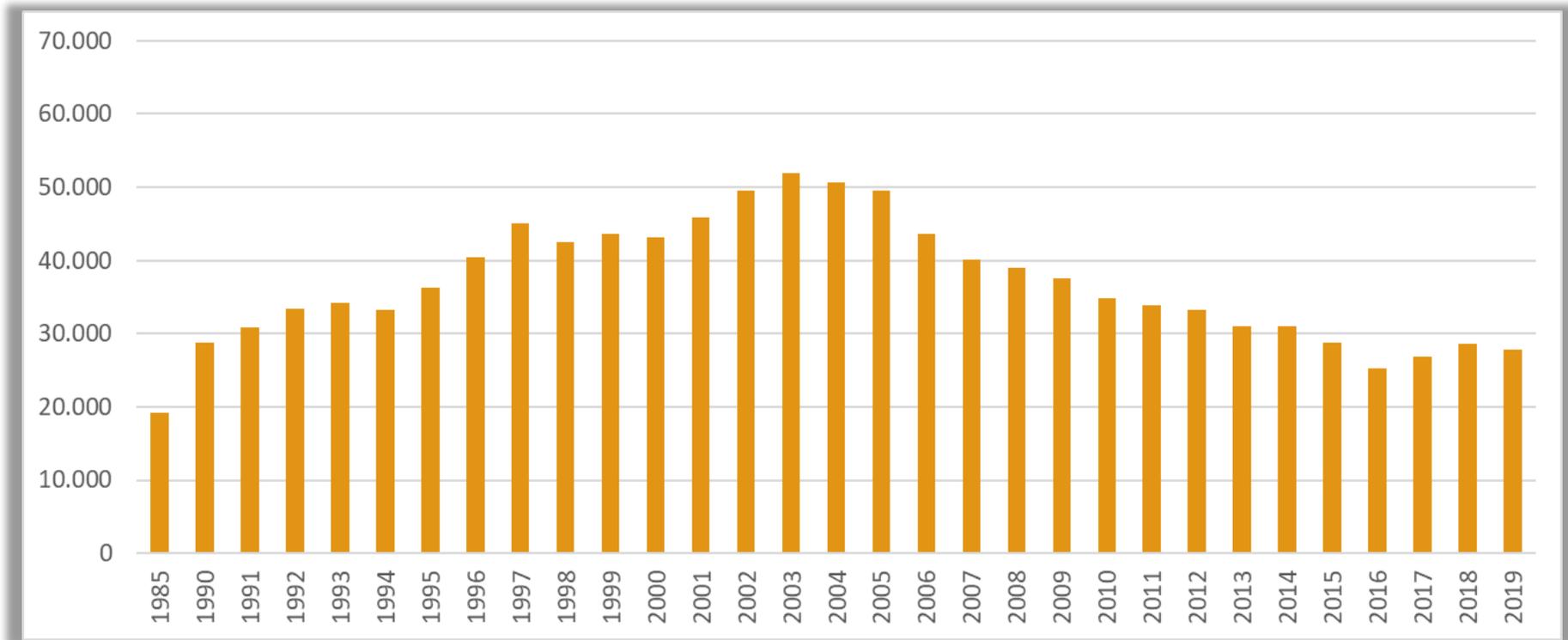
Nas Américas, entre 2010 e 2019, o número de casos novos da doença diminuiu de 37.740 para 29.936; tal redução equivale a 20,6% em uma década. No

entanto, a região representou 14,8% dos casos notificados no mundo em 2019. No mesmo ano, 1.612 casos novos foram detectados em menores de quinze anos e 2.544 novos casos foram diagnosticados com GIF2, sendo 51 em crianças (33,40).

O Brasil mantém, nas últimas décadas, a situação mais desfavorável na América e, atualmente, faz parte da lista de 23 países prioritários para hanseníase no mundo definida pela OMS, sendo o segundo em número de casos novos e o primeiro em número de casos de recidiva (33,40).

De acordo com dados do Ministério da Saúde, em 2019, o país notificou 27.864 novos casos, com uma taxa de detecção geral de 13.23 casos por 100 mil habitantes. A figura 4 apresenta a tendência dos casos novos de hanseníase diagnosticados no país. A série histórica inicia-se com 19.265 casos em 1985, apresentando uma tendência de elevação em que se torna mais acentuada em 1997, alcançando seu pico máximo em 2003 com 51.941 casos. Em 2005, a detecção começa a apresentar um declínio, chegando a 25.218 em 2016. Na série estudada, observa-se que a redução no número de casos novos, de 2003 a 2016, foi de 51,4% (41).

Embora a taxa de detecção de casos tenha apresentado um comportamento de queda ao longo da última década, a doença ainda é um importante problema de saúde no país (9).



Fonte: (41) MS/SVS. Situação Epidemiológica - Dados e Resultados

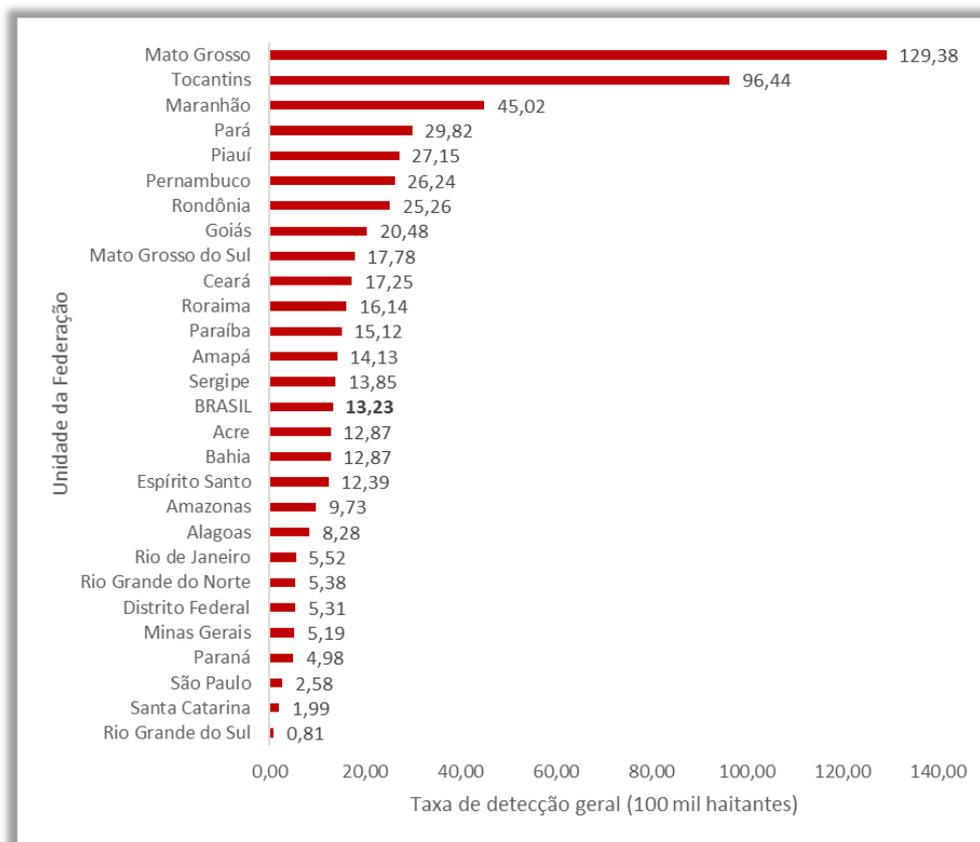
**Figura 4** - Tendência da detecção de novos casos de hanseníase no Brasil, 1985-2018

Quanto às características individuais nos casos novos de hanseníase registrados no país, em 2019, 55,2% eram do sexo masculino, 65,0% tinham entre 20 e 60 anos de idade (grupo considerado com idade economicamente ativa), 70,8% eram negros e 52,5% possuíam menos de oito anos de estudo.

Conforme visto acima, a hanseníase no Brasil é uma doença com maior prevalência de casos em adultos, no entanto há muitos relatos de casos na faixa etária de 0 a 14 anos. Dos casos novos registrados em 2019 no país, 1.545 foram identificados em crianças menores de 15 anos. Nesse ano, a taxa de detecção dessa população foi de 3.44 casos para cada 100.000 habitantes, considerado um parâmetro alto (9). Este indicador está relacionado à existência de um aumento na cadeia de transmissão do bacilo na comunidade, além fragilidade os sistemas de vigilância e no controle da doença, e é visto como um importante alerta pra saúde pública no país.

Na taxa de GIF2 no diagnóstico também foi observado um comportamento de redução. A série histórica (2010 a 2019) se iniciou com uma taxa de 12.72 casos por 1 milhão de habitantes em 2010 e finalizou com 11.16 por 1 milhão de habitantes em 2019. Foram diagnosticados nesse último ano 2.351 casos novos com grau 2 de incapacidade física no país (9).

A hanseníase apesar da redução dos coeficientes de detecção no Brasil nos últimos anos, ainda atinge patamares muito altos nas regiões Norte, Centro-Oeste e Nordeste, apresentando bastante heterogeneidade da distribuição da doença no país. Em 2019, os estados de Mato Grosso e Tocantins se destacaram por apresentarem maiores taxas de detecção geral, com 129.38 e 96.44 casos por 100 mil habitantes, respectivamente. Já os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina apresentaram uma situação de baixa endemicidade (9) (Figura 5). Esses dados demonstram que os estados brasileiros estão em diferentes estágios no controle da doença e que existem distintos cenários de risco para hanseníase. Os determinantes sociais da doença e a organização dos serviços de saúde em cada localidade podem influenciar as estratégias de prevenção e controle do agravo (2).

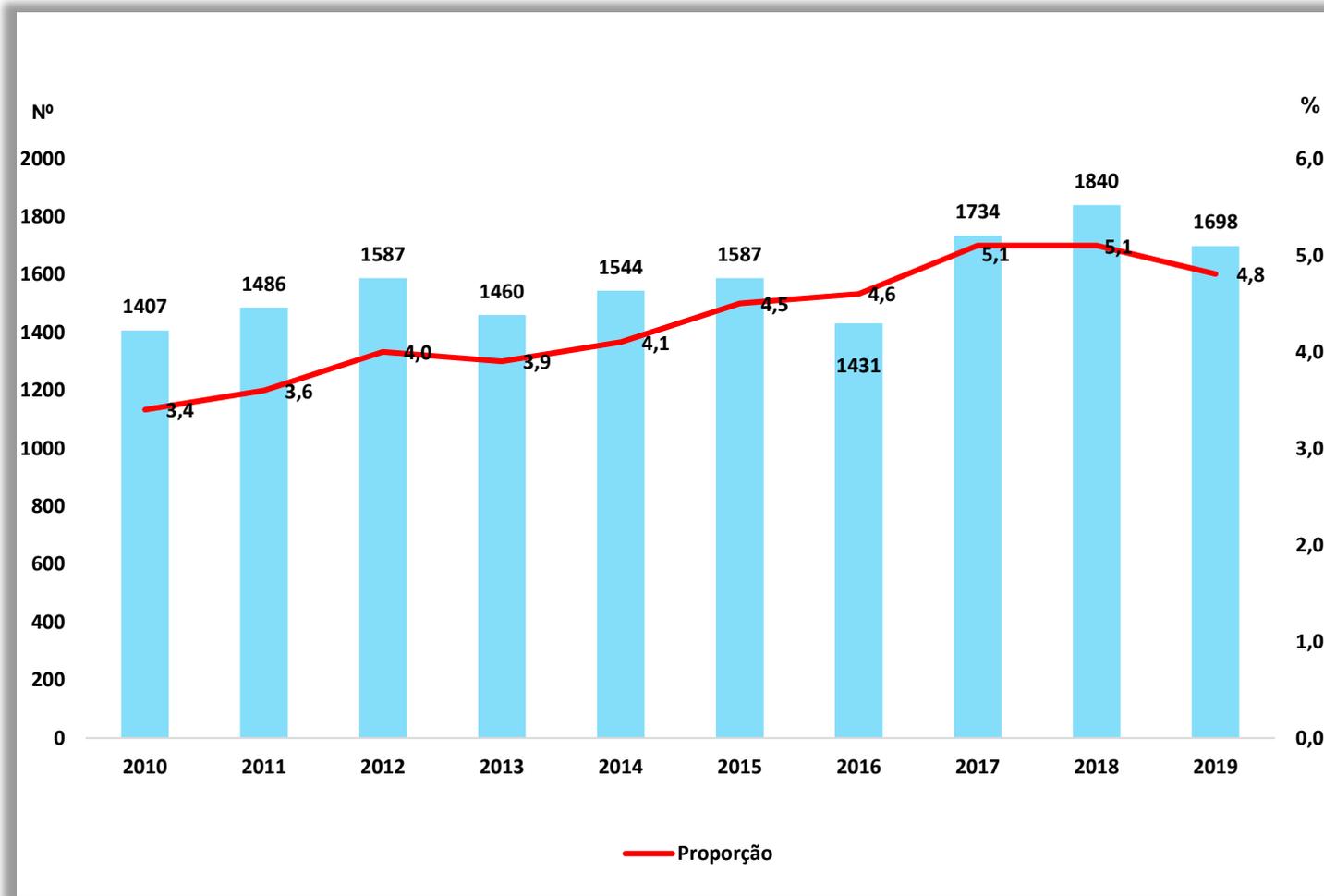


Fonte: (9) MS/SVS. Boletim Epidemiológico Hanseníase 2021

**Figura 5** - Taxa de detecção geral de casos novos de hanseníase por 100 mil habitantes segundo Unidade da Federação de residência. Brasil, 2019

Nos últimos anos, alguns estudos têm relatado um acréscimo de casos de recidiva de hanseníase na população brasileira, o que pode levar a incapacidades físicas e isolamento social (42,43).

De todos os casos de hanseníase notificados no Brasil, em 2019, 1.698 (4,8%) foram registrados como casos de recidiva. Conforme a série histórica apresentada na figura 6, a proporção de casos de recidiva aumentou 41,0%, variando de 3,4%, em 2010, a 4,8%, em 2019 (41).



Fonte: (41) MS/SVS. Situação Epidemiológica - Dados e Resultados.

**Figura 6** - Número e percentual de casos com o modo de entrada recidiva, entre todas as entradas. Brasil, 2010 a 2019

Nos últimos cinco anos, foi registrado também um aumento no percentual de casos de hanseníase com o modo de entrada “outros reingressos”, ou seja, pacientes que, por algum motivo, que não recidiva, necessitam refazer o tratamento para a doença. A proporção aumentou 47,2%, indo de 5,5%, em 2015, para 8,1% em 2019 (9).

O Brasil é o país que mais notificou casos de recidiva e retratamento no mundo, registrando 43,5% e 43,6% desses casos, respectivamente, em 2019 (33).

Entretanto, um estudo brasileiro realizado em centros de referências mostrou taxas de recidiva abaixo de 2%. Neste trabalho, discute-se sobre a falta de uniformidade no critério e na definição de recidiva e na dificuldade de diferenciar o diagnóstico de recidiva dos episódios reacionais pelos profissionais da assistência, que podem ser responsáveis pelo subdiagnóstico ou pelo sobrediagnóstico de ambos os estágios da doença (17).

Os altos números de casos novos e de recidiva indicam a permanência da transmissão ativa no país, e, portanto, são necessárias ações estratégicas que possam ajudar no enfrentamento da doença. A falha do tratamento ou recaída nem sempre é devido à resistência.

### **1.1.3 *Mycobacterium leprae* e Transmissibilidade**

O *M. leprae* foi a primeira bactéria a ser descoberta e correlacionada a uma doença infecciosa em 1873, por Gerhard Henrik Armauer Hansen (44). O patógeno tem formato de bastonete, que mede de 1,5 a 8 µm de comprimento, por 0,2 a 0,5 µm de largura, sendo fracamente gram-positiva, intracelular, imóvel, microaerófilas e fortemente álcool-ácido resistente (45). Pertence ao gênero *Mycobacterium*, à ordem *Actinomycetales* e à família *Mycobacteriaceae* (46).

Esse bacilo, quando comparado com outras bactérias, possui um longo período de incubação, atingindo, em média, de três a cinco anos (47,48) e uma multiplicação por divisão binária de 12 a 14 dias, o que caracteriza a hanseníase como uma doença crônica (49). É altamente infectivo, mas de baixa patogenicidade, na medida em que somente 5% a 10% da população infectada adoecem (50,51).

O *M. leprae* já foi considerado um patógeno que tem como hospedeiro obrigatório um humano (52). Entretanto, nas décadas de 1960 e 1970, observou-se

que o bacilo pode ter outros reservatórios não humanos, como camundongos (53) e tatus *Dasytus novemcinctus*, conhecido como nove bandas, encontrados nas Américas (54). Em estudos mais recentes, também foi constatado em esquilos vermelhos no Reino Unido (55) e em chimpanzés selvagens na África (56), não estando clara a fonte de infecção, se humana ou ambiental, para esses animais, uma vez que o *M. leprae* pode sobreviver durante meses fora do corpo humano e em condições ambientais favoráveis. Esta teoria foi apoiada da detecção de *M. leprae* em amostras de água (57,58). e em amostras de solo de áreas endêmicas (59,60)

No corpo humano, o patógeno tende a infectar áreas mais frias e superficiais como a pele, os nervos periféricos e a mucosa das vias aéreas superiores, porque essas temperaturas favorecem a sua reprodução (61). Os macrófagos da pele e as células de schwann dos nervos periféricos são os mais atacados pelo *M. leprae*, ocorrendo as lesões de pele e as neuropatias responsáveis pela maioria das incapacidades e deformidades físicas nos pacientes de hanseníase (62).

Outra característica importante do *M. leprae* é a impossibilidade de seu cultivo *in vitro*, até o momento, e isso é considerada um dos principais obstáculos para a erradicação da doença (49). Por isso, pesquisas desenvolvidas sobre o patógeno e observações de sua reprodução têm sido realizadas por técnicas de inoculação em alguns animais, como tatus e camundongos imunocompetentes e imunodeficientes (63,64).

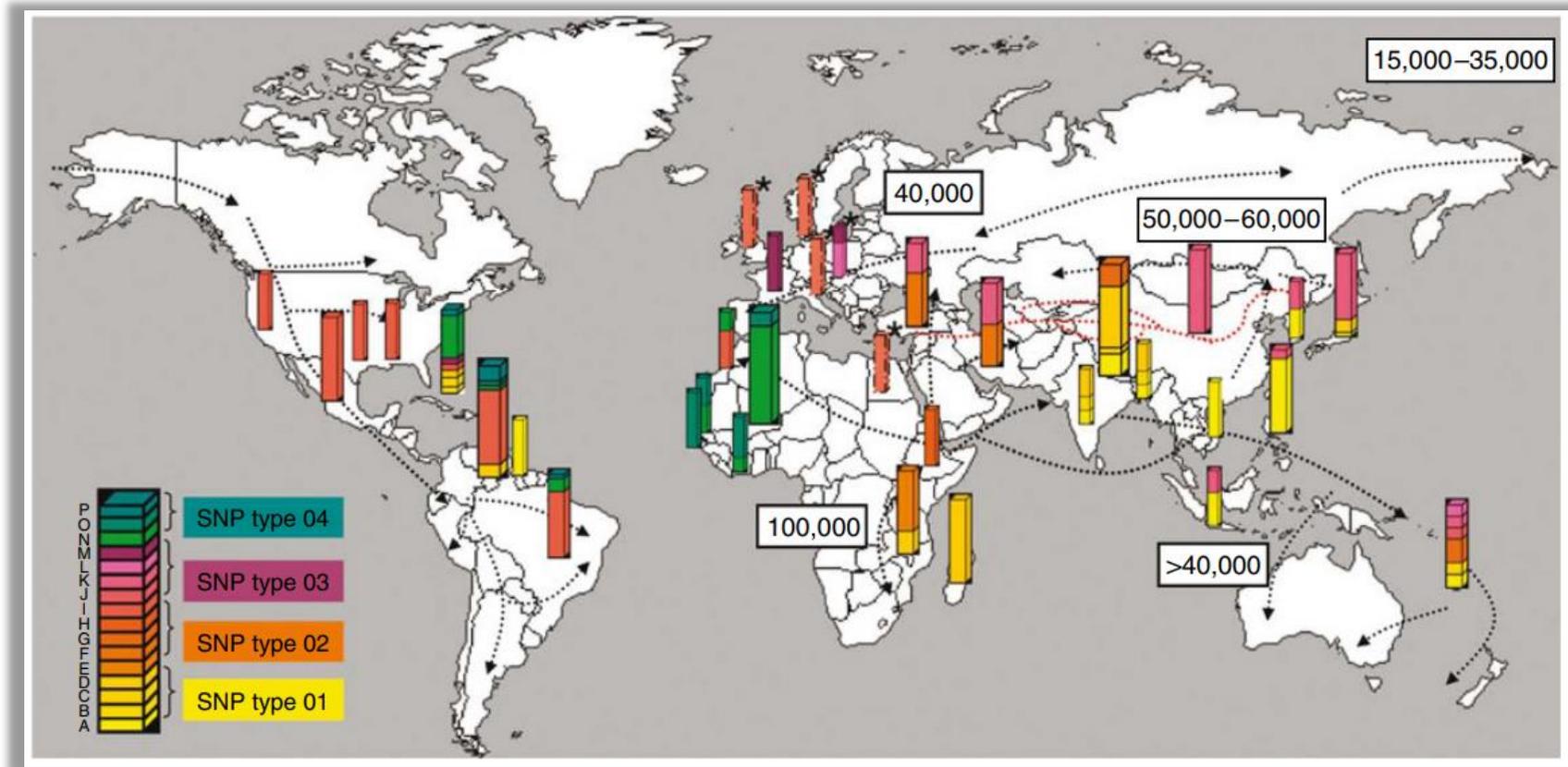
Na década de 1990, o sequenciamento completo do genoma do *M. leprae*, através de técnicas de biologia molecular, permitiu um avanço no conhecimento desse bacilo (65). Observou-se que o genoma é o menor entre os *Mycobacterium*, que possui grande quantidade de pseudogenes (genes não ativos), e que, ao longo de sua evolução, houve uma enorme perda de genes ativos (66) – quadro 1. Neste sentido, acredita-se que essas duas últimas características sejam responsáveis pela impossibilidade do seu cultivo *in vitro* e pelo seu longo ciclo de multiplicação (62).

**Quadro 1** – Características das estruturas genômicas das espécies de *Mycobacterium*

Espécies	Nº de Genes	Nº de pseudogenes	% de genoma	Tamanho do genoma (pb)
<i>M. smegmatis</i>	6.897	168	92,4	6.988.209
<i>M. marinum</i>	5.424	65	90,0	6.636.827
<i>M. ulcerans</i>	4.160	771	72,3	5.631.606
<i>M. tuberculosis</i>	3.959	6	90,8	4.441.532
<i>M. bovis</i>	3.953	27	90,6	4.345.492
<i>M. leprae</i>	1.605	1.116	49,5	3.268.203

Fonte: (66) Akama T, Suzuki K, Tanigawa K, Nakamura K, Kawashima A, Wu H, et al. Whole-Genome expression analysis of mycobacterium leprae and its clinical application.2010

Atualmente, técnicas moleculares têm ajudado nos estudos da epidemiologia do bacilo por permitirem a extração, amplificação e identificação do Ácido Desoxirribonucleico (DNA) do *M. leprae* em amostras clínicas (67). Outras duas descobertas importantes na era pós-genômica foram: 1) a existência de 4 tipos de Polimorfismos de Nucleotídeo Único que definiram e classificaram 16 subtipos de Polimorfismos de Nucleotídeo Único descobertos através de um grande mapeamento de cepas do *M. leprae* por todo mundo. Essa descoberta e estudos filogeográficos ajudaram a esclarecer a migração humana e a refazer a evolução do *M. leprae* (1,68) (Figura 7); 2) a presença de Regiões Determinantes de Resistência às Drogas (DRDR) no *M. leprae*, facilitando a análise da resistência às principais drogas utilizadas no tratamento da hanseníase devido às mutações nessas regiões (13).



Fonte: (1) Monot M, Honoré N, Garnier T, Zidane N, Sherafi D, Paniz-Mondolfi A, et al. Comparative genomic and phylogeographic analysis of *Mycobacterium leprae*. 2009

### Figura 7 - Disseminação da hanseníase pelo mundo

**Nota explicativa:** Os pilares estão localizados no país de origem da amostra de *M. leprae*, com cor codificada de acordo com o esquema para os 16 subtipos de Polimorfismos de Nucleotídeo Único. A espessura do pilar corresponde ao número de amostras (1-5, fino; 6-29, intermediário; > 30, largo). As setas pretas indicam as rotas de migração dos seres humanos, com o tempo estimado de migração em anos. Os pontos vermelhos indicam a localização da “Rota da Seda” (que ligava a Europa à Ásia) no primeiro século, e \*denota resultados obtidos a partir do DNA.

Apesar de mais de 100 anos de descoberta, ainda não se tem uma compreensão clara da patogênese e fisiologia do *M. leprae*. Mesmo questões básicas sobre seu mecanismo de transmissão, o papel dos reservatórios ambientais (por exemplo, solo, água, animais) ou resultados diferenciais de infecção em diferentes indivíduos ainda não foram completamente elucidados.

Sobre o mecanismo de transmissão do *M. leprae* de um hospedeiro a outro, evidências epidemiológicas sugerem que as principais vias potenciais são o contato direto (pele a pele) e a inalação de gotículas respiratórias e/ou fômites, com a suposição de que, em todos os casos, a exposição prolongada e/ou repetida é necessária (62). Além disso, a consanguinidade entre contatos e o paciente (caso índice), foi associada ao risco de adoecimento(69).

Existem alguns estudos que apontam que a transmissão também sofre influência de fatores genéticos do hospedeiro. A incidência reduzida da hanseníase entre os indivíduos expostos ao *M. leprae* é um dos principais fatores que sugerem que a existência de variações genéticas do hospedeiro influencia na resistência à doença (70). Estudos também demonstraram diferentes taxas de prevalência da doença em grupos étnicos distintos vivendo em uma mesma área endêmica (71,72).

#### **1.1.4 Tratamento da Hanseníase**

Até o final da década de 1930, no mundo inteiro, o tratamento da hanseníase consistia, principalmente, no uso do óleo de chaulmoogra e de seus derivados (73). Originado das árvores chaulmoogras da Índia, era distribuído para todos os países endêmicos em formas de cápsulas, injeções intramusculares e subcutâneas e cataplasma para que fossem usados nas lesões cutâneas dos pacientes de hanseníase (74). O uso do óleo no tratamento da hanseníase era um consenso entre os médicos da época devido a seu efeito menos agressivo para o paciente (75). No Brasil, o óleo foi usado até a década de 1950, quando foi substituído absolutamente pelas sulfonas.

O tratamento medicamentoso da hanseníase teve início em 1941, quando o primeiro antimicrobiano (droga que mata ou inibe o desenvolvimento de micro-organismos), o derivado sulfônico (glicosulfona sódica – Promin), foi utilizado pela primeira vez em um leprosário de Carville, nos EUA, o qual revolucionou o tratamento da doença mostrando resultados jamais alcançados anteriormente (76). Outro

derivado sulfônico potente, a dapsona (4,4' diaminodifenilsulfona), passou a ser considerado, a partir de 1946, o principal medicamento para o tratamento da hanseníase por apresentar vantagens de, além dos resultados clínicos, um custo muito baixo, uma administração simples por via injetável ou oral e um tratamento semanal ou quinzenal, sem a necessidade, portanto, de administração diária (77). No Brasil, o uso da dapsona foi iniciado de modo experimental em 1949 por via oral, que passou a ser recomendada como tratamento padrão para hanseníase na década de 1950 como monoterapia sulfônica (78).

No início da década de 1950, observou-se que pacientes com alta carga bacilar tratados por vários anos com a dapsona, e que no momento do término do tratamento medicamentoso apresentaram baciloscopia positiva, recidivaram. Assim, uma política de saúde foi adotada para continuar a sulfonoterapia por mais 1 ano após a negatividade da baciloscopia (79). Contudo, clínicos constataram que geralmente uma duração da sulfonoterapia de 5 anos para esses pacientes resultou em recidiva da doença após a suspensão do tratamento (80). Dessa maneira, foi recomendado para pacientes com alta carga bacilar a terapia com sulfona para toda a vida, principalmente em áreas onde a hanseníase era endêmica (81).

Na década de 1970, o aumento de relato da recidiva e da resistência secundária à dapsona torna-se um grande problema para o controle da hanseníase, justificando estudos com novos antimicrobianos para a incorporação no tratamento da doença (82).

A inserção experimental da clofazimina e da rifampicina no tratamento da hanseníase nas décadas de 1960 (83) e 1970 (84), respectivamente, trouxe novas perspectivas de cura e proporcionou a utilização dessas drogas de forma isolada ou combinada para aqueles pacientes que apresentassem resistência à dapsona (82).

Há muito se sabe que a combinação de drogas para o tratamento de doenças infecciosas, como tuberculose e hanseníase, traz diversos benefícios para o seu controle. De modo geral, os mais importantes deles são o aumento da eficácia dos medicamentos e, conseqüentemente, a cura do paciente, como, também, o retardo ou impedimento da evolução da resistência microbiana (85).

Com isso, em 1981, a OMS, indicou esquemas de multidrogas para o tratamento da hanseníase e propôs a classificação paucibacilar e multibacilar para os pacientes de hanseníase com finalidades operacionais direcionadas ao novo tratamento (86). O esquema de tratamento para o paciente paucibacilar foi constituído

por rifampicina (600 miligramas (mg)) e dapsona (100mg) uma vez ao mês, supervisionado, associado a dapsona (100 mg), diariamente, autoadministrado, com uma duração total de seis doses entre 6 e 9 meses. Para o paciente multibacilar, foi instituído o esquema de tratamento com rifampicina (600 mg), dapsona (100mg) e clofazimina (300 mg) uma vez ao mês, supervisionados, associados a dapsona (100 mg) e clofazimina (50 mg), diários, autoadministrados, com duração total de 24 doses entre 24 e 32 meses ou até a negativação baciloscópico (87).

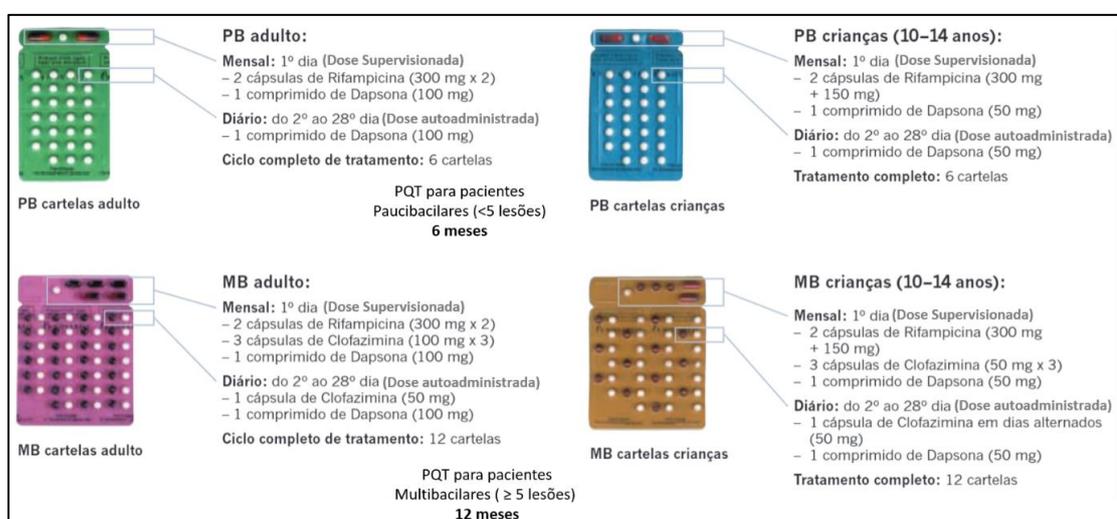
A PQT/OMS tem como objetivos a eliminação do agente infeccioso, a prevenção e a propagação de bacilos resistentes e a redução do risco de recidivas (88). Ela é considerada o maior marco da história de luta contra a hanseníase por reduzir drasticamente a prevalência da doença nas décadas de 1980 e 1990 em várias áreas do mundo.

Em 1997, a OMS recomendou que a duração da PQT preconizada para paciente classificado como multibacilar fosse reduzida de 24 doses para 12 doses, uma vez que estudos mostraram baixas taxas de recidiva após as 24 doses de tratamento (28). Além disso, mostrou-se que a diminuição no número de doses é capaz de reduzir a infectividade, matar o bacilo e não aumentar a resistência à rifampicina devido à atividade bactericida das drogas e da combinação entre elas. E, ainda assim, no caso de recidiva de pacientes multibacilares, estes poderiam ser facilmente retratados com dose adicional de PQT (89).

Na década de 1990, novas drogas foram estudadas para a hanseníase com a finalidade de aumentar o rol de opções para o tratamento da doença, reduzir o tempo de tratamento, a toxicidade e os efeitos colaterais, diminuir a ocorrência de reações e recidivas e retardar uma possível emergência de resistência (90,91). Assim, no final dessa década, minociclina e ofloxacino foram recomendados pela OMS a fazerem parte do esquema de tratamento para a hanseníase, essas indicadas para os casos de intolerância, resistência ou contraindicação a alguma droga da PQT (92). Entre as combinações experimentadas, rifampicina, ofloxacino e minociclina (ROM) dose única foi a primeira a ser utilizada e totalmente supervisionada em pacientes paucibacilares, no entanto, essa recomendação deixou de existir após estudos mostrarem que a PQT/Paucibacilar tem uma maior eficácia e uma menor taxa de recidivas nesses pacientes (93,94). No contexto atual, recomenda-se o uso da minociclina e/ou ofloxacino, combinados com a rifampicina e/ou dapsona e/ou clofazimina em cinco diferentes esquemas substitutivos de tratamento (5,92).

No Brasil, o tratamento com a PQT foi implantado em 1986 por alguns centros especializados participantes do projeto-piloto elaborado pelo Ministério da Saúde (95). No entanto, ela foi oficializada como esquema terapêutico padrão para o tratamento da hanseníase em todo o país em 1991, dez anos após a recomendação da OMS (96).

Entre 1993 e junho de 2021, no Brasil, utilizaram-se quatro diferentes blisters para a PQT (5), conforme figura 8.



Fonte: (97) WHO. Guia para eliminação da hanseníase como problema de saúde pública. 2000

**Figura 8** - Multidroga terapia para hanseníase utilizada no Brasil

Legenda: PB: Paucibacilar; MB: Multibacilar.

Desde julho de 2021, em consonância com a OMS, o Brasil recomenda um regime de esquema único para o tratamento de todos os pacientes de hanseníase utilizando três medicamentos (rifampicina, clofazimina e dapsona), com duração de 6 meses para hanseníase paucibacilar e 12 meses para hanseníase multibacilar. Essa recomendação tem como finalidade simplificar o tratamento e prevenir o tratamento errôneo em pacientes que tenham uma classificação incorreta no momento do diagnóstico (98).

**Quadro 2** – Atual esquema único de tratamento da hanseníase no Brasil

ADULTO	<b>Rifampicina:</b> dose mensal de 600mg (2 cápsulas de 300mg) com administração supervisionada
	<b>Clofazimina:</b> dose mensal de 300mg (3 cápsulas de 100mg) com administração supervisionada e uma dose diária de 50mg autoadministrada
	<b>Dapsona:</b> dose mensal de 100mg (1 comprimido de 100mg) supervisionada e uma dose diária de 100mg autoadministrada
CRIANÇA	<b>Rifampicina:</b> dose mensal de 450mg (1 cápsula de 150mg e 1 cápsula de 300mg) com administração supervisionada
	<b>Clofazimina:</b> dose mensal de 150mg (3 cápsulas de 50mg) com administração supervisionada e uma dose de 50mg autoadministrada em dias alternados
	<b>Dapsona:</b> dose mensal de 50mg (1 comprimido de 50mg) supervisionada e uma dose diária de 50mg autoadministrada
DURAÇÃO DO TRATAMENTO	Classificação Paucibacilar: 6 meses
	Classificação Multibacilar: 12 meses

Fonte: (98) SVS/DCCI/MS. NOTA TÉCNICA CGDE/DCCI/SVS/MS No 4/2020- Ampliação de uso da clofazimina para hanseníase paucibacilar no âmbito do Sistema Único de Saúde. 2020

Uma outra droga aprovada e incorporada recentemente pelo MS para o tratamento da hanseníase é a claritromicina. Sua indicação é recomendada apenas para os casos de hanseníase com confirmada resistência à rifampicina, com ou sem resistência associada ao ofloxacino (99).

O tratamento da hanseníase no Brasil é ambulatorial, e a PQT e as drogas de segunda linha estão disponíveis gratuitamente nas unidades de saúde pública que prestam assistência aos pacientes de hanseníase e que compõem o Sistema Único de Saúde (SUS) do país (7).

No que se refere à composição química, farmacodinâmica e farmacocinética das drogas utilizadas no tratamento para a hanseníase, temos:

- Dapsona: é uma sulfona, conhecida como sulfona-mãe, com ação bacteriostática sobre o *M. leprae*, ou seja, inibe o crescimento da bactéria. É um dos componentes da PQT para combate à infecção pelo *M. leprae*. Atua como antagonista competitivo do ácido p-aminobenzoico (PABA), impedindo sua utilização na síntese de ácido fólico pelo bacilo. A droga é rapidamente absorvida em quase sua totalidade, sendo distribuída nos tecidos de maneira uniforme em todo o organismo. Alcança níveis plasmáticos máximos entre 3 e 6 horas e sua Concentração Mínima Inibitória (CIM) frente ao *M. leprae* é de

0.003 mg/litro. A vida média é de 28 horas, sendo excretada pelo rim. As concentrações séricas permanecem superiores a CIM durante 10 dias. A dose diária de 100 mg proporciona níveis séricos máximos 500 vezes superiores a CIM, inibindo a multiplicação do *M. leprae*, inclusive os com resistência baixa ou moderada (100,101).

- Rifampicina: É um derivado piperazínico da Rifamicina com ação bactericida. Ela é considerada o medicamento mais importante do esquema de tratamento com a PQT. A rifampicina tem um efeito altamente bactericida contra o *M. leprae*, e uma única dose de 600 mg é capaz de matar 99,9% da população viável da micobactéria (102). Ela inibe a biossíntese do Ácido Ribonucleico (RNA) bacteriano ao inibir fortemente a subunidade beta da RNA-polimerase que depende do DNA, evitando a união da enzima do DNA e bloqueando, assim, o início da transcrição do RNA. É rapidamente absorvida principalmente quando ingerida em jejum, atinge um pico de 7 ug/ml em 2 a 4 horas e tem uma vida média de 3 horas. Tem uma boa distribuição nos tecidos, e a sua maior parte é eliminada pelo intestino. A CIM frente ao *M. leprae* é de 0,3 mg/litro, e, na dose de 600 mg, a concentração sérica é 30 vezes superior à do CIM (88,103).
- Clofazimina: É um corante rimino-fenazínico com ação bacteriostática e anti-inflamatória. É um dos componentes da PQT para combate à infecção pelo *M. leprae* e também é utilizada no tratamento das reações tipo 2 (eritema nodoso). Não se conhece o mecanismo exato de sua ação, mas ela é altamente lipofílica e parece ligar-se fortemente ao DNA micobacteriano, inibindo a replicação e o crescimento (104). 70% da droga é absorvida após a administração oral, e o restante é eliminado pelo suor, glândulas sebáceas e fezes, e sua meia vida é longa, de cerca de 70 dias (103). As concentrações séricas máximas são geralmente atingidas em 4-12 horas, quando administrada com alimentos. A clofazimina provou ser bactericida, em pequena proporção comparada à rifampicina, contra *M. leprae* na inoculação de camundongos (105).
- Ofloxacino: É uma carboxiquinolona fluorada que apresenta atividade bactericida para *M. leprae* (106,107). É uma alternativa para o tratamento da hanseníase, em segunda linha. É bem absorvida após a administração oral e se distribui amplamente pelos tecidos do corpo. Os níveis séricos máximos são alcançados entre 1 e 3 horas após uma administração de 400 mg. O

mecanismo de ação da ofloxacino em doenças bacterianas parece inibir a replicação do DNA ao desativar o DNA girase, um tetrâmero contendo duas subunidades A (*gyrA*) e duas subunidades B (*gyrB*) (108).

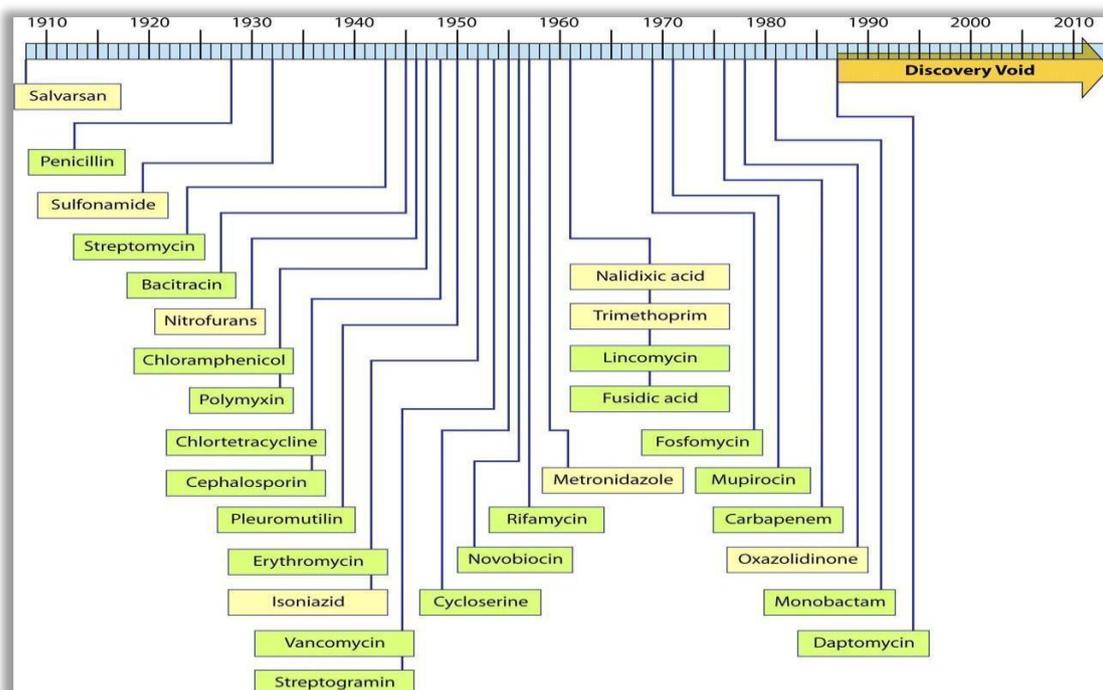
- Minociclina: É a única tetraciclina com ação bactericida sobre o *M. leprae*, no entanto, menos ativa que a rifampicina, presumivelmente, devido à sua natureza lipofílica, que pode aumentar a penetração da parede celular. O seu uso em combinação com outros agentes, também é uma alternativa para o tratamento da hanseníase, em segunda linha (109). A absorção por via oral da minociclina é de cerca de 95 a 100% e não é afetada pela alimentação. Tem ação longa com tempo de meia-vida superior a 15 horas (110). Seu mecanismo de ação é inibir a síntese de proteínas bacterianas por ligação com a(s) subunidade(s) ribossomal 30S e possivelmente a(s) subunidade(s) ribossômica(s) 50S de bactérias suscetíveis (111).
- Claritromicina: É o único macrolídeo que exibe significativa atividade bactericida contra *M. leprae*, onde a administração diária de 500 mg mata 99% de *M. leprae* viável dentro de 28 dias e 99,9% por 56 dias (112,113). A claritromicina é, rapidamente, absorvida pelo trato gastrointestinal, não sofrendo a interferência do meio ácido devido às alterações estruturais que ela possui. Ela atinge seu pico de concentração sérico, aproximadamente, duas horas após sua administração, possuindo meia-vida de 3 a 7 horas, e sua via de excreção se faz, preferencialmente, por via renal. Os macrolídeos fazem parte do grupo de antibióticos que atuam inibindo a síntese proteica bacteriana (114). A claritromicina inibe a proteína síntese através da ligação à subunidade 50S do ribossoma micobacteriano, visando ao 23S rRNA, em particular (111).

Recentes publicações relataram resistência a essas drogas em algumas áreas endêmicas (115,116), ou por terem sido previamente usadas em esquema de monoterapia ou em combinação com a dapsona antes da implementação da PQT pela OMS (17). Por essa razão, a vigilância de cepas resistentes do *M. leprae* é prioritária, visto que não se tem um rol de medicamentos disponíveis para a hanseníase.

### 1.1.5 Resistência Antimicrobiana

A OMS define RAM como a “capacidade de um microrganismo impedir a atuação de um antimicrobiano” (117). Com isso, nas doenças bacterianas, cepas do patógeno que foram capazes de sobreviver à exposição de uma determinada droga continuam a crescer e se multiplicar no organismo do hospedeiro. Como resultado, os tratamentos tornam-se ineficazes, e as infecções persistentes ou até incuráveis (118).

Durante o século 20, a descoberta de agentes antimicrobianos permitiu o tratamento e o controle de diversas doenças infecciosas, reduzindo a propagação e as mortes. No entanto, nas últimas décadas, nenhum antimicrobiano potente foi desenvolvido. Esse período é chamado de “vazio da descoberta” por Lynn Silver (119,120), pela redução do arsenal de medicamentos mais potentes para tratar infecções graves contra o crescimento da incidência da RAM em todo o mundo (Figura 9).

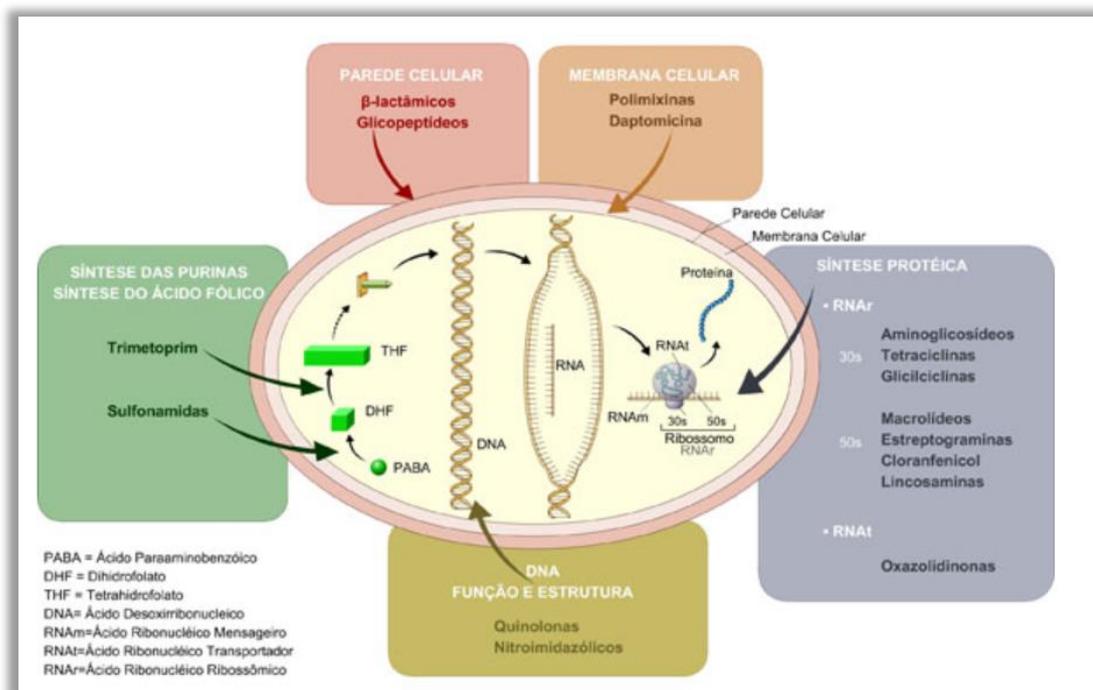


Fonte: (119) Silver LL. Challenges of antibacterial Discovery. 2011

**Figura 9** - Linha do tempo com as descobertas ou patentes iniciais dos antibióticos e o período de “vazio da descoberta”

A ação dos antimicrobianos em uma célula bacteriana se dá por vários mecanismos que dependem das características físicas, químicas e farmacológicas de

cada antimicrobiano. Os mecanismos mais comuns são: inibição da síntese da parede celular, inibição da síntese ou dano da membrana citoplasmática, inibição da síntese proteica dos ribossomos, alterações na síntese dos ácidos nucleicos e alterações do metabolismo celular (121), (Figura 10).



Fonte: (121) Medeiros EAS de, Stempluk V de A, Santi LQ. Medidas de prevenção e controle de resistência microbiana e programa de uso racional de antimicrobianos em serviços de saúde. 2007

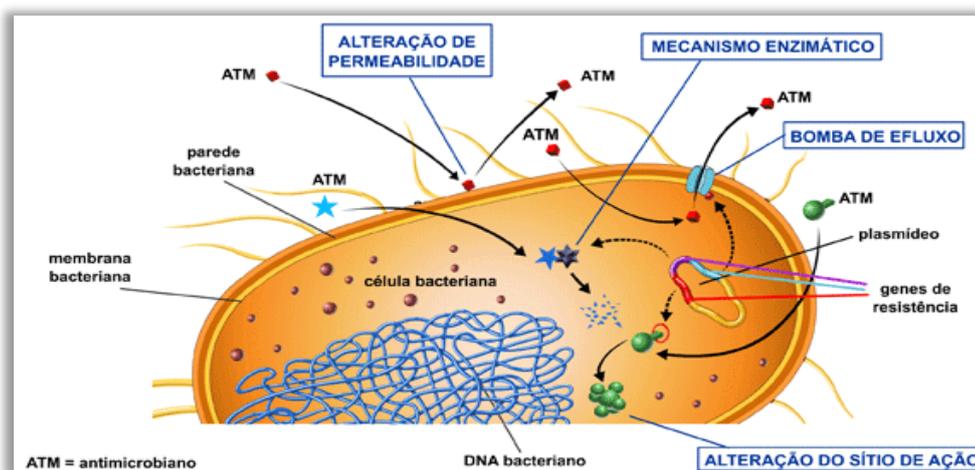
**Figura 10** - Mecanismos de ação de alguns antimicrobianos

A origem, a disseminação e a manutenção da RAM podem ser decorrentes de uma série de fatores, tais como: o alto consumo de antimicrobianos e seu uso inadequado nos tratamentos de infecções humanas; a utilização excessiva de antimicrobianos na agropecuária; a poluição do meio ambiente causada pelo despejo de resíduos de medicamentos no solo ou na água e pela falta de informação da população. Assim, no contexto atual, a RAM é considerada um problema de Saúde Única, envolvendo saúde humana, animal e ambiental (122).

Quanto à categorização da RAM, algumas bactérias são naturalmente resistentes a certos antimicrobianos, impedindo a destruição de sua parede celular, o que nominamos resistência intrínseca; e outras bactérias, que antes eram suscetíveis a um antimicrobiano, desenvolvem resistência a partir de mutações nos próprios genes ou pela aquisição dos genes de resistência de outras bactérias, o que

denominamos resistência adquirida (123). O mecanismo de resistência das bactérias varia de patógeno para patógeno. Os principais mecanismos estão expostos na figura 11. São eles:

- Alteração da permeabilidade da membrana externa, impedindo a passagem do antimicrobiano;
- Mecanismo enzimático, no qual ocorre produção de enzimas que degradam ou modificam os antimicrobianos;
- Bomba de efluxo no interior da célula bacteriana, que bombeia para fora o antimicrobiano;
- Alteração do sítio de ação, fazendo que o antimicrobiano não reconheça mais o alvo na célula bacteriana.



Fonte: (124) ANVSA/MS. Mecanismos de resistência bacteriana aos antimicrobianos

**Figura 11** - Mecanismos de resistência bacteriana

A OMS, desde 2011, pauta o problema da resistência aos antimicrobianos em suas assembleias com intuito de alertar governos do mundo todo (125). Além disso, com objetivo de conhecer a real magnitude do problema da resistência nos países membros, a OMS iniciou uma pesquisa em 133 países para realizar uma análise situacional e identificar o perfil e as iniciativas sobre a RAM. A pesquisa concentrou-se nos blocos considerados pré-requisitos para combater a RAM: um plano nacional abrangente, capacidade laboratorial para realizar a vigilância de microrganismos resistentes, acesso a medicamentos antimicrobianos seguros e eficazes, controle do uso indevido desses medicamentos, conscientização e compreensão entre o público em geral e programas eficazes de prevenção e controle de infecções (126). Essa

pesquisa subsidiou a elaboração do Plano de Ação Global para enfrentar a RAM, que foi publicado em 2015 pela OMS.

O Plano Global traz um plano estratégico, atividades prioritárias, orientação quanto à necessidade de levantamento de patógenos resistentes, elaboração de planos nacionais e definição do papel das organizações participantes. O plano tem cinco objetivos estratégicos, relacionados a comunicação e educação, vigilância e pesquisa, prevenção de infecções, otimização do uso de medicamentos antimicrobianos na saúde humana e animal e garantia de investimento sustentável para sua implementação (127).

No Brasil, a iniciativa de monitorar a RAM no contexto da saúde humana iniciou-se em 2005, pelo Ministério da Saúde e pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS/OMS), com a “Rede Nacional de Monitoramento da Resistência Microbiana em Serviços de Saúde (Rede RM)”, que tinha como principal objetivo tornar a assistência à saúde mais efetiva por meio da detecção, prevenção e do controle da emergência de resistência microbiana em serviços de saúde no país. A Rede RM, inicialmente, foi constituída por Laboratórios de Hospitais Sentinela, Laboratórios Centrais de Saúde Pública (LACEN), Vigilâncias Sanitárias Estaduais e Municipais, Comissões Estaduais e Municipais de Controle de Infecção Hospitalar e diversos colaboradores (128).

Em 2012, a Rede RM já contava com 1.144 serviços de saúde, em sua grande maioria, unidades hospitalares, em todo o país. O primeiro boletim da Rede RM foi publicado em 2013, com dados de 908 hospitais, de 26 das 27 unidades federativas (UF) brasileiras, com dados dos fenótipos de resistência de 19.009 microrganismos responsáveis por causar infecções primárias de corrente sanguínea em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) brasileiras. A partir dessas informações, confirmou-se que a RAM é um problema de saúde pública em todas as regiões do país (128).

Com o passar dos anos, outras iniciativas brasileiras foram elaboradas para monitorar e prevenir a RAM tanto no contexto da saúde humana, com o Ministério da Saúde e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), quanto no contexto da saúde animal, com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). No entanto, a abordagem brasileira não estava relacionada a uma conduta de Saúde Única, tal como preconizada pelo Plano Global da OMS, e era desenvolvida de forma desarticulada e sem monitoramento integrado. Assim, à luz do Plano Global, o Brasil publicou, em 2018, o Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência

aos Antimicrobianos (PAN-BR). O PAN-BR foi elaborado com a participação direta do Ministério da Saúde, da Anvisa e do MAPA, e com apoio do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC), do Ministério do Meio Ambiente, da Fundação Nacional de Saúde (Funasa), do Ministério das Cidades e do Conselho Nacional de Saúde (CNS). Ele compreenderá o período de 2018 a 2022, sendo composto por quatro objetivos específicos: i) Melhorar a conscientização e a compreensão a respeito da RAM nos serviços de saúde por meio de comunicação, educação e formação efetivas; ii) Reforçar o conhecimento e a base científica por meio da vigilância e da investigação de infecções e RAM em serviços de saúde; iii) Reduzir a incidência de infecções com medidas eficazes de prevenção e controle em serviços de saúde; e iv) Promover o uso racional dos medicamentos antimicrobianos nos serviços de saúde (128).

Apesar de a grande maioria das ações de controle e prevenção da RAM estar voltada a ambientes hospitalares no PAN-BR, atividades estratégicas sobre RAM também devem ser elaboradas para a atenção primária de saúde onde estão inseridos muitos programas de intervenção de doenças infecciosas, especialmente aqueles que têm a prevenção secundária (quimioterapia) como o principal componente de sua estratégia de controle, como tuberculose, hanseníase, malária, entre outras. Sabe-se que, para essas doenças infecciosas, a falta de novos medicamentos para o tratamento, a não adesão ao tratamento, uma terapia insuficiente e a falta de prevenção e controle são fatores agravantes do problema da resistência aos antimicrobianos que estão ligados às más condições socioeconômicas de grande parte da população afetada.

#### **1.1.6 Resistência Antimicrobiana na Hanseníase**

Na hanseníase, a RAM é investigada desde a monoterapia com dapsona. A primeira suspeita de resistência do *M. leprae* à sulfona se deu em 1947, quando observou-se que pacientes não respondiam mais ao tratamento, além do número de casos que evoluíram para recidiva (129). Assim, durante a década de 1950, a RAM foi amplamente discutida nos principais fóruns internacionais da doença (81).

O primeiro caso de hanseníase resistente à dapsona só foi comprovado em laboratório em 1964, quando o microbiologista Charles C. Shepard desenvolveu uma técnica de cultivo do *M. leprae in vivo* em patas de camundongos (130).

Na década de 1970, a resistência secundária à dapsona tornou-se comum em diversos países, com uma ocorrência de até 40% dos casos multibacilares tratados em áreas endêmicas, passando a ser, portanto, um grande problema para o controle da hanseníase. O surgimento da resistência à dapsona foi relacionado à monoterapia prolongada, com doses muito baixas, bem como à irregularidade ou à falha no tratamento (82).

Apesar da experiência com dapsona, a rifampicina na década de 1970 também foi utilizada por alguns anos em esquema de monoterapia, e, conseqüentemente, em 1976, foi relatado o primeiro caso de *M. leprae* resistente a ela (131).

No início da década de 1980, a resistência à sulfônica se configurava um problema na hanseníase cada vez mais relevante. A introdução da PQT/OMS no tratamento da hanseníase veio com objetivo de frear o aumento no número de casos resistentes. Acredita-se, ainda, que a PQT pode funcionar muito bem na resistência a um único antimicrobiano por alguns fatores: pelo fato da rifampicina ser altamente bactericida e, assim, eliminar a maioria das subpopulações existentes de *M. leprae* resistentes aos outros dois antimicrobianos; e por dapsona e clofazimina destruírem as subpopulações resistentes à rifampicina (103). Ao longo das décadas de 1980 e 1990, pôde-se observar uma resposta satisfatória desses casos de subpopulações microbianos já resistentes a qualquer medicamento da PQT em pacientes multibacilares (92,132). Entretanto, julga-se que, no decorrer do tratamento da hanseníase, pode ocorrer o desenvolvimento da RAM devido a não destruição da subpopulação resistente, que, posteriormente, pode voltar a crescer e se multiplicar.

Com o desenvolvimento e a estruturação dos métodos de biologia molecular nas décadas de 1990 e 2000, novas publicações relataram casos de hanseníase resistentes às drogas da PQT e do esquema de substituição utilizado no tratamento da doença, além de também mencionarem a resistência combinada a duas ou três drogas (132,133).

Pacientes de hanseníase multibacilares possuem uma grande população de *M. leprae* variando entre 1+ e 5+ no Índice Baciloscópico e que, apesar do tratamento completo com PQT por 2 ou 3 anos, o *M. leprae* é capaz de persistir como bacilos viáveis, e, estes pacientes, voltarem a recidivarem (134). Agora, após mais de 4 décadas de PQT, as recidivas são frequentemente observadas e isso pode ser devido à resistência aos antimicrobianos (135).

Portanto, apesar da redução das taxas de detecção e prevalência da hanseníase no mundo, o surgimento de resistência do *M. leprae* aos antimicrobianos usados no tratamento da doença representa uma ameaça, uma vez que a PQT é a principal estratégia de controle para a doença.

#### 1.1.6.1 Mecanismo de Resistência do *M. leprae* e Seu Diagnóstico

O mecanismo de resistência do *M. leprae* foi inferido a partir de estudos realizados em *Mycobacterium tuberculosis* e outras bactérias que são cultiváveis *in vitro*. Com base nesses estudos, compreendeu-se que a RAM ocorre devido a mutações cromossômicas em genes que alteram os alvos da ação das drogas e que essas mutações ocorrem espontaneamente como resultado de erros na replicação do DNA. Normalmente, esses mutantes são enriquecidos em uma população de bacilo suscetível por terapia medicamentosa inadequada (111).

Com estudos genéticos e moleculares, foi possível, pela primeira vez, realizar o sequenciamento genético para os filamentos de *M. leprae* resistentes em experimentos que utilizaram, anteriormente, o método de Shepard. Esse sequenciamento demonstrou que as mutações missenses, aquelas em que ocorrem mudança de aminoácidos e que deixam de ser reconhecidas pela droga, ocorrem dentro das regiões do gene pertencente a cada uma das drogas testadas (136,137). Assim, conferem resistência à dapsona – mutação no gene *foIP1*; à rifampicina – mutação no gene *rpoB*; e às quinolonas – mutação no gene *gyrA* (132). No entanto, até o momento, ainda não estão elucidadas as bases genéticas da RAM de todas as drogas utilizadas no tratamento da hanseníase (44).

A identificação dos alvos das drogas, as mutações e os códons específicos de mutações mais frequentes na resistência do *M. leprae* estão descritos no quadro 3.

**Quadro 3** – Mecanismos moleculares de resistência ao *M. leprae*

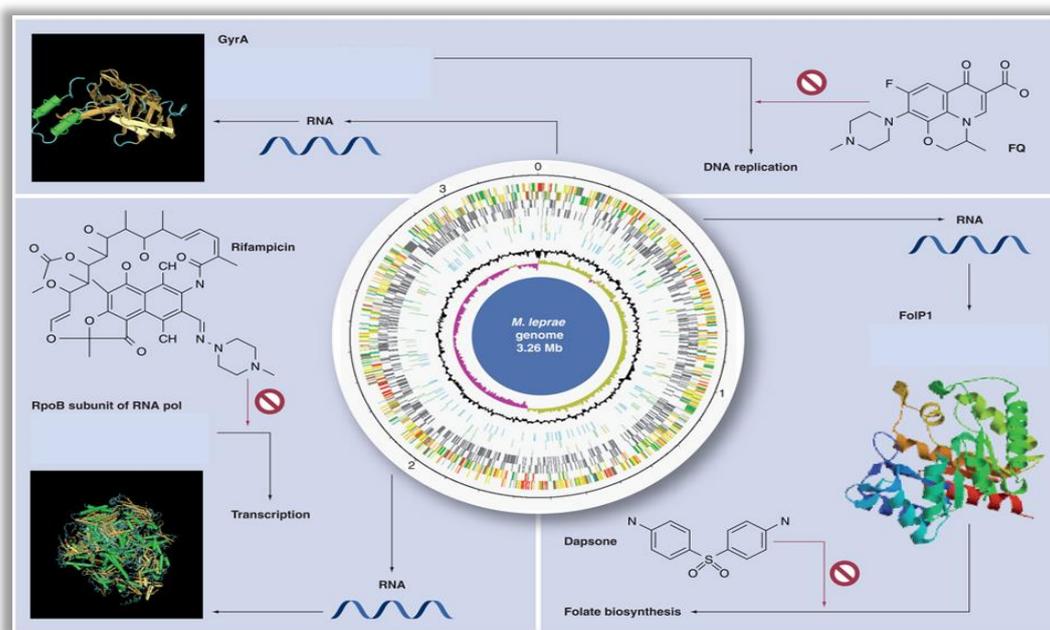
Antimicrobiano	Genes	Alvo Molecular	Mecanismo de Resistência	Códons
Rifampicina	rpoB	Subunidade $\beta$ da RNA polimerase	Mutações neste gene impedem a interação da rifampicina com a RNA polimerase	438, 441, 451, 456, 458
Dapsona	folP1	Di-hidropteroato sintase	Mutações neste gene impedem que a dapsona diminua a produção da síntese de diidropteroico sintetase	53 e 55
Ofloxacino	gyrA	Subunidade A de DNA girase	Mutações neste gene impedem a inibição da Subunidade A pelo quinolona	89 e 91

Legenda: DNA = Ácido Desoxirribonucleico; RNA = Ácido Ribonucleico

Fonte: (138) World Health Organization. A guide for surveillance of antimicrobial resistance in leprosy. 2017

Também confere resistência do *M. leprae* à rifampicina a incorporação de nucleotídeos entre os códons 439 e 440 (138).

A resistência à clofazimina, até o presente, foi relatada em pouquíssimos casos de hanseníase, considerada um evento raro, e a resistência à minociclina não foi referida em nenhum caso da doença (111). Portanto, hoje, as ocorrências de resistência a dapsona, rifampicina e ofloxacino são as mais estudadas e conhecidas na hanseníase (108), (Figura 12).



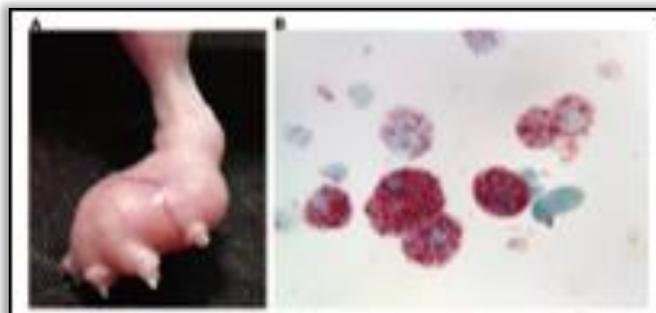
Fonte: (62) Singh P, Cole ST. Mycobacterium leprae: Genes, pseudogenes and genetic diversity. 2011

**Figura 12** - Mutações de resistência às drogas no genoma do *M. leprae*

Existem duas formas principais de avaliar a resistência aos antimicrobianos da hanseníase: fenotípica e genotípica. A avaliação fenotípica é realizada através da inoculação em camundongo, uma técnica que ainda é realizada em poucos países. A avaliação genotípica é por meio de técnicas moleculares com objetivo de detectar mutações que estão associadas com a resistência do *M. leprae*. Existem três abordagens principais neste: (i) extração de DNA, Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e sequenciamento; (ii) ensaio de sonda com um kit comercial; ou (iii) sequenciamento de genoma inteiro (111).

O método *in vivo* desenvolvido para demonstrar a multiplicação do *M. leprae* em laboratório é a técnica de Shepard, criada em 1960 (63). Desde o seu desenvolvimento, a técnica denominada Mouse FootPad tem sido o 'padrão ouro' para testar a suscetibilidade às drogas da hanseníase, que consiste na inoculação de bacilos na pata traseira do camundongo, na administração das drogas na dieta do animal e na observação da multiplicação do bacilo. Desse modo, a sensibilidade ou a resistência a uma droga é avaliada comparando o crescimento bacilar nos camundongos, que são separados em grupo experimental e grupo controle. Considera-se resistência quando for observado crescimento bacilar em um ou mais camundongos do grupo experimental. Nesta técnica detecta a mutação mesmo sem

saber que gene foi mutável. A resistência na hanseníase é descrita desde 1964 (139,140), usando este método *in vivo* representado na figura 13.



Fonte: (67) Scollard et al. The continuing challenges of leprosy.2006

**Figura 13** - Inoculação de *M. leprae* na pata de camundongos

No entanto, é uma técnica inviável de ser usada na rotina de vigilância da RAM em hanseníase, por exigir instalações apropriadas, profissionais bem treinados e um bom recurso financeiro para manutenção dos animais durante a experimentação. Além disso, os resultados demoram meses para serem produzidos e divulgados, e seu sucesso depende em grande parte da quantidade do material da biópsia e do tempo decorrido até a inoculação do camundongo (61). Por conseguinte, apenas alguns laboratórios de alta qualidade no mundo realizam essa técnica com intuito principal de apoiar pesquisas em hanseníase. No Brasil, apenas o Instituto Lauro de Souza Lima (ILSL), em Bauru, São Paulo, tem utilizado, desde o final da década de 1980, a técnica de Shepard para detecção de cepas resistentes (44,67).

A padronização da técnica de Shepard foi um marco na pesquisa do bacilo e da doença, propiciando um importante avanço em estudos, especialmente na área terapêutica e da RAM.

Com a biologia molecular, também foi possível testar a susceptibilidade do *M. leprae* aos principais antimicrobianos usados no tratamento da hanseníase, permitindo uma melhor compreensão dos mecanismos de ação e resistência das drogas, bem como identificar os genes envolvidos nesses processos (13,136).

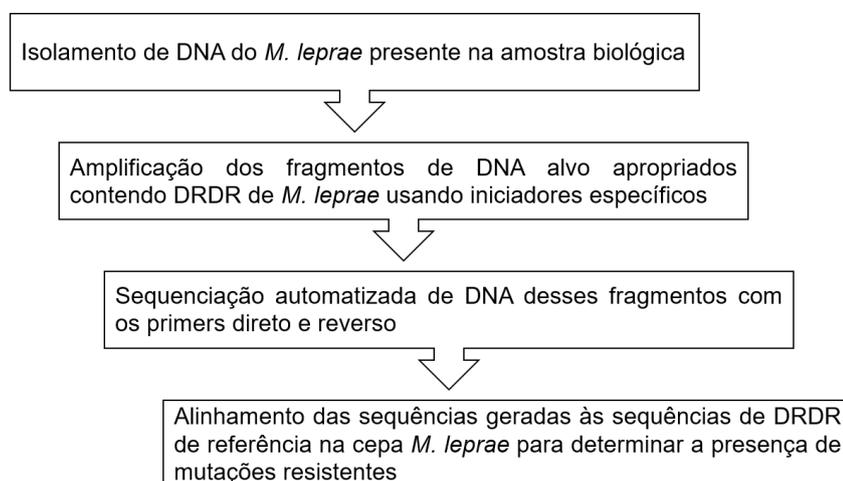
A PCR é um método que revolucionou a prática da biologia molecular. Consiste em ampliar seletivamente uma única molécula de DNA ou de RNA milhões de vezes em algumas horas, o que permite a detecção e a análise de sequências de genes específicos na amostra de um paciente, animal ou organismo sem a clonagem. O

método baseia-se na amplificação de regiões pré-selecionadas, por ação da enzima Taq polimerase, que, aliada a iniciadores (primers), hibridizam-se com os filamentos opostos da sequência-alvo e desencadeiam a síntese da sequência de DNA (141). Portanto, na hanseníase, partes de um gene do DNA do *M. leprae* podem ser amplificadas de maneira exponencial com o uso de primers específicos conhecidos para estudo da doença (142,143).

Os métodos moleculares descritos para realizar testes de susceptibilidade aos medicamentos da hanseníase na literatura, até o momento, são:

- PCR-sequenciamento direto de DNA (*PCR-DNA Sequencing*)

Atualmente, é considerado o principal método molecular para detectar RAM na hanseníase. O teste consiste na utilização de sequenciamento direto da PCR de fragmentos de DNA do *M. leprae* retirados do material biológico (biópsia de pele ou esfregaço intradérmico) do paciente (13,108). As etapas desse teste são demonstradas na figura abaixo.



Fonte: (138) World Health Organization. A guide for surveillance of antimicrobial resistance in leprosy. 2017

**Figura 14** - Etapas da técnica de PCR-sequenciamento direto de DNA do *M. leprae*

À medida que a mutação por *PCR-DNA Sequencing* passou a ser executada em muitos laboratórios nos últimos anos, vários estudos foram realizados para detectar RAM em hanseníase, a fim de estimar a prevalência desse evento na população afetada pela doença (111). Consequentemente, esse método passou a ser o novo 'padrão ouro' para testar a suscetibilidade às drogas utilizadas no tratamento

da hanseníase, sendo recomendado, inclusive, pela OMS em seus manuais de vigilância, por consistir num método “*in vitro*” com alto índice de sensibilidade, de forma mais rápida (em questão de horas) e com menor custo quando comparado ao método Mouse FootPad (138).

No entanto, o teste apresenta uma desvantagem por ser uma técnica em *house* na qual não há uma padronização bem definida e nem a utilização de kits específicos, cabendo cada laboratório padronizar e validar sua técnica.

- DNA-ARRAY (LDS-DA)

O método microarray de DNA (LDS-DA) é considerado um teste mais simples que o PCR-DNA *Sequencing*. Esse teste consiste na realização das seguintes etapas: 1) Uso de PCR multiplex para amplificar simultaneamente as regiões determinantes de resistência à droga dos genes-alvo a partir do DNA de amostras clínicas e rotular os *amplicons* (moléculas de DNA previamente amplificadas) com biotina; 2) Desnaturar por calor os amplificadores de PCR e depois resfriá-los rapidamente; 3) Hibridizar a mistura refrigerada com a lâmina LDS-DA, contendo uma série de sondas oligonucleotídicas ligadas, correspondentes a cada mutação nos genes *folP1*, *rpoB* e *gyrA*; e 4) Hibridizar com as sondas de captura no LDS-DA os fragmentos de DNA marcados com biotina que são detectados pela peroxidase de rábano-avidina-biotina (133).

Acredita-se que o método é uma boa ferramenta da biologia molecular com alta reprodutibilidade e sensibilidade para testar a suscetibilidade a medicamentos da hanseníase em um laboratório próximo ao campo em regiões geográficas onde existe pouco progresso nas áreas genéticas (13).

- PCR em Tempo Real de Alta Resolução de Fusão (qPCR)

O método qPCR baseia-se em uma simples etapa pós-PCR para explorar as características térmicas dos *amplicons* para a detecção de mutações. Como os *amplicons* são submetidos a altas temperaturas, as regiões determinantes de resistência às drogas do tipo selvagem (suscetíveis a medicamentos) e mutantes (resistentes a medicamentos) geram perfis de Alta Resolução de Fusão distintos (108).

Nesse método, os *amplicons* de PCR e as curvas de fusão são gerados no mesmo instrumento, não existindo manipulações de amostras após a reação da PCR e não havendo a necessidade de reagentes ou suprimentos adicionais para determinar a susceptibilidade ao medicamento. Isso reduz o risco de contaminação cruzada de *amplicons* e o custo do sequenciamento de DNA (48).

Um estudo recente classificou-o como uma ferramenta sensível, simples, rápida e de alto rendimento para a triagem de rotina de casos novos e de recidiva, podendo auxiliar na detecção de mutações menores associadas à resistência a medicamentos em uma população de *M. leprae*, que é totalmente suscetível (144).

- Kit GenoType Leprae-DR

A tecnologia de fita de DNA foi desenvolvida como kits GenoType e aplicada à detecção molecular de resistência a antibióticos em várias infecções, como tuberculose e doenças por *Helicobacter pylori* (distúrbios digestivos), por exemplo (145,146).

O teste utiliza um método de hibridização reversa semelhante à matriz de DNA descrita no DNA-ARRAY, exceto que as sondas oligonucleotídicas são pré-hibridadas em uma fita de nitrocelulose para identificar alterações na sequência-alvo, diferenciando sua forma selvagem e mutante. As etapas do teste são: 1) Isolamento de DNA de amostras clínicas; 2) As regiões determinantes de resistência às drogas dos genes-alvo de *M. leprae* são amplificadas por PCR multiplex com primers biotinizados; 3) *Amplicons* são desnaturados quimicamente; 4) *Amplicons* de cadeia simples são ligados às sondas analógicas complementares durante a hibridização com a fita de DNA de sondas mutantes e do tipo selvagem específicas; 5) Os *amplicons* não ligados são removidos por lavagem; 6) É realizada uma reação conjugada durante a qual os *amplicons* ligados são marcados com a enzima fosfatase alcalina; e 7) As regiões determinantes de resistência às drogas do tipo selvagem e mutantes são, então, visíveis em uma reação de detecção colorimétrica (147).

O kit GenoType® Leprae-DR é de fabricação alemã (Hain Lifescience, Nehren, Alemanha), sendo o único comercialmente disponível e validado industrialmente para a detecção simultânea de *M. leprae* resistente à rifampicina, dapsona e ofloxacino (111). No Brasil, é o único teste de susceptibilidade que possui registro na ANVISA para detecção de *M. leprae* resistente (148).

Recentemente, no Brasil, os kits Genotype® MTBDRplus e Genotype® MTBDRsl, da mesma empresa alemã, foram incorporados no SUS para a detecção de resistência às drogas utilizadas no tratamento da tuberculose (149).

- PCR-reverse ensaio de hibridização blot (REBA)

O ensaio de hibridização por transferência reversa (REBA) é uma ferramenta molecular para a avaliação de múltiplas amostras usando múltiplas sondas que permite a detecção e a identificação de resistência à rifampicina (150).

O método envolve etapas como: 1) Preparação de sondas oligonucleotídicas para REBA correspondentes a ambas as vertentes de região de resistência à rifampicina de *M. leprae*; 2) PCR para amplificação de regiões *rpoB*; 3) Realização do ensaio de hibridização de transferência reversa por PCR, com desnaturação, hibridização, lavagem e, por fim, a visualização colorimétrica (47).

- DNA Heteroduplex

O método de heteroduplex de DNA consiste em uma mistura de proporções iguais do produto de PCR, de uma cepa sensível e de uma cepa resistente, que é desnaturado e, em seguida, hibridado. O híbrido é fracionado em gel de poliacrilamida e visualizado com brometo de etídio. O heteroduplex, resultante da hibridação da fita de DNA da cepa sensível com o da cepa resistente, exibe uma mobilidade eletroforética diferente quando comparada a um híbrido homoduplex (151).

Ainda há algumas lacunas de conhecimento sobre a sobreposição entre genótipo e fenótipo, pois todas as cepas resistentes do *M. leprae* identificadas através da MFP foram genotipicamente confirmadas, mas nem todas as mutações descritas no genoma do *M. leprae* conferem resistência no teste MFP (111).

Por isso os critérios clínicos devem ser mantidos em conjunto com a informação molecular para avaliar o impacto da resistência. Nem todas as mutações que conferem resistência conduzem à falha clínica (devido ao uso de múltiplas drogas na PQT). A falha do tratamento ou recidiva nem sempre é devido à resistência (152).

Apesar do crescente aumento no número de estudos que vêm descrevendo novos métodos moleculares baseados em PCR para a detecção de mutações que

resultam em resistência do *M. leprae*, a concordância com os ‘padrões-ouro’ (MPF e PCR-DNA *Sequencing*) ainda precisa ser melhor estudada, a fim de identificar se existe um melhor método para auxiliar a vigilância da RAM em hanseníase de forma mais automatizada, simples, rápida e que possa ser utilizado em larga escala pelos laboratórios de países de alta carga da doença como o Brasil.

#### 1.1.6.2 A Iniciativa da OMS para a Vigilância Molecular

Com os desafios enfrentados pelos programas de controle da tuberculose de diversos países por causa da resistência antimicrobiana, alguns questionamentos foram levantados por muitos especialistas de hanseníase, tais como: a resistência antimicrobiana era também um problema para hanseníase? A hanseníase seria como uma tuberculose no futuro, com aumento expressivo de resistência aos fármacos existentes para tratamento da doença? Qual é o quantitativo de pacientes de hanseníase com resistência antimicrobiana? (108,153,154)

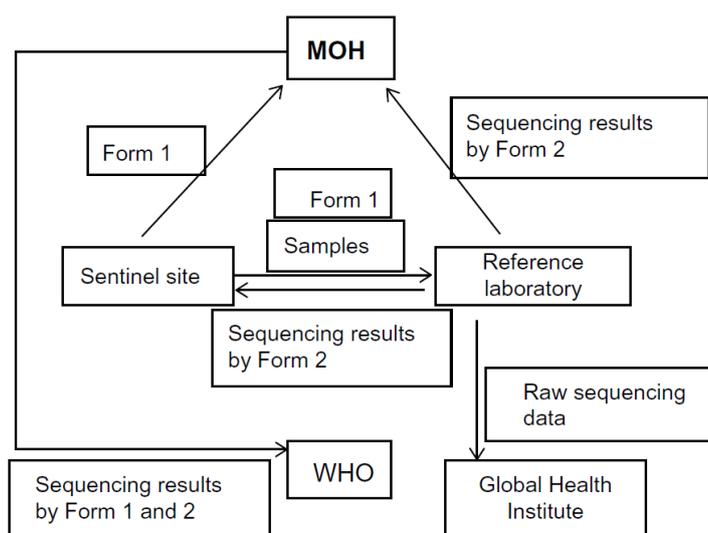
Além disso, a história da resistência à dapsona e seus efeitos negativos sobre as estratégias de controle da hanseníase na década de 1970, taxas de cura abaixo do ideal relatados por muitos países, o aumento gradual de casos de recidivas, a preocupação com a resistência à rifampicina, principal componente da PQT, e o avanço das técnicas de biologia molecular para a detecção de resistência às drogas nas doenças infecciosas no início dos anos 2000 impulsionaram o Programa Global de Hanseníase da OMS e especialistas de vários países a discutirem a elaboração de um sistema de vigilância para a resistência antimicrobiana (155).

Em 2006, o PGH, juntamente com onze países, instituiu uma rede de vigilância sentinela para detectar resistência, por meio do PCR-DNA *Sequencing*, às principais drogas utilizadas no tratamento da hanseníase, com ênfase na rifampicina, como, também, para avaliar a tendência da resistência medicamentosa na doença (154). No entanto, a rede de vigilância tornou-se operacional somente em 2008, inicialmente, com seis países: Brasil, Etiópia, Índia, Mali, Mianmar e Vietnã. Nos anos posteriores, outros países também incorporaram a rede, como: Benim, Burquina Fasso, China, Colômbia, Filipinas, Guiné, Iêmen, Indonésia, Madagascar, Moçambique, Nepal, Níger, Paquistão e Sri Lanka (14,155).

A rede de vigilância de resistência em hanseníase da OMS foi composta por: centros sentinelas e laboratórios de referência localizados nos países participantes,

Ministério da Saúde do país participante, Instituto de Saúde Global da École Polytechnique Fédérale de Lausanne, localizado na Suíça, e pela OMS.

As amostras biológicas dos pacientes de hanseníase eram coletas nos centros sentinelas e enviadas para análise de mutações nos laboratórios de referência. Os centros sentinelas reportavam ao Programa Nacional da Hanseníase do Ministério da Saúde informações clínicas dos pacientes investigados, enquanto os laboratórios de referência informavam os resultados da análise do sequenciamento aos centros sentinelas, ao Ministério da Saúde e ao Instituto de Saúde Global. Todos os repasses de informações ocorriam por meio de formulários padronizados da vigilância. Cada Ministério da Saúde reportava os resultados compilados para o Programa Global da OMS, que reunia e divulgava os dados globais. O Instituto de Saúde Global recebia e juntava todos os dados brutos do sequenciamento realizados para analisar as frequências de mutação (155), conforme demonstra a figura abaixo:



Fonte: (155) Matsuoka M. Global surveillance system to monitor the development of drug resistance in *Mycobacterium leprae*. 2015

**Figura 15** - Vigilância sentinela de resistência às drogas da hanseníase da OMS

Abreviatura: MOH = Ministry of Health (Ministério da Saúde), WHO = World Health Organization (Organização Mundial da Saúde)

No ano de 2009, a OMS publicou o primeiro Guia para a vigilância que trouxe detalhes sobre critérios de inclusão, extração do DNA, condições de PCR e métodos de sequenciamento. Com as lições aprendidas com a tuberculose, inicialmente, o foco da vigilância foram os casos de recidiva (resistência secundária), por apresentarem o maior risco de resistência aos medicamentos, podendo comprometer as medidas de

controle existentes (13,14). Somente em 2012, foi recomendado que amostras de casos novos multibacilares também fossem incluídas no protocolo de análise para resistência primária como um evento sentinela (156).

A rede de vigilância sentinela da OMS funcionou entre 2008 e 2015. Ao final desse período, os principais resultados foram publicados em um boletim epidemiológico (157) e em um artigo científico (158), bem como subsidiaram a recomendação, pela OMS, de continuidade do monitoramento da RAM na hanseníase (157).

Na Estratégia Global para a Hanseníase, de 2016, a inclusão do monitoramento da resistência aos principais antimicrobianos da hanseníase nos planos estratégicos nacionais, principalmente nos países de alta carga, é considerada um marco importante para o enfrentamento da doença (6). Por essa razão, para orientar os países a criarem e/ou estruturarem seu sistema de vigilância para RAM, a OMS publica, em 2017, o segundo Guia, que traz como recomendação a implantação/implementação de uma vigilância universal para a resistência secundária, investigada em todos os pacientes que precisam refazer o tratamento com a PQT; e uma vigilância sentinela para a resistência primária, investigada em uma amostra de 10% dos pacientes novos multibacilares com baciloscopia positiva (138).

#### 1.1.6.3 Contexto Epidemiológico da Resistência Antimicrobiana na Hanseníase

De acordo com a OMS, entre os sete anos da vigilância sentinela para RAM na hanseníase, 2009 e 2015, a média de casos novos e de recidiva da doença no mundo foram de 220.000 e 2.700, respectivamente, evidenciando a transmissão contínua, principalmente em países de alta carga (159).

Publicado em 2018, o estudo com os dados global da vigilância da OMS, analisou 1.932 casos de hanseníase investigados para resistência à rifampicina (1.143 casos de recidiva e 789 casos novos) obtidos em 19 países, entre os anos de 2009 e 2015. Desses, 74 casos apresentaram cepas de *M. leprae* com mutações conferindo resistência, apresentando uma taxa global de 3,8%. A resistência à rifampicina foi detectada em 58 casos de recidiva (5,1% de resistência secundária) e em 16 novos casos (2% de resistência primária). Com relação à resistência a dapsona e ofloxacino, as taxas globais foram de 5,3% e 1,3%, respectivamente. O estudo ainda destacou o aumento do número de casos de hanseníase resistentes reportados à OMS nos

últimos anos da vigilância e o potencial risco de resistência à PQT, especialmente em países de alta carga da doença, como Brasil e Índia, que foram os que mais notificaram casos de hanseníase com resistência à rifampicina (figura 16) (158).



Em 2019, apenas 11 países forneceram dados sobre a RAM para OMS. Dos 446 pacientes com hanseníase testados para RAM, 15 foram detectados monorresistência. Três pacientes apresentaram resistência a mais de um antimicrobiano utilizado no tratamento da doença (152).

Um estudo na China, analisou 290 pacientes com hanseníase entre novos e recidiva. Foram detectadas 11 mutações conferindo resistência: 7 em *folP1*, 1 em *gyrA*, 1 e *folP1+gyrA* e 1 *rpoB+gyrA* (160). Na França, no total de 160 amostras coletadas entre o período 2001 e 2015, foram detectadas mutações em pelo menos um gene em 18 casos (11,3%): *folP1* em 13 casos, *rpoB* em três casos e *gyrA* em dois casos (161). Por fim, na Índia entre os 239 pacientes com recidiva de hanseníase e 11 novos casos entre os anos de 2009–2016, 71 (28%) casos foram resistentes: 26 pacientes eram resistentes à rifampicina, 18 à dapsona, 10 a ofloxacino, 15 resistentes a duas drogas e 2 resistentes a três drogas (16).

Em estudos mais recentes relataram a ocorrência de RAM em pacientes com estados reacionais recorrentes, tanto do tipo 1 quanto do tipo 2, trazendo nas discussões uma alerta para as reações e a necessidade de monitorar também a RAM nesses pacientes (162,163). Além disso, um outro estudo de coorte demonstrou que cepas de *M. leprae* resistentes aos antimicrobianos também podem estar associadas à neuropatia na hanseníase (164).

No contexto nacional, desde a década de 1980, são relatados casos de hanseníase resistentes identificados por meio de pesquisas realizadas pelos centros de referência do país, principalmente nos casos de recidiva, haja vista que esses casos mais complexos eram acompanhados por esses centros (Quadro 4).

**Quadro 4 – Principais estudos sobre RAM na hanseníase no Brasil**

Autores e ano	Objetivo	Local e população	Drogas avaliadas	Técnica laboratorial utilizada	Resultados principais
Talhari et al., 1985 (165)	Discutir a resistência medicamentosa em pacientes residentes de um antigo leprosário de Manaus.	Fuam/AM, S/info	Dapsona	Mouse FootPad	Seis casos de sulfonorresistência secundária – quatro com resistência total e dois com resistência parcial.
Damasco et al., 1986(19)	Realizar um levantamento dos casos resistentes à dapsona.	Fuam/AM, 12 casos multibacilares em tratamento	Dapsona	Mouse FootPad	Oito casos apresentaram <i>M. leprae</i> resistentes à dapsona.
Costa et al., 1993(166)	Determinar a prevalência de sulfonorresistência na população de pacientes hansenianos virchowianos do município de Bauru, estado de São Paulo	ILSL/SP, 30 casos multibacilares virchowianos com mais de 5 anos de tratamento e IB > 3	Dapsona	Mouse FootPad	10 casos mostraram seus bacilos resistentes a DDS, sendo 4 com resistência parcial, 2 com resistência intermediária e 4 com resistência total.
Costa et al., 1993(167)	Determinar o fenótipo acetilador da isoniazida em pacientes de hanseníase suspeitos de terem desenvolvido resistência à DDS.	ILSL/SP, 21 casos de recidiva multibacilares	Dapsona	Mouse FootPad	11 casos mostraram seus bacilos resistentes a DDS. 2 com resistência parcial, 1 com resistência intermediária e 8 com resistência total.
Opromolla et al., 1993 (168)	Discutir a resistência medicamentosa em pacientes virchowianos em tratamento da hanseníase há muitos anos e ainda com lesões ativas.	ILSL/SP, 4 pacientes virchowianos em tratamento da hanseníase	Dapsona e Rifampicina	Mouse FootPad	Caso 1 - bacilos resistentes a dapsona e a rifampicina. Caso 2 - bacilos resistentes a dapsona e a rifampicina. Caso 3 - bacilos resistentes a dapsona, a rifampicina e a etionamida. Caso 4 - bacilos resistentes a dapsona e a rifampicina.
Diório et al., 2005(169)	Detectar cepas resistentes a DDS e RFP entre pacientes tratados, com sinais clínicos de recidiva.	ILSL/SP, 40 casos de recidiva multibacilares	Dapsona e Rifampicina	Mouse FootPad	11 casos com resistência a dapsona e 2 casos com resistência a rifampicina. 5/11 (45,4%) dos indivíduos apresentaram bacilos resistentes ao nível mais alto de concentração de DDS; 1/11 (9,1%), concentração intermediária; e 5/11 (45,4%), a menor concentração da droga. Obtiveram um índice de 12,5% de resistência a DDS (55% deles eram de monoterapia) e 5% a RFP entre 40 casos de pacientes que apresentaram sinais clínicos de recidiva.

Continua

## Continuação

Autores e ano	Objetivo	Local e população	Drogas avaliadas	Técnica laboratorial utilizada	Resultados principais
Diório et al., 2009(170)	Verificar a ocorrência de recidivas em hanseníase associadas à resistência a drogas, após término de tratamento com monoterapia sulfônica.	ILSL/SP, 28 casos de recidiva multibacilares	Dapsona e Rifampicina	Mouse FootPad	3 casos de resistência a dapsona e nenhuma a rifampicina. A recidiva foi associada à resistência medicamentosa em 10,7% (3/28) das amostras avaliadas.
Rocha et al., 2012(17)	Detectar recidiva e a contribuição da resistência aos medicamentos entre os doentes de hanseníase de cinco estados do Brasil.	Rio de Janeiro, Espírito Santo, Amazonas, Pará e Ceará, 145 casos de recidiva (Paucibacilar e Multibacilar)	Dapsona, Rifampicina e Ofloxacino	PCR-DNA Sequencing	1 resistência a dapsona e 3 multirresistentes. Todos MB e do sexo masculino.
Contreras et al., 2014(18)	Identificar polimorfismos nos genes <i>folP1</i> , <i>gyrA</i> e <i>rpoB</i> em pacientes com hanseníase tratados no estado do Amazonas, Brasil.	Fuam/AM, 126 casos novos 39 casos de recidiva 3 casos de retratamento 29 casos em reação	Dapsona, Rifampicina e Ofloxacino	PCR-DNA Sequencing	3 casos novos resistentes a rifampicina. 1 caso de recidiva multirresistente.
Albertini et al., 2016 (171)	Analisar, por meio da PCR convencional, regiões de resistência medicamentosa nos genes <i>rpoB</i> , <i>folP1</i> , <i>gyrA</i> do <i>M. leprae</i> .	Fuam/AM, 107 pacientes de recidiva	Dapsona, Rifampicina e Ofloxacino	PCR-DNA Sequencing	1 resistência a dapsona. 1 resistência a rifampicina.
Rosa et al., 2019(172)	Estudar resistência do <i>M. leprae</i> à PQT em população hiperendêmica de uma ex-colônia de hanseníase localizada na Amazônia Brasileira.	Ex-colônia Vila do Santo Antônio do Prata/Pará, 19 casos novos e 18 recidivas	Dapsona, Rifampicina e Ofloxacino	PCR-DNA Sequencing e Mouse Foot Pad	1 caso novo resistente a rifampicina. 1 caso novo resistente a dapsona. 4 casos novos multirresistentes. 2 casos de recidiva resistente a dapsona. 8 casos de recidiva multirresistente.

Fuam: Fundação Alfredo da Matta/Amazonas; ILSL: Instituto Lauro de Souza Lima/São Paulo; S/info: Sem informação

Fonte: Elaborado pela autora

Na observação desses estudos, podem-se citar como limitações encontradas o tamanho e o critério de seleção das amostras, que são bastante específicos. A dapsona foi a droga mais investigada, provavelmente devido à monoterapia utilizada por longos anos no tratamento da hanseníase no país. Apenas dois estudos tiveram como objetivo investigar a resistência primária na população estudada. Os resultados expressivos de RAM primária achados por Rosa et al. (172) em pacientes de hanseníase e seus familiares que residem em uma área de ex-colônia trouxeram diversos questionamentos, inclusive, um deles é se as proporções encontradas no estudo representam o verdadeiro cenário epidemiológico do país ou se refletem somente a realidade dessas áreas de alta endemicidade, uma vez que nenhum estudo de abrangência nacional foi realizado até o momento.

Na participação da vigilância sentinela da OMS, no período de 2009 a 2015, o Brasil investigou para resistência à rifampicina um total de 353 casos de hanseníase (321 casos de recidiva e 32 casos novos) acompanhados em unidades de referência, encontrando 32 casos resistentes, com uma proporção geral de 9,1%, evidenciando a circulação de cepas resistentes na comunidade. A proporção de resistência secundária foi de 8,4% (27/321), e a de resistência primária de 15,6% (5/32). O país apresentou proporções de resistência à rifampicina (geral, primária e secundária) maiores do que as proporções globais apresentadas pela OMS, que foram de 3,8%, 5,1% e 2%. Além disso, a proporção geral de resistência à dapsona foi de 12,7%, e ao ofloxacino de 3% (158).

Conseqüentemente, a importância da investigação da infecção resistente do *M. leprae* no Brasil foi destacada após a publicação desses estudos, que demonstraram a necessidade de um sistema de vigilância mais abrangente no país, a fim de conhecer a real magnitude do evento no país.

### **1.1.7 Vigilância Molecular da Resistência Antimicrobiana em Hanseníase no Brasil**

As recomendações de prevenção e vigilância da resistência antimicrobiana para hanseníase vêm desde a década de 1970 no Brasil, tendo como referência documentos internacionais e a experiência de especialistas brasileiros (82,173). O quadro abaixo descreve as principais recomendações.

**Quadro 5 – Principais recomendações para vigilância da RAM em hanseníase descritas nos documentos publicados pelo Ministério da Saúde, no período de 1973 a 2020, no Brasil**

<b>Documento (Ano de publicação)</b>	<b>Principais Recomendações</b>
Guia para o controle da Lepra (1973)(173)	Recomenda tratamento com Clofazimina (100mg/dia) para os pacientes com sulfonorresistência.
Manual de normas e procedimentos de enfermagem de tipo ambulatorial no controle da hanseníase (1978)(174)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Determina que deve ser suspeitada a sulfonorresistência secundária em paciente virchowiano ou dimorfo que apresentar piora clínica e bacterioscópica, com bacilos sólidos encontrados no esfregaço intradérmico obtido em lesão nova em atividade.</li> <li>- Preconiza a confirmação clínica de resistência à sulfona, se os casos mencionados anteriormente não responderem ao tratamento pela sulfona no período de 3 a 6 meses.</li> <li>- Recomenda tratamento para pacientes de sulfonorresistência com Rifampicina (600mg/dia) e Clofazimina (100mg/dia) nos primeiros dois a três meses, e uso somente da Clofazimina (100mg/dia) após esse período.</li> <li>- Orienta o uso de medicação associada (Rifampicina e Dapsona) no tratamento de pacientes virchowianos e dimorfos a fim de evitar a sulfonorresistência.</li> </ul>
Guia para o controle da hanseníase (1983)(175)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Recomenda tratamento para pacientes de sulfonorresistência com Rifampicina (600mg/dia) e Clofazimina (100mg/dia) nos primeiros três meses, e uso contínuo da Clofazimina (100mg/dia) após esse período, até 10 anos após a inativação do caso, nos casos multibacilares.</li> <li>- Descreve caso inativo todo paciente de hanseníase que não mais apresentar sinal de atividade clínica da doença e que tenha bacterioscopia negativa.</li> </ul>
Normas técnicas e procedimentos para utilização dos esquemas de PQT no tratamento de hanseníase (1989)(176)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Recomenda o uso da PQT-OMS no tratamento de pacientes novos com hanseníase com o intuito de prevenir o desenvolvimento de bacilos resistentes à dapsona.</li> <li>- Orienta a obrigatoriedade de iniciar o tratamento com PQT-OMS em pacientes tratados anteriormente com monoterapia sulfônica ou esquema DNDS pela possibilidade de ocorrerem recidiva e resistência medicamentosa.</li> </ul>
Legislação sobre o controle das doenças na área de dermatologia sanitária: PORTARIA Nº 814 (1993)(177)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Determina que deve ser suspeitada a resistência medicamentosa em pacientes com reativação da doença.</li> <li>- Descreve reativação como surgimento de novos sinais da doença durante o tratamento quimioterápico.</li> </ul>
Legislação sobre o controle da hanseníase no Brasil: PORTARIA Nº 1073 (2000)(178)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Preconiza a referência de pacientes que foram reintroduzidos a PQT-OMS (casos de recidiva) e que não responderam favoravelmente ao tratamento, a fim de investigar a resistência medicamentosa.</li> <li>- Define recidiva como ocorrência de sinais de atividade clínica da hanseníase, após a alta por cura, afastada a possibilidade de estados reacionais.</li> </ul>

Continua

## Continuação

Documento (Ano de publicação)	Principais Recomendações
PORTARIA CONJUNTA Nº 125: Define ações de controle da hanseníase (2009)(179)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Recomenda a investigação dos casos suspeitos de recidiva nas unidades de referência e, uma vez confirmada a recidiva, orienta as unidades de referência a coletar e encaminhar material biológico do paciente para os centros nacionais de referência, a fim de investigar a resistência medicamentosa.</li> <li>- Descreve caso de recidiva aquele paciente que, após 5 (cinco) anos da alta por cura, apresentar lesões cutâneas e/ou exacerbação de lesões antigas, novas alterações neurológicas que não respondem ao tratamento com talidomida e/ou corticosteroide nas doses e prazos recomendados, baciloscopia positiva, quadro compatível com pacientes virgens de tratamento.</li> <li>- Reforça a realização da vigilância da recidiva e da resistência medicamentosa em pacientes pertencentes a áreas de ex-colônia.</li> </ul>
NOTA INFORMATIVA Nº 51: Recidiva, insuficiência, falência e resistência medicamentosa na hanseníase (2015)(180)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Orienta a referência de paciente com suspeita de falência terapêutica às unidades de referência por ter maior probabilidade de apresentar bacilos com resistência medicamentosa.</li> <li>- Define como caso de falência terapêutica aqueles pacientes que não apresentam sinais de melhora clínica durante o tratamento regular com a PQT ou aqueles que, ao final do segundo ciclo de tratamento, ainda apresentam: (i) sinais de atividade clínica e/ou; (ii) presença de bacilos íntegros na baciloscopia e/ou na histologia de pele; e/ou (iii) manutenção de altos níveis de Elisa Anti-PGL1 (IGM).</li> <li>- Estabelece o fluxo de envio de amostra biológica das Unidades Federativas para seu respectivo centro nacional de referência.</li> </ul>
NOTA INFORMATIVA Nº 31: Implantação do protocolo de Investigação da Resistência Medicamentosa em Hanseníase e estabelecimento do fluxo de envio de amostra (2018)(181)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Recomenda a investigação da resistência antimicrobiana em uma amostra dos casos novos multibacilares com baciloscopia positiva e com índice bacilosópico igual ou maior que 2, em todos os casos confirmados de recidiva e em todos os casos suspeitos de falência terapêutica.</li> <li>- Redefine o fluxo de envio de amostra biológica das unidades de referência para os centros nacionais de referência e estabelece prazos de envio.</li> </ul>
NOTA TÉCNICA Nº 8: Vigilância da resistência antimicrobiana em hanseníase (2020)(20)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Recomenda a implementação da rede de vigilância da resistência antimicrobiana nas Unidades Federativas com a identificação das unidades de sentinelas, acesso aos exames de baciloscopia e biópsia, estabelecimento de fluxos de envio de amostra para o Lacen e tratamento e acompanhamento dos pacientes resistentes.</li> <li>- Orienta o registro das informações dos pacientes no sistema indicado para a investigação da resistência antimicrobiana e a vigilância dos contatos dos pacientes resistentes.</li> </ul>

Fonte: Biblioteca Virtual em Saúde e arquivos do Instituto Lauro de Souza Lima.

Atualmente, o controle da hanseníase no Brasil envolve diversas ações estratégicas voltadas para detecção precoce, tratamento oportuno, prevenção de incapacidades e fortalecimento do sistema de vigilância. No âmbito nacional, essas ações, juntamente com a assistência multidisciplinar, devem acontecer, prioritariamente, na atenção primária à saúde, no entanto, em situações mais complexas, devem ser desempenhadas, também, na atenção secundária e terciária à saúde do paciente (5,7).

Em consonância com a Estratégia Global da OMS, de 2016 a 2020, o Ministério da Saúde, através da Coordenação-Geral de Vigilância das Doenças em Eliminação (CGDE), tem desenvolvido novas estratégias para o enfrentamento da hanseníase e suas complicações com o objetivo de contribuir para a diminuição da carga da doença no país. O fortalecimento da rede de laboratórios e dos centros de referência para a implementação das ações de vigilância da RAM é uma dessas estratégias (2). Ademais, o Ministério da Saúde, no seu Plano de ação nacional de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos no âmbito da saúde única 2018-2022, estabelece, também, como uma das atividades estratégicas a avaliação dos métodos diagnósticos para identificação oportuna da RAM no *M. leprae*, a fim de apoiar a vigilância (182).

A rede de vigilância molecular da RAM em hanseníase no Brasil iniciou-se em 2009, com intuito de responder à rede de vigilância sentinela da OMS. A rede tinha como objetivo detectar resistência secundária à rifampicina, entre os casos multibacilares que recidivaram, após serem submetidos a tratamento padrão completo de PQT/OMS no Brasil. A rede abrangeu centros clínicos de referência de 15 UF do país e laboratórios de cinco institutos: i) Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru, São Paulo; ii) Fundação Alfredo da Matta, Manaus, Amazonas; iii) Centro de Referência Nacional em Hanseníase/Dermatologia Sanitária, Uberlândia, Minas Gerais; iv) Centro de Referência Marcelo Cândia, Marituba, Pará; v) Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. Cada um desses institutos foi designado para apoiar de 2 a 5 UF. Com a rede, foi possível aperfeiçoar a técnica do PCR-DNA *Sequencing* e a identificação de mutações em 3 dos 5 institutos, e o monitoramento da RAM foi realizado durante cinco anos, entre 2010 e 2015 (183–185).

No final de 2015, o Brasil ampliou a investigação da RAM em hanseníase para todo país com a recomendação de investigar casos de recidiva, casos em tratamento com manutenção dos sinais e sintomas da doença (os suspeitos de falência

terapêutica) e pacientes residentes de áreas de ex-colônia por possuírem maiores probabilidades de apresentarem bacilos resistentes. A investigação laboratorial ficou ao encargo somente dos três laboratórios que realizavam o PCR-DNA *Sequencing* e a detecção de mutações. Cada laboratório também ficou responsável por um grupo de UF (180). Contudo, na prática, foi observado que a investigação da resistência ficou centralizada nos critérios clínicos definidos pelo médico da assistência de forma individualizada e em alguns centros de pesquisa.

Com base na recomendação da Estratégia Global de 2016 e do segundo Guia de Vigilância da OMS, ao longo do ano 2017 até metade de 2018, o Ministério da Saúde promoveu várias discussões com o propósito de reestruturar a rede de vigilância existente para uma vigilância universal para a resistência secundária e uma vigilância sentinela para a resistência primária (186).

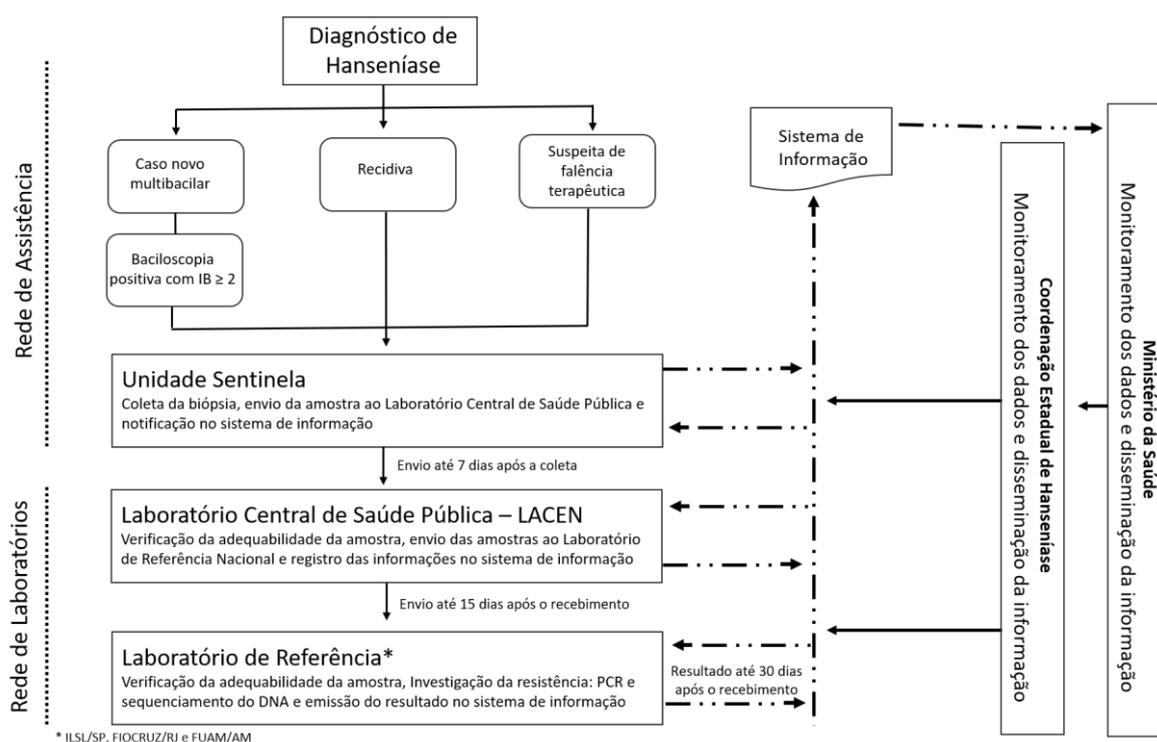
Em outubro de 2018, um plano de vigilância para resistência aos antimicrobianos da hanseníase foi implementado no país. A rede de vigilância é composta por unidades de referência para a hanseníase (municipais, regionais ou estaduais) distribuídas nas 27 UF, pelo Lacen e por Laboratórios de Referência (181). Tem como propósito a detecção de resistência primária e secundária à rifampicina e à dapsona, drogas da PQT, e ao ofloxacino, droga de segunda escolha para os casos de intolerância e resistência, por meio de amostras clínicas (biópsia de pele) obtidas da borda de uma lesão do paciente e de PCR-DNA *Sequencing*, assim como, também, o tratamento e o acompanhamento dos casos resistentes (20).

A biópsia de pele é realizada nas unidades de referência e enviada para o Lacen do estado, que, por sua vez, encaminha as amostras clínicas para o laboratório de referência que assiste à sua UF. Ao todo, são três laboratórios de referência, e cada um deles é responsável pela avaliação das amostras das seguintes UF:

- Instituto Lauro Souza Lima/Bauru: Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal, Tocantins, Pará e Acre.
- Fiocruz/Rio de Janeiro: Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará e Piauí.
- Fundação Alfredo da Matta/Manaus: Amazonas, Rondônia, Roraima, Amapá e Maranhão.

Para o registro de dados da vigilância foi desenvolvido um formulário eletrônico no website do FormSus pelo Ministério da Saúde para vigilância epidemiológica e monitoramento dos pacientes de hanseníase selecionados para a investigação da RAM, bem como para acompanhamento de todas as fases da investigação (20). O FormSus é uma plataforma virtual para criação de formulários públicos na WEB com a finalidade de atender ao SUS e aos órgãos públicos (187).

Em consonância com a recomendação da OMS, a vigilância nacional preconiza a investigação da resistência primária em uma amostra de 10% dos casos novos multibacilares com baciloscopia positiva com IB maior ou igual a 2 detectados no ano, assim como a investigação da resistência secundária em todo caso de hanseníase classificado como recidiva e como suspeita de falha terapêutica sem qualquer restrição relacionada à baciloscopia (20).



Fonte: Elaborado pela autora

**Figura 17** - Sistema de vigilância da RAM em hanseníase no Brasil.

Conforme as diretrizes nacionais (5), é considerado:

- Caso novo multibacilar: todo aquele paciente que nunca recebeu tratamento anteriormente para hanseníase e que, no momento do diagnóstico, apresentou mais

de cinco lesões de pele e/ou baciloscopia positiva e/ou mais de um nervo comprometido.

- Caso de recidiva: todo caso de hanseníase tratado regularmente com esquemas oficiais padronizados e corretamente indicados, que recebeu alta por cura e que voltou a apresentar novos sinais e sintomas clínicos de doença infecciosa ativa.

- Falência terapêutica: todo paciente diagnosticado com hanseníase que não apresenta sinais de melhora clínica durante o tratamento regular, com indicação adequada de 6 ou 12 doses PQT e/ou que apresenta sinais de atividade clínica e/ou presença de bacilos íntegros bem definidos no raspado dérmico ou exame histopatológico de pele e manutenção de altos níveis de anticorpos IgM anti-PGL1 (IgM) que é detectado por ELISA.

A implementação da vigilância da RAM em hanseníase e sua efetivação possibilitarão a ampliação da investigação e a detecção de casos resistentes, além disso, seus dados permitirão a realização de novos estudos voltados ao conhecimento da magnitude, da disseminação, dos fatores de risco e do impacto que a RAM possa ter no controle da doença no país.

### **1.1.8 Revisão Sistemática da Literatura**

Nos dias de hoje, devido a inúmeras inovações na área da saúde, a tomada de decisão dos gestores e profissionais necessitam estar embasada em princípios científicos, a fim de selecionar a intervenção mais adequada (188). A revisão sistemática é um tipo de pesquisa secundária que se baseia na literatura, com a finalidade de auxiliar nessa tomada de decisões, como também serve de base para a elaborar protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas, apontar lacunas no conhecimento que requerem pesquisa e melhorar a utilização de recursos de pesquisa. O estudo aplica métodos sistemáticos, transparentes e reprodutíveis e tem como objetivo sumarizar as pesquisas prévias, sejam elas estudos primários ou revisões sistemáticas (overview), (189).

Os principais passos para a elaboração de revisões sistemáticas são: a) elaboração da pergunta de pesquisa; b) elaboração e registro do protocolo de pesquisa; c) a busca na literatura; d) seleção dos artigos; e) extração dos dados; f)

avaliação da qualidade metodológica dos dados extraídos; g) síntese dos dados (metanálise); h) avaliação da qualidade das evidências; e i) redação e publicação dos resultados (189).

A pergunta investigativa precisa ser bastante definida e sensível para o tema escolhido, conseqüentemente, a criação de uma estrutura lógica para definir explicitamente a pergunta e maximizar o alcance da pesquisa é essencial (190,191). Existem alguns acrônimos que ajudam na estruturação das perguntas e o mais utilizado deles é o PICO - **P**aciente, **I**ntervenção, **C**omparação e **“O**utcomes” (desfecho) (192).

O protocolo de uma revisão sistemática assemelha-se a um projeto de pesquisa, na qual descreve os objetivos, a pergunta de investigação e o método a ser executado. Atualmente, o registro do protocolo é primordial para uma futura publicação. Protocolos de revisões sistemáticas em saúde e assistência social são normalmente registrados no International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO), que é um banco de dados internacional que tem como objetivo aumentar a transparência e a reprodutibilidade da pesquisa, assim como evitar duplicações de esforços sobre um mesmo tema (193).

A avaliação da qualidade metodológica dos estudos significa discernir sobre a validade de seus resultados e confiança que se terá neles. Essa avaliação crítica inclui análise de possíveis fontes de viés como o de seleção, aferição e confundimento. Existem vários instrumentos disponíveis para auxiliar nessa avaliação crítica que depende do tipo de delineamento do estudo avaliado, geralmente, os instrumentos estão dispostos como checklists (194,195).

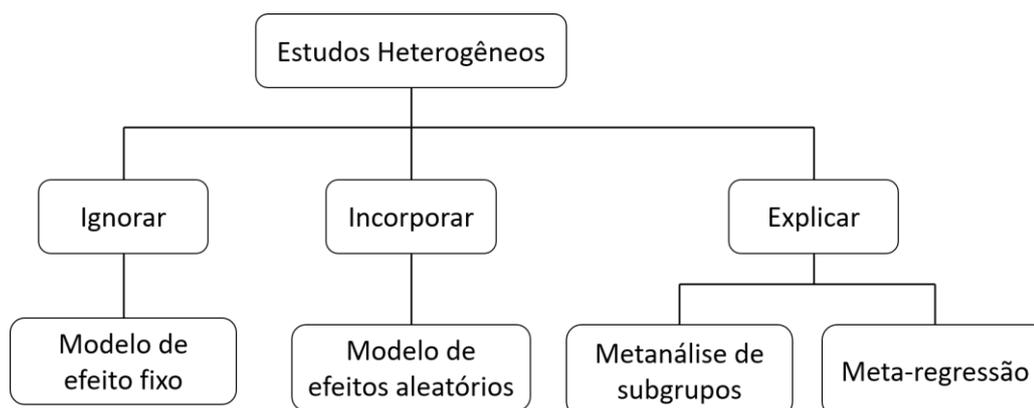
Em revisão sistemática, a principal forma de síntese quantitativa é a metanálise que é uma técnica estatística utilizada para combinar resultados provenientes de diferentes estudos e, com isso, produzir estimativas por meio de medidas de frequência e de associação que resumem o todo (196).

No entanto, as etapas anteriores a metanálise são primordiais, como:

- 1) Verificar a existência ou não de viés de publicação: consiste em incluir na revisão sistemática uma amostra de estudos não representativa da totalidade dos estudos realizados. Em especial, quando se realiza uma busca na literatura, há maior probabilidade de encontrar estudos com resultados positivos. A presença desse viés pode ser identificada por meio de gráficos de funil, o mais utilizado, e de testes estatísticos. No gráfico de funil, os estudos

“pequenos” estão plotados na parte mais larga do funil. Na ausência de viés, a dispersão dos pontos será semelhante a uma pirâmide simétrica (197,198).

- 2) Testar a homogeneidade entre os estudos: compreende testar a variabilidade entre os estudos. Quando a variabilidade não é apenas aleatória, dizemos que os estudos são heterogêneos. Técnicas estatísticas são utilizadas para verificar a existência de heterogeneidade nos achados, como: i) o teste do qui-quadrado a um nível de significância de  $p < 0,10$ ; ii)  $I^2$ -quadrado ( $I^2$ ), que indica o percentual da variação do resultado entre os estudos e que varia de 0 a 100%. Um  $I^2$  superior a 50% indica heterogeneidade substancial, e acima de 75%, heterogeneidade considerável; iii) Teste Q de Cochran consiste em calcular todas as variâncias envolvidas no estudo e dividir a maior delas pela soma de todas; iv) Gráfico de floresta, que é um gráfico que mostra informações individuais de cada estudo, e uma delas é a medida de efeito e seu intervalo de confiança, sendo que, quanto maior é o intervalo, maior é a variabilidade dentro do estudo (196–198).
- 3) Modelar a variação e adotar um modelo para análise: são dois os modelos estatísticos mais utilizados na metanálise: os de efeito fixo e os de efeitos aleatórios. O modelo de efeito fixo é utilizado quando pressupõe que o efeito de tratamento é idêntico entre os estudos e tem como objetivo estimar um efeito de tratamento para uma população específica e não extrapolar para outras populações. O modelo de efeitos aleatórios é usado para combinar vários estudos que têm o mesmo objetivo, mas que não foram conduzidos da mesma maneira. Nesse caso, o efeito sumário é a estimativa da média das distribuições dos tamanhos de efeito de cada estudo. Nesse modelo, é possível extrapolar para outras populações, o que torna a análise mais abrangente (196,199). Para a escolha de qual modelo adotar, é necessário levar em consideração os resultados das duas etapas anteriores. Quando são constatadas heterogeneidades no efeito do tratamento, sugerem-se as seguintes abordagens:



Fonte: (198) Higgins J, Green S. Cochrane handbook for systematic reviews of interventions. 2011

**Figura 18** - Tratamento da heterogeneidade na metanálise

A metanálise de subgrupos é uma análise de comparação entre os grupos do estudo. Trata-se de um método de segmentação de tal modo que exista grande homogeneidade dentro de cada grupo e heterogeneidade entre eles, e a metarregressão é usada para investigar se algum fator específico está influenciando os resultados (198,199).

Apesar de não necessariamente apresentarem recomendações de ações em sua conclusão, as revisões sistemáticas servirão para embasar recomendações como intervenções, exposições e diagnósticos. Assim, a qualidade da evidência avalia a confiança nos resultados encontrados, se há evidências suficientes para responder de forma conclusiva à questão investigativa e, se houver, quão forte é a evidência (200). Também existem instrumentos que auxiliam na avaliação dessa qualidade, padronizando e classificando as evidências. O mais comumente utilizado é o GRADE (Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation), um sistema que foi desenvolvido por um grupo de pesquisadores que visa a padronização de todo processo avaliativo (201).

Apesar da escrita da revisão sistemática ser uma das etapas finais, na prática, ela acontece no decorrer de todo o processo. O Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses (PRISMA), e suas extensões, é um guia metodológico que orienta a redação das revisões sistemáticas. A estrutura é adaptada conforme a natureza e escopo da revisão (193).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar acurácia dos testes diagnósticos para a resistência antimicrobiana e a frequência de resistência antimicrobiana nos pacientes de hanseníase.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Analisar acurácia diagnóstica dos testes para resistência antimicrobiana em hanseníase, por meio de uma revisão sistemática da literatura;
- 2) Determinar a frequência da resistência antimicrobiana nos pacientes de hanseníase no Brasil;
- 3) Investigar os fatores associados à resistência antimicrobiana nos pacientes de hanseníase no Brasil.

### 3 MÉTODOS

A presente tese foi realizada com base em duas metodologias:

1. Uma revisão sistemática da literatura para o conhecimento amplo da acurácia dos testes diagnósticos e da frequência de resistência antimicrobiana na hanseníase.

2. Um estudo com os dados da vigilância da RAM em hanseníase no Brasil.

Os passos detalhados estão descritos a seguir.

#### 3.1 ESTUDO DE REVISÃO SISTEMÁTICA PARA ANALISAR A ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DOS TESTES PARA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E DETERMINAR A FREQUÊNCIA DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA NOS PACIENTES DE HANSENÍASE.

##### 3.1.1 Desenho do Estudo

Neste estudo, a revisão sistemática foi escolhida com intuito de reunir e sintetizar as várias evidências descritas na literatura sobre os testes diagnósticos para RAM nos pacientes de hanseníase e sobre a proporção de RAM nos pacientes de hanseníase rastreados, a fim de criar uma visão geral sobre ambos.

O protocolo elaborado para este estudo adotou as recomendações do PRISMA e foi registrado no PROSPERO.

As perguntas da pesquisa foram elaboradas à luz do método PICO, que prevê a definição como elementos de análise: participante (P), intervenção (I), comparação (C) e desfecho/outcomes (O) (202).

1ª Pergunta (Objetivo primário): Qual é a acurácia diagnóstica dos testes de detecção de RAM na hanseníase em comparação com o teste padrão de referência?

2ª Pergunta (Objetivo secundário): Qual é a proporção de RAM na população avaliada formada por pacientes com hanseníase?

A acurácia de um teste diagnóstico, seja ele laboratorial ou exame clínico e físico, é definida como a sua capacidade de fornecer resultados positivos nas pessoas que de fato estão doentes e resultados negativos naquelas que não estão doentes.

As medidas de análise da acurácia são: sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos, razões de verossimilhanças positiva e negativa, área sob a curva ROC, razão das chances de diagnóstico e índice de Youden (203).

### 3.1.2 Caracterização da Amostra e os Critérios de Inclusão e Exclusão

**Tipo de estudo:** todos os tipos de estudos que avaliaram a acurácia de teste diagnóstico para RAM em hanseníase e o compararam com um teste padrão de referência foram incluídos para o objetivo primário, e todos os estudos observacionais que rastrearam a RAM em pacientes com hanseníase foram incluídos para o objetivo secundário.

Estudos envolvendo animais também foram incluídos, pois, como o *M. Leprae* não é cultivável, alguns testes foram realizados utilizando inoculação em animais, mesmo que as amostras testadas sejam de seres humanos.

Estudos de revisão e relatos de casos foram excluídos.

**Tipos de participantes:** indivíduos com hanseníase, de qualquer idade e de qualquer forma clínica, testados para RAM foram incluídos.

Pacientes sem diagnóstico de hanseníase foram excluídos.

**Tipo de intervenção:** todos os testes de susceptibilidade às drogas (animal e molecular) utilizados nos pacientes de hanseníase para detectar RAM foram incluídos.

**Tipo de grupo de comparação:** para o objetivo primário, foram utilizados como grupo comparador os pacientes de hanseníase que não apresentaram resistência antimicrobiana pelo método diagnóstico padrão de referência. E, para o objetivo secundário, os pacientes de hanseníase que não apresentaram resistência antimicrobiana.

**Tipos de desfechos:** o desfecho primário foi analisar acurácia diagnóstica, sensibilidade e especificidade dos testes diagnósticos para RAM na hanseníase. O desfecho secundário foi a proporção de RAM nos pacientes de hanseníase rastreados.

Para este estudo, foram adotadas as seguintes definições: i) Os trabalhos de acurácia diagnóstica foram definidos como estudos que compararam duas ou mais técnicas complementares em que os testes-índice foram sempre avaliados em comparação com um padrão de referência e em que um grupo caso com resistência antimicrobiana e um grupo controle sem resistência foram incluídos; e ii) Os trabalhos

de rastreio foram definidos como estudos em que apenas uma técnica foi avaliada, e testes complementares foram utilizados como estratégia de triagem, sem se compararem esses testes com um padrão de referência.

### **3.1.3 Estratégia de Busca e Seleção dos Estudos**

A busca eletrônica foi realizada nas bases bibliográficas da área da saúde PUBMED, EMBASE, Web of Science, Scopus, Scielo e LILACS, com a combinação de termos/descriptores padronizados definidos nos idiomas português e inglês, em abril de 2020.

As referências dos artigos selecionados também foram pesquisadas para estudos adicionais. Em complemento, a literatura cinzenta também foi explorada como bases de dados de dissertações, teses e anais de reuniões.

Não houve nenhuma restrição de data ou idioma na busca das evidências. As estratégias de busca utilizadas nas bases bibliográficas foram estruturadas conforme o quadro abaixo:

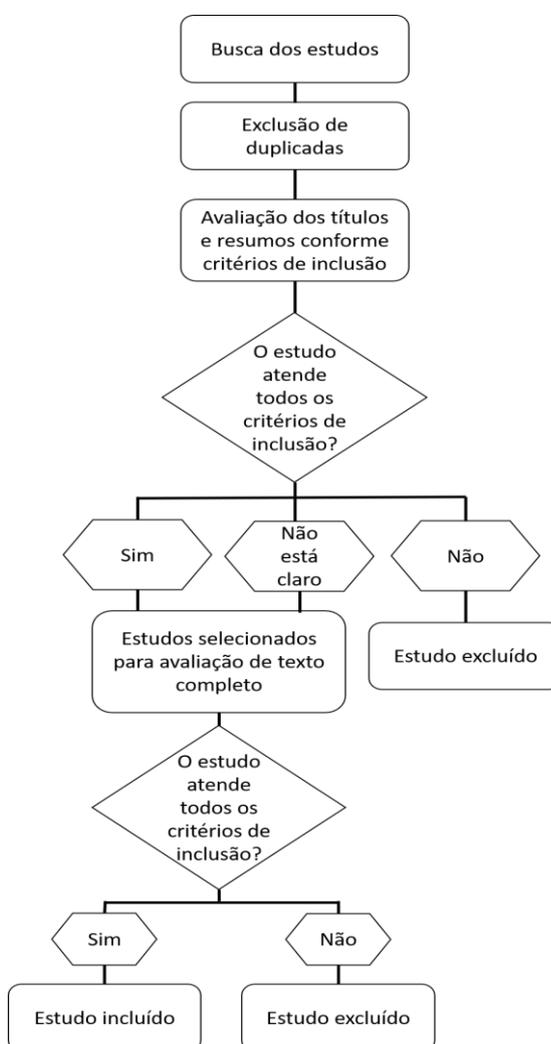
Quadro 6 – Bases bibliográficas e estratégia de busca

BANCO DE DADOS	ESTRATÉGIA DE BUSCA
PUBMED	<p>#4 Search (((((((((((((((foot*) OR shepard) OR polymerase*) OR qpcr*) OR melt) OR <i>folP1</i>) OR <i>rpoB</i>) OR <i>gyrA</i>) OR sequenc*) OR microarray) OR hybridization) OR hrm) OR genotype) OR gyrase)) AND resist*) AND ((lepr*) OR hans*)</p> <p>#3 Search (((((((((((((((foot*) OR shepard) OR polymerase*) OR qpcr*) OR melt) OR <i>folP1</i>) OR <i>rpoB</i>) OR <i>gyrA</i>) OR sequenc*) OR microarray) OR hybridization) OR hrm*) OR genotype) OR gyrase</p> <p>#2 Search resist*</p> <p>#1 Search (lepr*) OR hans*</p>
EMBASE	<p>#1 AND #2 AND #3</p> <p>#3 foot* OR shepard OR polymerase* OR qpcr* OR melt* OR <i>folP1</i> OR <i>rpoB</i> OR <i>gyrA</i> OR sequenc* OR 'microarray'/exp OR 'hybridization'/exp OR (high AND resolution AND melt*) OR 'genotype'/exp OR '<i>folP1</i> gene'/exp OR 'rna polymerase beta subunit'/exp OR 'gyrase'</p> <p>#2 resist*</p> <p>#1 lepr* OR hans*</p>
WEB OF SCIENCE	<p>#3 AND #2 AND #1</p> <p>Índices=SCI-EXPANDED, SSCI, A&amp;HCI, CPCI-S, CPCI-SSH, ESCI Tempo estipulado=Todos os anos</p> <p># 3 Todos os campos: (foot*) OR Todos os campos: (shepard) OR Todos os campos: (polymerase*) OR Todos os campos: (qpcr*) OR Todos os campos: (melt*) OR Todos os campos: (<i>folP1</i>) OR Todos os campos: (<i>rpoB</i>) OR Todos os campos: (<i>gyrA</i>) OR Todos os campos: (sequenc*) OR Todos os campos: (microarray) OR Todos os campos: (hybridization) OR Todos os campos: (hrm*) OR Todos os campos: (genotype) OR Todos os campos: (gyrase)</p> <p>Índices=SCI-EXPANDED, SSCI, A&amp;HCI, CPCI-S, CPCI-SSH, ESCI Tempo estipulado=Todos os anos</p> <p># 2 Todos os campos: (resist*)</p> <p>Índices=SCI-EXPANDED, SSCI, A&amp;HCI, CPCI-S, CPCI-SSH, ESCI Tempo estipulado=Todos os anos</p> <p># 1 Todos os campos: (lepr*) OR Todos os campos: (hans*)</p> <p>Índices=SCI-EXPANDED, SSCI, A&amp;HCI, CPCI-S, CPCI-SSH, ESCI Tempo estipulado=Todos os anos</p>
SCOPUS	<p>(TITLE-ABS-KEY (leprosy)) AND (ALL ( resist*)) AND (( ALL ( foot*) OR ALL ( shepard) OR ALL ( polymerase*) OR ALL ( qpcr*) OR ALL ( melt*) OR ALL ( <i>folP1</i>) OR ALL ( <i>rpoB</i>) OR ALL ( <i>gyrA</i>) OR ALL ( sequenc*) OR ALL ( microarray) OR ALL ( hybridization) OR ALL ( hrm*) OR ALL ( genotype) OR ALL ( gyrase) ))</p>
SCIELO	<p>((((((((((((((((((foot*) OR shepard) OR polymerase*) OR qpcr*) OR melt) OR <i>folP1</i>) OR <i>rpoB</i>) OR <i>gyrA</i>) OR sequenc*) OR microarray) OR hybridization) OR hrm) OR genotype) OR gyrase)) AND resist*) AND ((lepr*) OR hans*)</p>
LILACS	<p>((((((((((((((((((foot*) OR shepard) OR polymerase*) OR qpcr*) OR melt) OR <i>folP1</i>) OR <i>rpoB</i>) OR <i>gyrA</i>) OR sequenc*) OR microarray) OR hybridization) OR hrm) OR genotype) OR gyrase)) AND resist*) AND ((lepr*) OR hans*)</p>

Fonte: Elaborado pela autora

Além do uso dos operadores booleanos “AND” e “OR”, o símbolo “\*” também foi utilizado, e sua sintaxe identificou pequenas diferenças em cada base bibliográfica utilizada, possibilitando recuperar todas as variações com sufixos das palavras de origem.

A seleção de todos os estudos incluídos na revisão sistemática foi feita por dois revisores independentes, por meio, primeiramente, da examinação dos títulos e resumos e, posteriormente, da leitura do estudo na íntegra. As divergências sobre a inclusão ou exclusão de algum trabalho foram resolvidas por consulta a um terceiro revisor. Nessa etapa, foi utilizado o software EPPI-Reviewer 4 versão 4.11.3.0 (EPPI Centre, Londres, Reino Unido), que auxiliou no gerenciamento e na análise dos dados.



Fonte: Elaborado pela autora

**Figura 19** - Fluxograma da seleção dos estudos para a revisão sistemática

### 3.1.4 Extração e Avaliação da Qualidade dos Dados

Duas planilhas exploratórias foram elaboradas no Microsoft Excel® versão 2019 para a extração dos dados dos estudos selecionados para a análise final. Uma planilha para a acurácia, conforme as informações presentes no quadro 7, e outra para a proporção de resistência, no quadro 8. Para ambas, também foram inseridos itens para avaliar a qualidade dos estudos.

**Quadro 7 – Principais dados retirados dos estudos de acurácia**

Características dos estudos	Número de identificação do estudo, tipo de estudo, autor, ano, título, tipo de publicação, país e desenho do estudo
Características dos participantes	Tipo de <i>Mycobacterium</i> , classificação operacional, baciloscopia, tratamento, tipo de resistência (primária ou secundária) e resistência a qual droga
Características do teste índice e do teste de referência	Teste de inoculação animal ou teste de biologia molecular
Valores das medidas de acurácia	Verdadeiro positivo (VP), verdadeiro negativo (VN), falso-positivo (FP), falso-negativo (FN), sensibilidade e especificidade

Fonte: Elaborado pela autora

**Quadro 8 – Principais dados retirados dos estudos de rastreio**

Características dos estudos	Número de identificação do estudo, tipo de estudo, autor, ano, título, tipo de publicação, país e desenho do estudo
Características dos participantes	Tipo de <i>Mycobacterium</i> , classificação operacional, baciloscopia, tratamento, tipo de caso, quais drogas testadas, tipo de resistência (primária ou secundária) e resistência a qual droga
Características do teste utilizado	Teste de inoculação animal ou teste de biologia molecular
Valores das medidas de proporções	Número de casos resistentes e total de casos investigados

Fonte: Elaborado pela autora

A avaliação da qualidade metodológica dos estudos incluídos é uma fase muito importante na revisão sistemática, pois nessa etapa são analisados todos os possíveis vieses que podem prejudicar a análise final (194).

- Estudos de acurácia

Para análise de qualidade dos estudos de acurácia, foi utilizado o checklist Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies-2 (QUADAS-2), que é uma ferramenta utilizada para avaliar o risco de viés e aplicabilidade de estudos de precisão diagnóstica primária. O QUADAS-2 consiste em quatro domínios principais:

- Seleção de paciente
- Teste de índice
- Padrão de referência
- Fluxo e tempo

Cada domínio é avaliado em termos de risco de viés, e os três primeiros em termos de preocupações com relação à aplicabilidade (204). Perguntas de sinalização são incluídas para auxiliar nos julgamentos. O QUADAS-2 é aplicado em quatro fases:

1. Resumir a questão da revisão;
2. Adaptar a ferramenta para a revisão e produzir orientações específicas para a revisão;
3. Construir um fluxograma para o estudo primário;
4. Avaliar o risco de parcialidade e as preocupações relativas à aplicabilidade.

O quadro abaixo resume o QUADAS-2 e lista todas as questões de sinalização, risco de viés e classificação de aplicabilidade.

**Quadro 9** – Avaliação do risco de vieses e aplicabilidade, por domínios. QUADAS-2

DOMÍNIO	SELEÇÃO DE PACIENTE	TESTE DE ÍNDICE	PADRÃO DE REFERÊNCIA	FLUXO E TEMPO
Descrição	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Descreva os métodos de seleção de pacientes.</li> <li>- Descreva os pacientes incluídos (teste anterior, apresentação, uso pretendido do teste de índice e configuração).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Descreva o teste de índice e como ele foi conduzido e interpretado.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Descreva o padrão de referência e como ele foi conduzido e interpretado.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Descreva todos os pacientes que não receberam o(s) teste(s) de índice e/ou padrão de referência ou que foram excluídos da tabela 2x2 (consulte o fluxograma).</li> <li>- Descreva o intervalo de tempo e quaisquer intervenções entre o(s) teste(s) de índice e o padrão de referência.</li> </ul>
Perguntas de sinalização: (sim/não/pouco claras)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Foi uma amostra consecutiva ou aleatória de pacientes inscritos?</li> <li>- Um projeto de controle de caso foi evitado?</li> <li>- O estudo evitou exclusões inadequadas?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Os resultados do teste de índice foram interpretados sem o conhecimento dos resultados do padrão de referência?</li> <li>- Se um limite foi usado, ele foi pré-especificado?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- É provável que o padrão de referência classifique corretamente a condição-alvo?</li> <li>- Os resultados do padrão de referência foram interpretados sem o conhecimento dos resultados do teste de índice?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Houve um intervalo apropriado entre o(s) teste(s) de índice e o padrão de referência?</li> <li>- Todos os pacientes receberam um padrão de referência?</li> <li>- Todos os pacientes receberam o mesmo padrão de referência?</li> <li>- Todos os pacientes foram incluídos na análise?</li> </ul>
Risco de viés: (alto risco/baixo risco/risco pouco claro)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- A seleção de pacientes poderia ter introduzido viés?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- A condução ou interpretação do teste de índice pode ter introduzido viés?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- O padrão de referência, sua conduta ou sua interpretação podem ter introduzido viés?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- O fluxo do paciente poderia ter introduzido viés?</li> </ul>
Preocupações com relação à aplicabilidade: (alta/baixa/pouco clara)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Há preocupações de que os pacientes incluídos não correspondam à pergunta da revisão?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Há preocupações de que o teste do índice, sua conduta ou interpretação difiram da pergunta da revisão?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Existe a preocupação de que a condição-alvo definida pelo padrão de referência não corresponda à questão da revisão?</li> </ul>	

Fonte: (204) Oliveira MRF de, Gomes A de C, Toscano CM. QUADAS e STARD: avaliação da qualidade de estudos de acurácia de testes diagnósticos. 2011

Cada estudo de acurácia inserido na revisão sistemática foi avaliado individualmente para cada domínio. No QUADAS-2, ao final da avaliação, pode-se fazer um julgamento geral do estudo ou chamar atenção para um determinado domínio (204).

- Estudos de rastreio

Para análise de qualidade dos estudos de rastreio, foi usado o checklist for Prevalence Studies do The Joanna Briggs Institute Critical Appraisal tools. Essa ferramenta consiste em nove perguntas, conforme o quadro 10.

**Quadro 10** – Checklist segundo o Instituto Joanna Briggs

PERGUNTAS	SIM	NÃO	NÃO ESTÁ CLARO	NÃO É APLICÁVEL
A amostra foi representativa da população-alvo?				
Os participantes do estudo foram recrutados de forma adequada?				
O tamanho da amostra foi adequado?				
Os sujeitos do estudo e o cenário foram descritos em detalhes?				
A análise dos dados foi realizada com cobertura suficiente da amostra identificada?				
Foram usados critérios objetivos e padrão para a medição da condição?				
A condição foi medida de forma padrão e confiável para todos os participantes?				
Houve uma análise estatística adequada?				
A taxa de resposta foi adequada? E, se não, foi baixa a taxa de resposta gerida adequadamente?				

Fonte:(205) The Joanna Briggs Institute Critical. Checklist for Prevalence Studies [Internet]

Cada estudo inserido na revisão sistemática foi avaliado individualmente para cada pergunta. A avaliação final é parecida com a do QUADAS 2, em que se pode fazer um julgamento geral do estudo ou chamar atenção para um determinado resultado.

- Estudos de acurácia e rastreio

Para avaliação da qualidade dos desfechos relatados, sensibilidade e especificidade (acurácia) e proporção de resistência detectada, foi utilizada a classificação de acordo com o sistema Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation (GRADE) (201). A análise foi feita pelos seguintes domínios:

- **Desfechos:** Descreve o desfecho que está sendo avaliado no estudo.
- **Participantes do estudo:** Descreve o número de participantes do estudo que está sendo avaliado.
- **Delineamento do estudo:** Descreve o desenho do estudo avaliado e avalia a qualidade da evidência científica e define a confiança na informação utilizada.
- **Risco de viés:** Avalia as limitações metodológicas de cada estudo.
- **Evidência indireta:** Julga os desfechos avaliados nos estudos que foram substancialmente diferentes daqueles considerados na questão de pesquisa.
- **Inconsistência:** O julgamento da inconsistência é baseado na similaridade das estimativas de efeito, na sobreposição dos intervalos de confiança e em critérios estatísticos.
- **Imprecisão:** Julga o quanto que as medidas de estimação utilizadas nos estudos foram imprecisas.
- **Viés de publicação:** Avalia se o conjunto das evidências encontradas pode ou não representar a totalidade dos estudos publicados sobre a questão de pesquisa.
- **Qualidade da evidência:** Alto (há forte confiança de que o verdadeiro efeito esteja próximo daquele estimado), Moderado (há confiança moderada no efeito estimado), Baixo (a confiança no efeito é limitada) e Muito baixo (a confiança na estimativa de efeito é muito limitada. Há um importante grau de incerteza nos achados).

### 3.1.5 Análise dos Dados

Foi elaborado um fluxograma de quatro etapas (identificação, seleção, elegibilidade e inclusão), sugerido pelo PRISMA, para melhor visualização do processo de busca e seleção dos estudos (193).

- Estudos de acurácia

Após a análise da qualidade dos dados, foram construídas tabelas 2x2 para o cálculo dos valores de sensibilidade e especificidade dos testes. Depois, foram elaboradas novas tabelas com os dados dos testes-índice, dos testes de referência, dos números de VP (aqueles que têm RAM, e o teste índice é positivo), de VN (aqueles que não têm RAM, e o teste índice foi negativo), de FP (aqueles que não têm RAM, mas o teste índice foi positivo), de FN (aqueles que têm RAM, mas o teste índice foi negativo), de sensibilidade (probabilidade de o resultado do teste índice ser positivo caso a RAM esteja de fato presente; representa os VP da amostra), de especificidade (probabilidade de o resultado do teste índice ser negativo quando RAM está de fato ausente; representa os VN da amostra) e do intervalo de confiança em 95%. Um gráfico de floresta para os valores de sensibilidade e especificidade com seus intervalos de confiança em 95% também foi elaborado para cada estudo e droga testada (rifampicina, dapsona e ofloxacino).

Para este estudo, a definição de um teste positivo para RAM na hanseníase seguiu a classificação dada pelos autores em cada estudo incluído. A sensibilidade foi definida como a proporção de testes positivos para resistência antimicrobiana em pacientes com infecção por *M. leprae* resistente, e a especificidade foi definida como a proporção de testes negativos para a resistência antimicrobiana em pacientes sem infecção resistente por *M. leprae*.

Para os estudos de acurácia, o viés de publicação foi analisado por meio de gráficos de funil. A heterogeneidade, apesar de não existir recomendação para estimar o seu grau nas revisões de acurácia diagnóstica (198,199), foi analisada de forma visual nos gráficos de florestas e na análise dos resultados da metarregressão.

O modelo de efeitos aleatórios foi utilizado para a metanálise, tendo em conta a variação dentro do estudo e entre os estudos. A metanálise foi realizada apenas

com estudos que utilizaram técnicas moleculares, porque eles tinham o mesmo objetivo de detectar a mutação genética, e, assim, buscou-se uma melhor comparação entre eles. Para investigar a influência de fontes de heterogeneidade, realizou-se a metarregressão, incluindo as seguintes covariáveis no modelo: tipo de padrão de referência utilizado e tipo de técnica molecular utilizada. Para essas análises estatísticas, foi empregado o software estatístico R versão 4.0.0 (R Foundation para Statistical Computing, Viena, Áustria) no pacote Mada e função do *Reitsma* (206,207).

Um gráfico de curva ROC também foi construído para sumarizar os dados dos estudos que compararam os testes moleculares para diagnosticar resistência à dapsona, rifampicina e ofloxacino.

O Review Manager (RevMan) versão 5.3. (Copenhague, The Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2014) foi utilizado para gerar os gráficos de florestas e a curva ROC.

Nas análises, os resultados com nível de significância de 0,05 (probabilidade de erro de 5%) foram considerados estatisticamente relevantes.

- Estudos de rastreamento

Após a análise da qualidade dos estudos, foi calculada a proporção de resistência para cada droga testada, pelo número de casos de hanseníase com resultado positivo para RAM e pelo número total de casos de hanseníase testados. Para esse estudo, a definição de multidroga resistência foi definida como resistência a dois ou mais medicamentos no mesmo paciente.

A realização da análise do viés de publicação objetivou testar se estudos com resultados não significativos não foram publicados. A presença de viés de publicação entre os estudos de proporção de resistência foi avaliada por meio de análise do gráfico de dispersão em funil, teste de regressão, classificação dos testes de correlação e o modelo de função de peso, usando o software R (208), comparando cuidadosamente as quatro análises.

A análise de heterogeneidade, característica dos estudos observacionais, foi realizada por meio de valores  $I^2$ , adotando os seguintes parâmetros: abaixo de 50%, indica baixa heterogeneidade; entre 50% e 75%; indica heterogeneidade moderada; e acima de 75%, indica alta heterogeneidade entre os estudos (198).

Antes de realizar a metanálise, realizamos a transformação das variáveis para estabilizar variância, sendo esse método mais utilizado nas revisões com grande número de estudos (grande amostra) (209).

No software estatístico R, foi utilizada a função *themetaprop* para realizar o modelo de efeitos aleatórios para a metanálise. Apenas os estudos com tamanho amostral adequado, de acordo com o resultado da avaliação da qualidade, foram incluídos na metanálise, para evitar uma análise de viés de publicação não confiável (208). Para as drogas cujo número de artigos com tamanho amostral adequado foi considerado baixo, foi realizada a metanálise com todos os artigos disponíveis comparando a transformação para modelos lineares mistos generalizados (209).

Diante da presença de heterogeneidade, foi realizada a metarregressão para identificar as covariáveis (ano do estudo, país, classificação operacional – paucibacilar e multibacilar, tipo de resistência, tipo de teste diagnóstico e adequabilidade da amostra) associadas. O Índice  $R^2$  foi utilizado, o qual representa a influência quantitativa de uma determinada covariável no resultado da metarregressão, e seus valores são expressos em porcentagens.

Em todas as análises, o nível de significância do adotado foi de 5%.

### **3.1.6 Considerações Éticas**

Por não se tratar de pesquisa com seres humanos, não foi necessária a submissão deste estudo ao Comitê de Ética.

## **3.2 ESTUDO TRANSVERSAL PARA DETERMINAR A FREQUÊNCIA DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E INVESTIGAR SEUS FATORES ASSOCIADOS NOS PACIENTES DE HANSENÍASE NO BRASIL.**

### **3.2.1 Desenho e População do Estudo**

Trata-se de um estudo transversal descritivo e analítico de abrangência nacional de todos os casos de hanseníase que foram submetidos à investigação de RAM no período de 1º de outubro de 2018 a 30 de setembro de 2020, no Brasil.

Os critérios de inclusão para investigação de RAM no Brasil incluem pacientes encaminhados aos centros de referências classificados como novos casos multibacilares com IB maior ou igual a 2+, bem como casos de recidiva e os classificados como suspeita de falha terapêutica sem qualquer restrição relacionada ao IB (181).

### **3.2.2 Fonte de Dados**

Foram utilizados os dados do Sistema de Formulários Eletrônicos (FormSus) para a vigilância de RAM na hanseníase e o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) – Hanseníase.

- Sistema de Formulários Eletrônicos (FormSus)

Dados sobre os casos de hanseníase investigados para RAM foram compilados em formulário padronizado com coleta virtual por meio do FormSus.

O formulário on-line está dividido em blocos de informações que são preenchidos, respectivamente, pela unidade de saúde, Lacen e laboratório de referência (20). Para este estudo, foram selecionados os pacientes que realizaram a biópsia para investigação de RAM no período de 1º de outubro de 2018 a 30 de setembro de 2020.

- Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) – Hanseníase

Os casos de hanseníase de recidiva e os suspeitos de falência terapêutica com resultado laboratorial resistente a qualquer droga no FormSus foram procurados e relacionados nas bases de dados no Sinan no período de 2001 a 2020. As variáveis utilizadas para relacionar os dois bancos de dados foram: nº do Sinan, nome completo, data de nascimento e nome da mãe.

### 3.2.3 Variáveis do Estudo

As variáveis do estudo foram retiradas dos bancos de dados do FormSus e do Sinan, formando um único banco. As variáveis estão descritas nos quadros 11 e 12.

**Quadro 11 – Blocos e variáveis do FormSus**

Blocos	Variáveis
Identificação do paciente	Número do Sinan, nome, data de nascimento, sexo, nome da mãe, estado de residência.
Informações clínicas do paciente	Tipo de paciente (caso novo, recidiva ou suspeita de falência), esquema terapêutico, forma clínica, número de índice bacilar, reação hansênica, data da realização da biópsia.
Investigação da resistência antimicrobiana	Deteção de DNA do <i>M. leprae</i> na amostra.
Resultado da Investigação antimicrobiana	Resultado da investigação para rifampicina, dapsona e ofloxacino (sensível, resistente e inconclusivo).

Fonte: Elaborado pela autora

**Quadro 12 – Variáveis do Sinan**

Casos	Variáveis
Recidiva	Data de notificação da primeira entrada no sistema como caso novo, tipo de tratamento anterior realizado, número de doses tomadas no tratamento anterior e o tipo de saída da notificação da primeira entrada no sistema como caso novo.
Suspeita de Falha Terapêutica	Data de notificação; modo de entrada, tipo de tratamento atual e número de doses tomadas no tratamento atual.

Fonte: Elaborado pela autora

### 3.2.4 Detecção da RAM

A detecção da RAM é realizada a partir das biópsias de pele provenientes da borda da lesão de pele coletada com *punch* 6 ou 4mm, conforme a orientação da coordenação nacional de vigilância (20). Três laboratórios de referência (Fundação Alfredo da Mata, Instituto Lauro Souza Lima e Fundação Oswaldo Cruz), que atuam na detecção, padronizaram a técnica molecular de acordo com as instruções do Ministério da Saúde e da OMS (138). O teste molecular aplicado é o PCR-DNA *Sequencing*, para identificar mutações padrões presentes nas regiões determinantes de resistência à droga do gene *folP1* (GeneID: 908646), *rpoB* (GeneID: 910599) e *gyrA* (GeneID:908154), disponíveis no GenBank acesso nº NC002677

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>). As sequências são alinhadas utilizando o programa Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software v 7.0.

Para este estudo, foram considerados casos resistentes aqueles que apresentaram mutações que conferem resistência a, pelo menos, uma das drogas testadas (dapsona, rifampicina e ofloxacino), e casos multidroga resistentes aqueles com resistência a duas ou mais drogas. Do mesmo modo, foi considerada resistência primária aquela encontrada em pacientes que nunca receberam qualquer tratamento específico para a doença (o caso novo), e resistência secundária aquela encontrada em pacientes que já foram expostos anteriormente às drogas utilizadas no tratamento da doença (caso de recidiva e com suspeita de falência terapêutica).

Pacientes sem resultados laboratoriais da investigação molecular no sistema de informação foram excluídos deste estudo.

### 3.2.5 Análise dos Dados

Inicialmente, foi realizada uma análise descritiva por meio de proporções, medianas e intervalo interquartil das variáveis: idade, sexo, região de residência, tipo de caso, forma clínica, presença de reação, esquema de tratamento, presença de DNA do *M. leprae* e IB para todos os casos de hanseníase investigados; e, também, por subgrupos de investigação (caso novo, recidiva e suspeita de falência).

Também foram analisadas descritivamente as características demográficas e clínicas dos casos de hanseníase resistentes.

O método de proporção é recomendado pela OMS para avaliação dos dados de RAM na hanseníase (39). Nesse sentido, a frequência de resistência para este estudo foi calculada dividindo o número de casos de hanseníase resistentes pelo número total de casos de hanseníase testados, multiplicado por 100.

Para identificar fatores associados à presença de RAM, foi realizada análise bivariada por meio do teste qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fischer (210) para variáveis independentes categóricas (sexo, região, tipo de caso, forma clínica e reação), sendo selecionadas por um especialista em hanseníase com base em critérios clínicos. As variáveis independentes numéricas (idade e IB) foram comparadas pelo teste U de Mann-Whitney, que é um teste não paramétrico usado para analisar a diferença entre duas amostras independentes (211). As variáveis independentes foram inseridas em modelo de regressão logística multivariada, a fim

de analisar quais variáveis poderiam influenciar significativamente a ocorrência de RAM.

Análises de subgrupos também foram utilizadas para explorar as características dos casos novos, casos de recidiva e casos suspeitos de insucesso terapêutico.

A medida de associação utilizada foi expressa como odds ratios (ORs), com intervalos de confiança de 95% (IC) na análise bivariada, e OR ajustadas (aORs) com IC na análise multivariada, para reduzir confundimento e valores de  $p$  correspondentes. As perdas foram ignoradas, e os valores faltantes resultaram na exclusão do caso na análise multivariada. Na análise, os resultados com nível de significância de 0,05 foram considerados estatisticamente relevantes.

O Software RStudio (RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. Studio, PBC, Boston, MA URL [http://rstudio.com./](http://rstudio.com/)) versão 1.2.1335 foi utilizado para análises estatísticas utilizando os pacotes *MASS*, *epiR* e *oddsratio* e o software QGIS (Geographic Information System) versão 2.18 para elaboração do mapa.

### 3.2.6 Considerações Éticas

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde da Universidade de Brasília sob o nº 4.391.397 (Anexo I). O consentimento informado do paciente foi dispensado após aprovação ética, pois os dados relevantes foram incluídos no sistema nacional de vigilância, utilizando, assim, dados secundários.

Para a realização das análises, foi solicitado acesso às bases de dados nominais do FormSus e Sinan para a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) do Ministério da Saúde. Para isso, foi enviado o projeto contendo o objetivo, a justificativa e a metodologia, bem como o “Termo de responsabilidade diante da cessão de base de dados nominais” (Anexo II).

Após o recebimento, as bases com os dados de identificação e identificáveis foram armazenadas em um computador com senha individual, acessível apenas ao pesquisador principal. Depois do relacionamento das bases de dados, as informações de identificação e identificáveis foram excluídas dos bancos de dados, resguardando-se o anonimato dos dados de identificação de cada paciente, para posterior realização das análises estatísticas.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PRIMEIRO ARTIGO: ESTUDO DE REVISÃO SISTEMÁTICA PARA ANALISAR A ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DOS TESTES PARA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E DETERMINAR A FREQUÊNCIA DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA NOS PACIENTES DE HANSENÍASE.

**Publicado no “Diagnostic Microbiology and Infectious Disease” (Apêndice A)**

### **Título**

Revisão sistemática e metanálise de estudos sobre acurácia diagnóstica e testes de rastreio para detecção de resistência antimicrobiana em hanseníase.

### **Autores**

Elaine Silva Nascimento Andrade<sup>1,2</sup>, Jurema Guerrieri Brandão<sup>1</sup>, Juliana Souza da Silva<sup>1</sup>, Patrícia Shu Kurizky<sup>3</sup>, Patrícia Sammarco Rosa<sup>4</sup>, Wildo Navegantes de Araújo<sup>2,5</sup>, Ciro Martins Gomes<sup>3,5</sup>.

### **Afiliações**

1. Coordenação Geral de Doenças em Eliminação – CGDE, Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis – DCCI, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Brasília, Brasil
2. Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Brasil
3. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Brasil
4. Laboratório de Bacteriologia, Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru, Brasil
5. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Brasil

### **Título curto**

Revisão sistemática da resistência na hanseníase.

## Resumo

Embora a terapia multidrogas seja considerada um tratamento eficaz para a hanseníase, a resistência antimicrobiana é uma preocupação séria. Foi realizada revisão sistemática de estudos sobre a acurácia diagnóstica e de rastreamento para resistência antimicrobiana em hanseníase. Esta revisão foi registrada em PROSPERO (CRD42020177958). Em abril de 2020, buscamos estudos nas bases de dados Pubmed, EMBASE, Web of Science, Scopus, Scielo e LILACS. Para a metanálise, foi utilizado um modelo de regressão de efeitos aleatórios. Foram incluídos 129 estudos. Os testes moleculares para resistência à dapsona tiveram sensibilidade de 78,8% (IC95% = 65,6-87,9) e especificidade de 97,0% (IC95% = 94,0-98,6). Testes moleculares para resistência à rifampicina tiveram sensibilidade e especificidade de 88,7% (IC95% = 80,0-93,9) e 97,3% (IC95% = 94,3-98,8), respectivamente. Os testes moleculares para resistência a ofloxacino tiveram sensibilidade e especificidade de 80,9% (IC95% = 60,1-92,3) e 96,1% (IC95% = 90,2-98,5), respectivamente. Nas últimas décadas, não foi detectado aumento na proporção de resistência. No entanto, o número crescente de casos resistentes ainda é uma preocupação clínica.

**Palavras-chave:** Hanseníase; Resistência a Medicamentos Bacterianos; Diagnóstico; Análise de Sequência de DNA; Metanálise.

## Introdução

A hanseníase é causada pelo *Mycobacterium leprae* e pelo *Mycobacterium lepromatosis*. Foi erradicada em países desenvolvidos através da melhoria das condições sociais (1). A poliquimioterapia da Organização Mundial da Saúde (OMS) (PQT-OMS) é composta por três drogas, rifampicina, clofazimina e dapsona, que são administradas por 6 e 12 meses em pacientes paucibacilares e multibacilares, respectivamente (2). Embora esse seja o tratamento padrão, a resistência antimicrobiana é uma séria preocupação para as autoridades de saúde pública (3). Além disso, alguns artigos descrevem a possível disseminação de infecções resistentes por *M. leprae* (4). Esses relatos justificam a necessidade de monitoramento constante da resistência ao *M. leprae* para permitir que os profissionais de saúde tomem as melhores decisões baseadas em evidências.

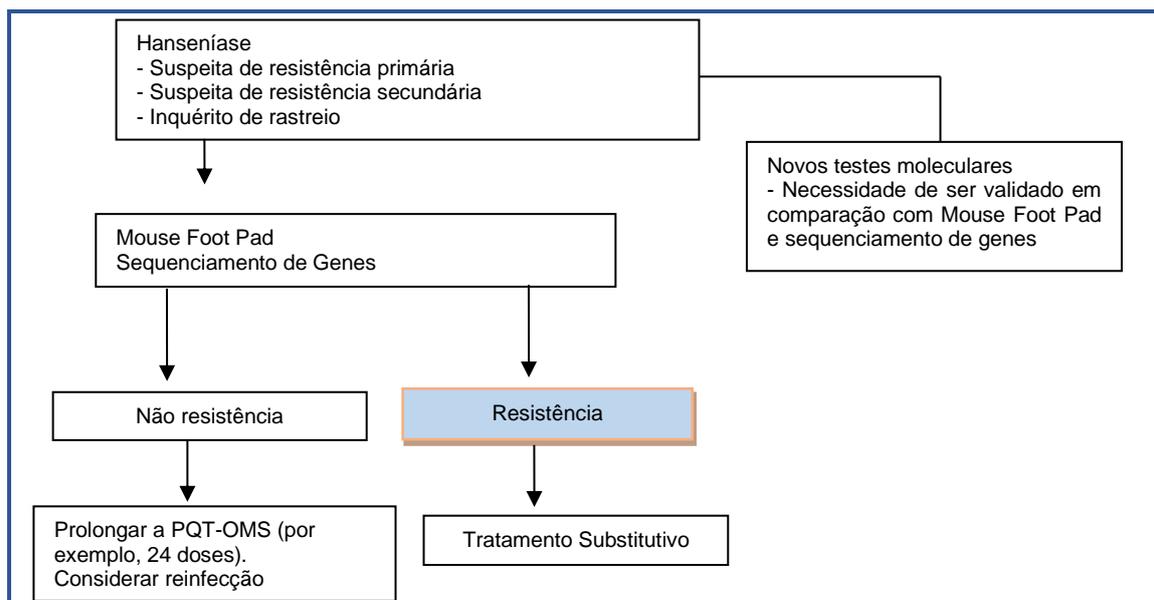
Até a primeira metade do século XX, os critérios clínicos e a baciloscopia eram os únicos métodos de monitoramento da resistência antimicrobiana na hanseníase. Esses critérios foram úteis para pacientes que usaram a monoterapia dapsona por longos períodos. A necessidade de decisões terapêuticas rápidas justificou o desenvolvimento de métodos alternativos. Embora *M. leprae* ainda não seja cultivável em meios artificiais, em 1960, Charles C. Shepard descreveu um procedimento consistente e confiável para a replicação desse *Mycobacterium* em patas de camundongo (Mouse FootPad) (5). Camundongos infectados podem ser tratados com

as mesmas drogas de hanseníase utilizadas em pessoas, enquanto o crescimento de bacilos é monitorado. Limitações, como a necessidade de um longo tempo de avaliação, inviabilizam a aplicação desse método em larga escala.

A partir de 1993, o sequenciamento de genes (GSEQ) foi avaliado de acordo com os critérios clínicos e o teste Mouse FootPad. Mutações missense agrupadas em genes específicos identificados como regiões determinantes de resistência para dapsona, rifampicina e quinolonas foram descritas (6). A resistência à clofazimina é detectada pelo teste Mouse FootPad, mas nenhuma mutação específica foi descrita (7). Especificamente, para a hanseníase, a OMS recomenda o uso do GSEQ como referência para inquéritos populacionais (3). Além disso, várias técnicas baseadas na reação em cadeia da polimerase (PCR) estão disponíveis e podem ser especialmente úteis para grandes levantamentos epidemiológicos devido à sua relativa simplicidade em comparação com o GSEQ. Estudos recentes mostraram que outras técnicas moleculares, incluindo PCR em tempo real, também têm desempenho satisfatório (8).

Como a resistência antimicrobiana na hanseníase é uma preocupação crescente, é importante a criação de uma via clínica (Figura 1). Na prática, a busca de resistência antimicrobiana à hanseníase começa com suspeita clínica. GSEQ é a estratégia padrão, de acordo com a OMS, mas outras técnicas baseadas em PCR estão disponíveis. Com base nos valores de sensibilidade e especificidade desses testes, os clínicos terão de decidir se a substituição PQT-OMS é necessária.

Nosso objetivo foi criar uma visão geral da precisão diagnóstica dos testes de resistência antimicrobiana em hanseníase. O objetivo secundário foi incluir estudos de rastreamento para reunir informações importantes sobre a proporção de resistência antimicrobiana em pacientes com hanseníase. A qualidade da literatura existente também foi avaliada.



**Figura 1** - Via clínica para detecção e manejo clínico da resistência antimicrobiana em hanseníase.

### Material e Métodos

O presente protocolo está registrado em PROSPERO (CRD42020177958). Um **"teste índice"** foi definido como a principal técnica complementar utilizada em cada artigo (9). Um **"padrão-referência"** (padrão-ouro definido) é o critério (exame ou conjunto de exames) utilizado por cada artigo para definir a resistência antimicrobiana (9). **"Estudos de precisão diagnóstica"** foram definidos como estudos que compararam duas ou mais técnicas complementares em que os testes-índice foram sempre avaliados em comparação com um padrão de referência e em que um grupo de casos com resistência antimicrobiana e um grupo de controle sem resistência antimicrobiana foram incluídos (9). Os **"artigos de rastreio"** foram definidos como estudos em que apenas uma técnica foi avaliada e em que testes complementares foram utilizados como estratégia de rastreio/vigilância sem comparar esses testes com um padrão de referência.

### Estratégia de busca e critério de seleção

Em 4 de abril de 2020, pesquisamos exaustivamente estudos relevantes nas bases de dados Pubmed, EMBASE, Web of Science, Scopus, Scielo e LILACS (Tabela Suplementar S1). As referências dos artigos selecionados foram pesquisadas para estudos adicionais. Também pesquisamos exaustivamente a literatura cinzenta em bases de dados de teses e anais de reuniões (Suplementar S2). Nenhuma restrição de data ou idioma foi aplicada. Foram incluídos artigos que avaliaram qualquer teste complementar para detecção de resistência antimicrobiana em *M. leprae* ou *M. lepromatosis*, sem restrições quanto ao padrão de referência utilizado e ao tratamento prévio de hanseníase. Excluímos séries de casos e relatos de casos.

### Triagem de artigos

Os títulos e resumos recuperados foram exportados para EPPI-Reviewer 4 Versão 4.11.3.0 (EPPI Centre, Londres, Reino Unido), e duplicatas foram removidas. Dois revisores independentes (CG e EA) avaliaram títulos e resumos. A avaliação do texto completo também foi realizada por dois revisores independentes (GC e EA). As discordâncias durante cada etapa foram resolvidas por um terceiro revisor (PK).

### Análise da qualidade do artigo

Os estudos de acurácia diagnóstica foram avaliados por dois revisores independentes (GC e EA) utilizando o checklist Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies-2 (QUADAS-2). Dois revisores independentes (GC e JS) avaliaram os estudos de rastreamento utilizando o Checklist for Prevalence Studies do The Joanna Briggs Institute, ferramentas de avaliação crítica. As divergências foram resolvidas por consenso.

### Extração e análise de dados

Os dados foram extraídos por dois revisores independentes dos estudos de acurácia (GC e EA) e dos estudos de rastreamento (JB e JS). As divergências foram resolvidas por consenso. A coleta de dados das características clínicas e do teste foi baseada em fatores que poderiam influenciar a probabilidade de detecção de resistência antimicrobiana. A definição de teste positivo para resistência antimicrobiana na hanseníase seguiu a classificação dada pelos autores em cada estudo incluído. A sensibilidade foi definida como a proporção de testes positivos para

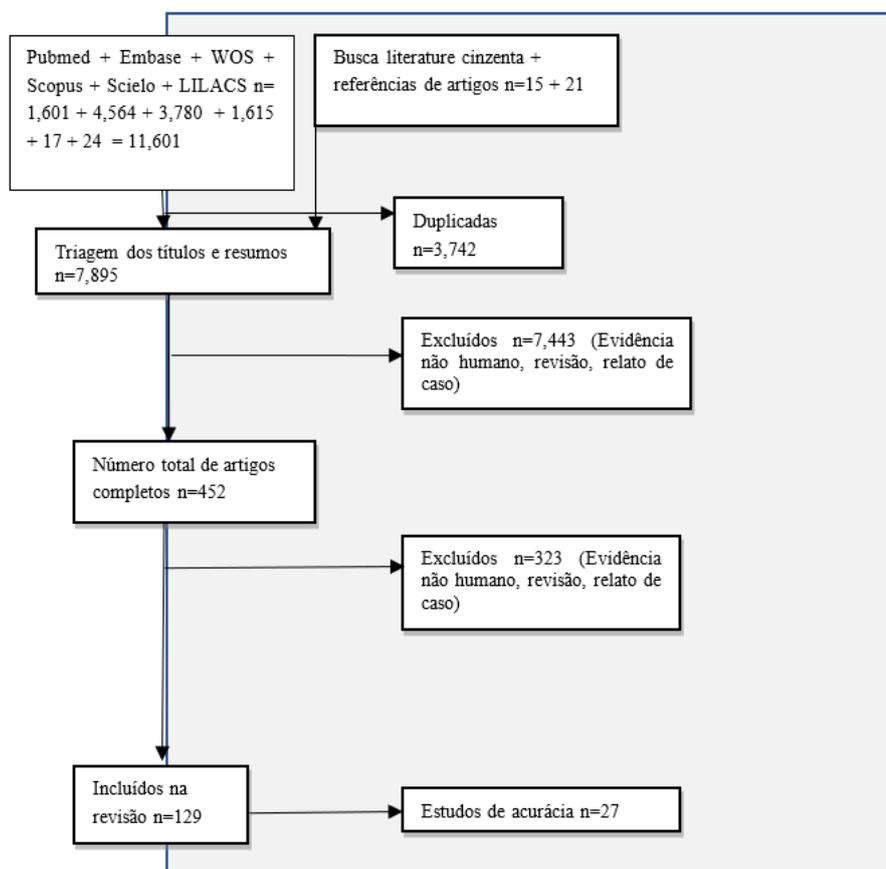
resistência antimicrobiana em pacientes com infecção resistente por *M. leprae* (10). Especificidade foi definida como a proporção de testes negativos para resistência antimicrobiana em pacientes sem infecção resistente por *M. leprae* (10). Para os estudos de acurácia, foram criadas tabelas 2x2 para o cálculo dos valores de sensibilidade e especificidade do teste. Para a metanálise, foi utilizado o modelo bivariado (efeitos aleatórios), considerando a variação dentro do estudo e a variação entre os estudos. Review Manager (Revman) versão 5.3. (Copenhagen, The Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2014) foi utilizado para gerar gráficos de floresta e curvas ROC (summary receiver operating characteristic). A função Reitsma do pacote Mada no software estatístico R versão 4.0.0 (R Foundation for Statistical Computing. Viena, Áustria) foi usada para o modelo de metanálise bivariada. A medida da heterogeneidade é um passo importante na metanálise, pois os resultados devem ser considerados apenas se os estudos forem suficientemente homogêneos em termos de métodos epidemiológicos, populações de pacientes e técnicas de diagnóstico. Se os estudos forem altamente heterogêneos, a metanálise não fornecerá um resultado sumário confiável. Não há medida recomendada para estimar o grau de heterogeneidade em revisões de precisão diagnóstica (1). Adotou-se a função Reitsma para investigar a influência de fontes de heterogeneidade utilizando metarregressão, incluindo as seguintes covariáveis no modelo bivariado: tipo de padrão de referência utilizado e tipo de técnica molecular utilizada.

Para os estudos de rastreio, o número de resultados positivos para cada droga testada e a população total testada foram extraídos e expressos em proporções. A definição de resistência antimicrobiana multidrogas foi definida como resistência a 2 ou mais drogas no mesmo paciente. Primeiro, realizamos a transformação de duplo arco seno para estabilizar as variâncias. Como esse modelo é mais confiável com grandes tamanhos de amostra (11), para evitar uma análise de viés de publicação não confiável (12), apenas artigos com tamanhos amostrais adequados de acordo com nossa avaliação de qualidade foram incluídos na metanálise. O modelo de efeitos aleatórios foi utilizado para a metanálise utilizando a função de metaprop no software estatístico R. Para as drogas para os quais o número de artigos com tamanho amostral adequado foi baixo, foi realizada uma metanálise com todos os artigos disponíveis comparando a transformação do duplo arco seno com modelos lineares mistos generalizados (11). A heterogeneidade foi avaliada por meio de valores  $I^2$  (13) que descrevem a porcentagem de variação entre os estudos devido à heterogeneidade. A

influência das covariáveis foi avaliada por metarregressão. Os valores do índice  $R^2$  são expressos em porcentagens e representam a influência quantitativa de uma determinada covariável no resultado da metarregressão. A análise de viés de publicação objetivou testar se estudos com resultados não significativos não foram publicados. A presença de viés de publicação entre os estudos de rastreo foi avaliada por meio de análise do gráfico de funil, teste de regressão, coeficiente de correlação de postos de Spearman e modelo de função de peso utilizando o software R (12). Comparamos cuidadosamente as quatro análises.

## **Resultados**

Nossa estratégia de busca resultou em 11.601 artigos (1.601 da Pubmed, 4.564 da EMBASE, 3.780 da Web of Science, 1.615 da Scopus, 17 da Scielo e 24 da LILACS); 15 artigos foram incluídos na literatura cinzenta e 21 foram incluídos nas referências dos artigos. Um total de 3.742 duplicatas foram removidas. Rastreamos o título e os resumos de 7.895 referências e avaliamos os textos completos de 452 artigos. Por fim, foram selecionados 129 estudos (Suplementar S3), incluindo 27 artigos (8;14-39) que avaliaram a precisão de testes complementares para resistência antimicrobiana em hanseníase (Figura 2).



**Figura 2** - Diagrama de fluxo da revisão.

### Estudos de acurácia

Dos 27 estudos de acurácia incluídos, 19 avaliaram a resistência à dapsona, 16 avaliaram a resistência à rifampicina, e 9 avaliaram a resistência a ofloxacino. Não foram incluídos estudos de acurácia para outras drogas. Os resultados da avaliação de qualidade para os estudos de acurácia estão apresentados na Figura 3. Nenhum artigo obteve baixo risco de viés no domínio de amostragem de pacientes. Apenas 3 artigos obtiveram baixo risco de viés no domínio de teste índice. Cinco artigos alcançaram um baixo risco de viés no domínio padrão de referência, e apenas dois artigos alcançaram um baixo risco de viés no domínio tempo e fluxo. Nenhum estudo foi classificado como de baixo risco quanto à aplicabilidade da amostra do paciente. Preocupações quanto à aplicabilidade do teste índice pontuaram baixo em apenas 2 estudos, e preocupações quanto à aplicabilidade do padrão de referência também pontuaram baixo em apenas 2 artigos. Apenas dois artigos utilizaram um desenho transversal (19;28), e os artigos restantes utilizaram um estudo de precisão caso-controle, o que significa que os investigadores já conheciam o estatuto da resistência

antimicrobiana em doentes antes da aplicação de testes-índice, levando a potenciais vieses e reduzindo a generalização do estudo e a possível aplicação de testes na prática.

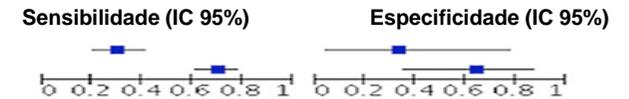
Estudos avaliando PCR em tempo real, hibridação, PCR de touchdown e análise heteroduplex de DNA mostraram os melhores valores individuais de sensibilidade e especificidade. Estão representados graficamente (gráficos de floresta) os testes-índice e os padrões de referência utilizados para dapsona (Figura 4), rifampicina (Figura 5) e ofloxacino (Figura 6), bem como as curvas ROC (Figura 7). Devido ao pequeno número de artigos que avaliam outros métodos, apenas estudos que avaliam métodos de diagnóstico molecular, incluindo GSEQ, PCR em tempo real (associado à análise HRM ou sondas baseadas em Taqman), hibridação, PCR de touchdown e análise heteroduplex de DNA, foram incluídos na metanálise. GSEQ foi a técnica mais estudada (13 estudos) e foi comparada a todas as outras técnicas moleculares que foram, conseqüentemente, denominadas "outros métodos moleculares" para metanálise. Testes moleculares de detecção de resistência de dapsona demonstraram sensibilidade sumária de 78,8% (IC 95% = 65,6-87,9) e especificidade sumária de 97,0% (IC 95% = 94,0-98,6). A metarregressão confirmou que outros métodos moleculares foram mais sensíveis ( $p=0,014$ ) e específicos do que o GSEQ ( $p=0,035$ ) (Tabela 1). Os testes de resistência à rifampicina tiveram 88,7% (IC 95% = 80,0-93,9) de sensibilidade sumária e 97,3% (IC 95% = 94,3-98,8) de especificidade. Outros métodos moleculares também foram mais específicos do que o GSEQ para detecção de resistência à rifampicina segundo metarregressão ( $p=0,034$ ) (Tabela 1). Por fim, os testes moleculares para resistência a ofloxacino tiveram sensibilidade de resumo de 80,9% (IC 95% = 60,1-92,3) e especificidade de 96,1% (IC 95% = 90,2-98,5), e a técnica molecular utilizada não teve influência nesses resultados. O padrão de referência utilizado não teve efeito sobre os resultados de acurácia para todos os medicamentos (Tabela 1).

Autor, Ano	RISCO DE VIÉS				QUESTÕES DE APLICABILIDADE			Desenho do Estudo	Nº pacientes hanseníase incluídos
	Seleção do Paciente	Teste Índice	Padrão de Referência	Fluxo e Tempo	Seleção do Paciente	Teste Índice	Padrão de Referência		
Almeida JG, 1983	?	😊	😊	😊	?	😊	😊	Caso-controle	142
Araújo S, 2017	?	😊	😊	😊	?	😊	😊	Caso-controle	211
Cambau E, 2005	?	?	😊	?	?	?	?	Caso-controle	38
Cambau E, 2010	?	😊	😊	?	?	😊	😊	Transversal	91
Cambau E, 2015	?	?	😊	😞	?	?	?	Caso-controle	46
Cambau E, 2012	😞	?	?	?	😞	?	?	Caso-controle	120
Honore N, 1993 (1)	😞	😞	😞	?	😞	😞	😞	Caso-controle	14
Honore N, 1993 (2)	😞	😞	😞	?	😞	😞	😞	Caso-controle	15
Honore N, 2001	?	?	?	?	?	?	?	Transversal	5
Kai M, 1999	😞	😞	😞	😞	😞	😞	😞	Caso-controle	6
Kim S, 2003	😞	😞	😞	😞	😞	?	😞	Caso-controle	7
Lavanaia M, 2016	😞	😞	😞	😞	😞	😞	😞	Caso-controle	3
Lee SB, 2001	😞	😞	😞	😞	😞	😞	😞	Caso-controle	51
Li W, 2012	😞	😞	😞	?	😞	😞	😞	Caso-controle	121
Maeda S, 2001	😞	😞	?	😞	😞	😞	😞	Caso-controle	3
Maeda S, 2004	😞	😞	😞	😞	😞	😞	😞	Caso-controle	3
Matsuoka M, 2008	😞	😞	😞	?	😞	😞	😞	Caso-controle	136
Matsuoka M, 2010	😞	😞	😞	😞	😞	😞	😞	Caso-controle	21
Pearson JMH, 1979	😞	😞	😞	😞	😞	😞	😞	Caso-controle	88
Rosa PS, 2020	😞	😞	😞	😞	😞	😞	😞	Caso-controle	4
Satish M, 1985	😞	😞	😞	😞	😞	😞	😞	Caso-controle	13
Sekar B, 2011	😞	😞	😞	?	😞	😞	?	Caso-controle	40
Singh P, 2011	😞	😞	😞	😞	😞	😞	😞	Caso-controle	168
Vedithi SC, 2015	😞	😞	😞	😞	😞	😞	😞	Caso-controle	26
Williams DL, 1994	😞	😞	😊	?	😞	😞	😞	Caso-controle	8
Williams DL, 2000	😞	😞	😞	😞	😞	😞	😞	Caso-controle	6
Williams DL, 2001	😞	😞	😞	😞	😞	😞	😞	Caso-controle	16

**Figura 3** - Risco de viés e preocupações com relação à análise da aplicabilidade usando o checklist Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies-2 (QUADAS-2).

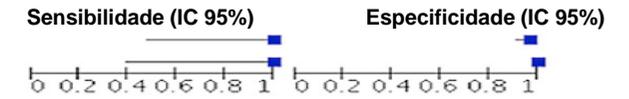
**Mouse FootPad**

Estudo	VP	FP	FN	VN	Padrão de Referência	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)
Pearson JMH, 1979	25	4	57	2	Baciloscopia e critério clínico	0.30 [0.21, 0.42]	0.33 [0.04, 0.78]
Almeida JG, 1983	90	5	38	9	Baciloscopia e critério clínico	0.70 [0.62, 0.78]	0.64 [0.35, 0.87]



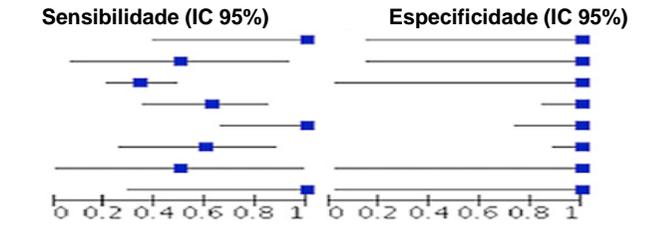
**qPCR-HRM folp1**

Estudo	VP	FP	FN	VN	Padrão de Referência	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)
Li W, 2012	5	4	0	112	Sequenciamento de Genes	1.00 [0.48, 1.00]	0.97 [0.91, 0.99]
Araújo S, 2017	4	0	0	207	Sequenciamento de Genes	1.00 [0.40, 1.00]	1.00 [0.98, 1.00]



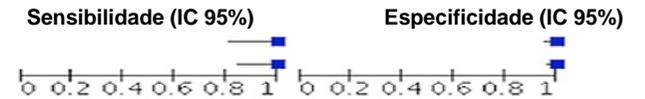
**Sequenciamento do Gene folp1**

Estudo	VP	FP	FN	VN	Padrão de Referência	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)
Kai M, 1999	4	0	0	2	Mouse FootPad	1.00 [0.40, 1.90]	1.00 [0.16, 1.00]
Williams DL, 2000	2	0	2	2	Mouse FootPad	0.50 [0.07, 0.93]	1.00 [0.16, 1.00]
Lee SB, 2001	17	0	33	1	Baciloscopia e critério clínico	0.34 [0.21, 0.49]	1.00 [0.03, 1.00]
Cambau E, 2006	10	0	6	22	Mouse FootPad	0.63 [0.35, 0.85]	1.00 [0.85, 1.00]
Matsuoka M, 2010	9	0	0	12	Mouse FootPad	1.00 [0.66, 1.00]	1.00 [0.74, 1.00]
Sekar B, 2011	6	0	4	30	Mouse FootPad	0.60 [0.26, 0.88]	1.00 [0.88, 1.00]
Lavana M, 2016	1	0	1	1	Mouse FootPad	0.50 [0.01, 0.99]	1.00 [0.93, 1.00]
Rosa PS, 2020	3	0	0	1	Mouse FootPad	1.00 [0.29, 1.90]	1.00 [0.93, 1.00]



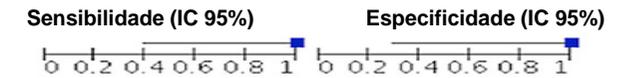
**GenoType® LepraeDR**

Estudo	VP	FP	FN	VN	Padrão de Referência	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)
Cambau E, 2010	18	0	0	73	Mouse FootPad	1.00 [0.81, 1.00]	1.00 [0.95, 1.00]
Cambau E, 2012	22	0	0	98	Sequenciamento de Genes	1.00 [0.85, 1.00]	1.00 [0.96, 1.00]



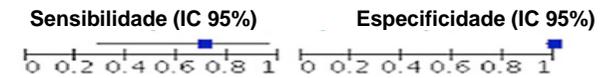
**Touchdown PCR**

Estudo	VP	FP	FN	VN	Padrão de Referência	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)
Kim S, 2003	4	0	0	3	Sequenciamento de Genes	1.00 [0.40, 1.00]	1.00 [0.29, 1.00]



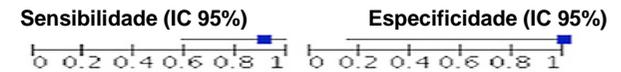
**PCR Hibridization**

Estudo	VP	FP	FN	VN	Padrão de Referência	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)
Matsuoka M, 2008	5	0	2	129	Sequenciamento de Genes	0.71 [0.29, 0.96]	1.00 [0.97, 1.00]



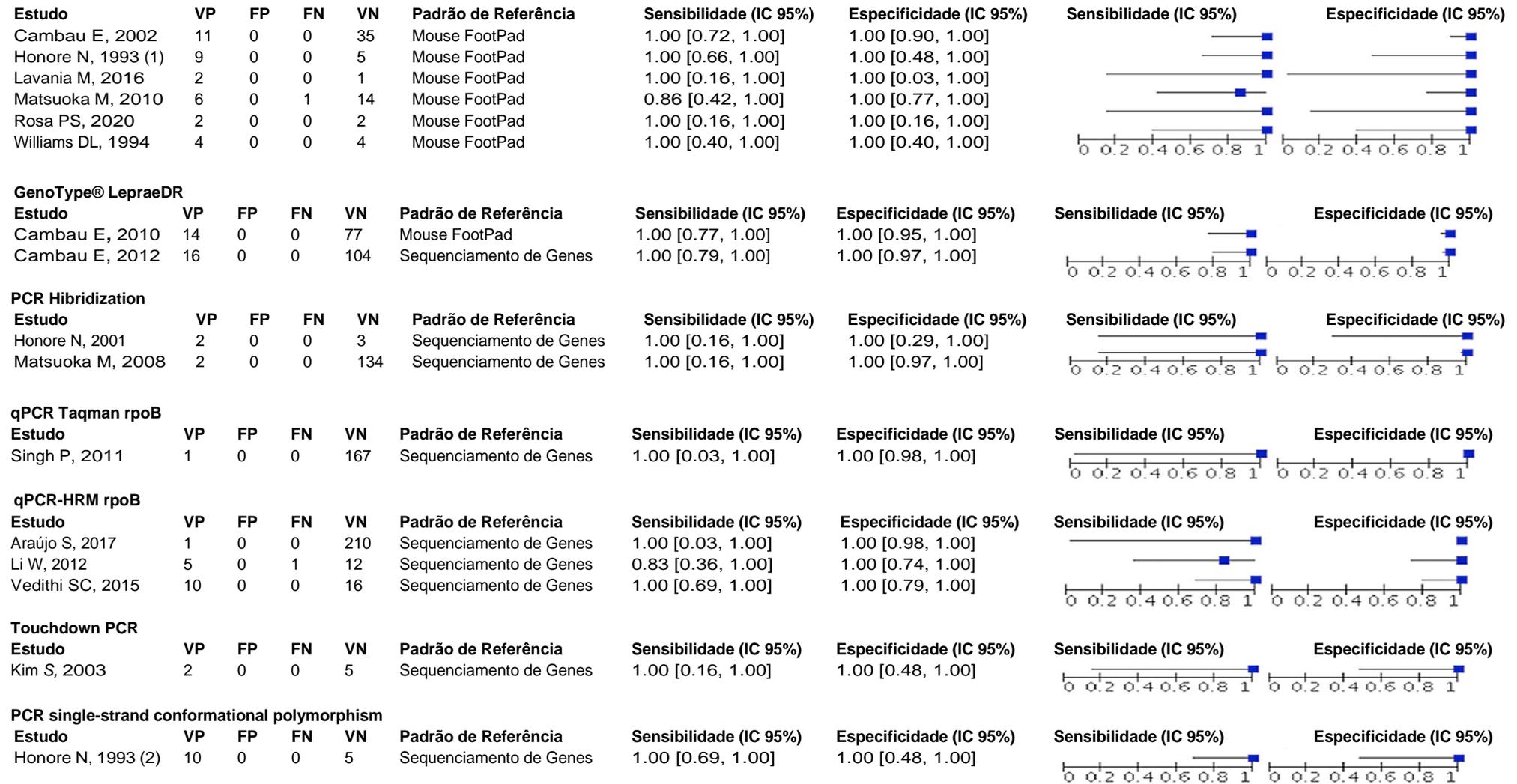
**Radiometric Macrophage Assay**

Estudo	VP	FP	FN	VN	Padrão de Referência	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)
Satish M, 1985	10	0	1	2	Mouse FootPad	0.91 [0.59, 1.00]	1.00 [0.16, 1.00]

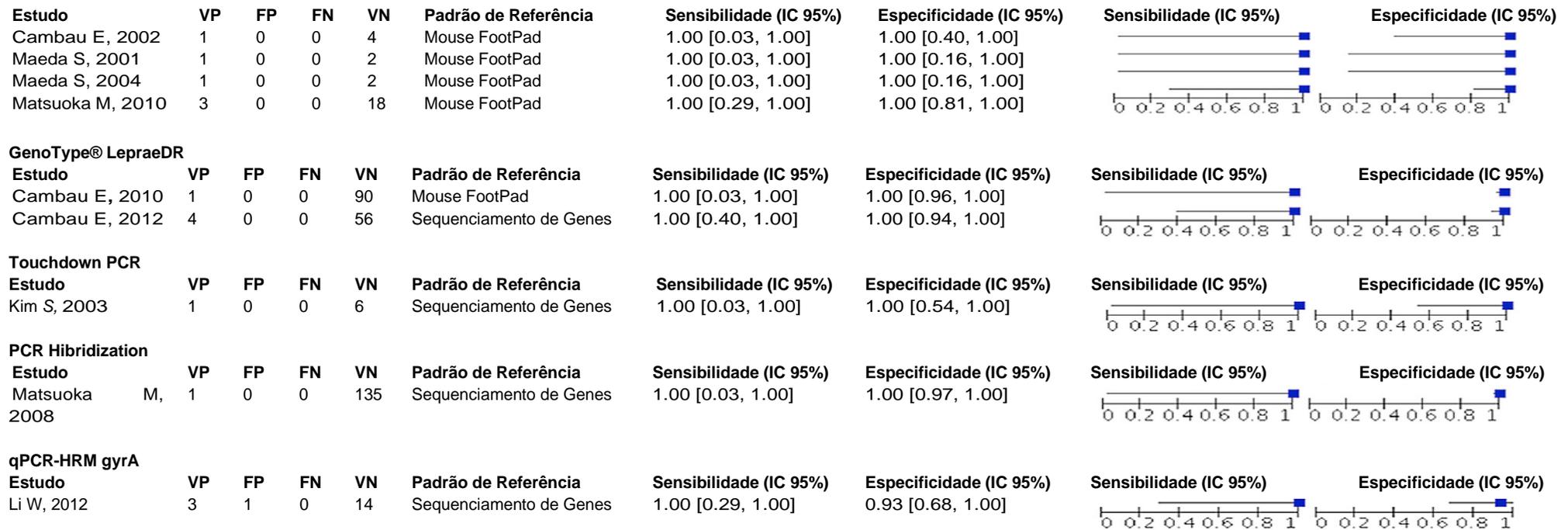




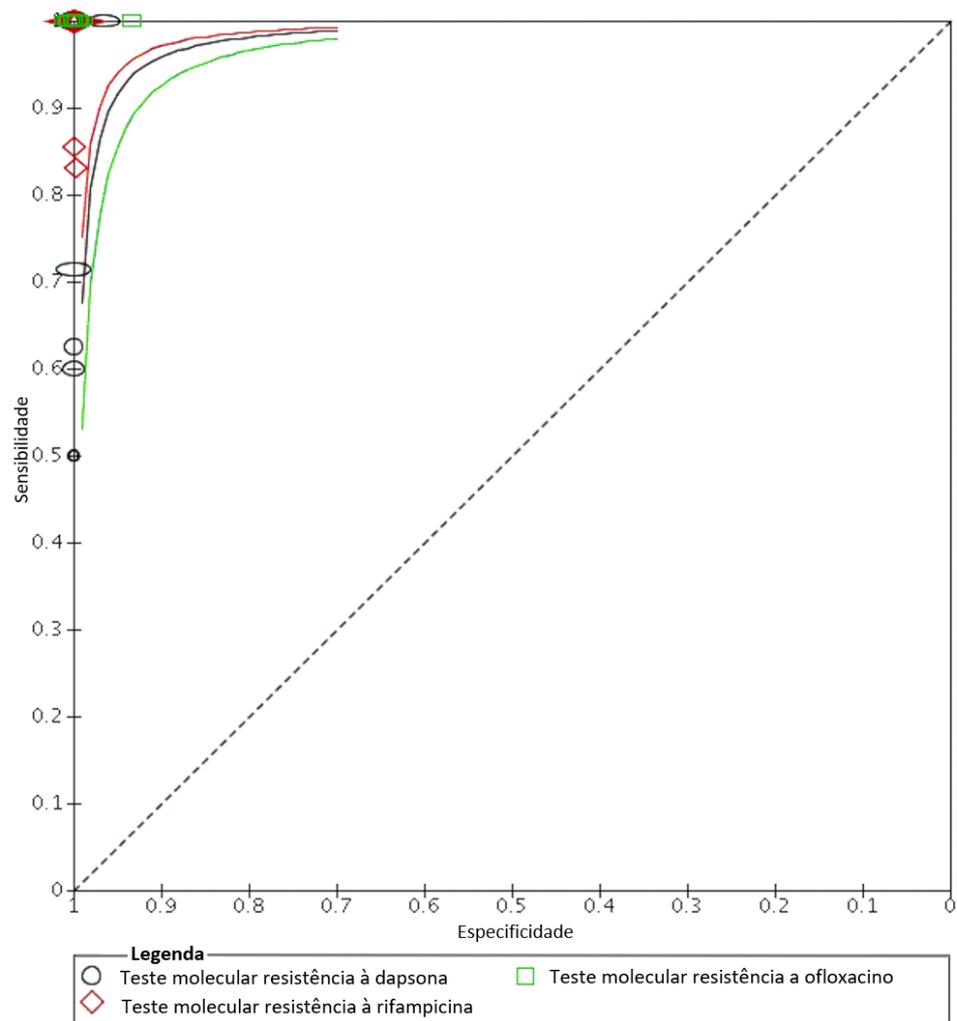
**Figura 4** - Testes índice, padrões de referência, valores de sensibilidade e valores de especificidade de testes de resistência antimicrobiana da dapsona em hanseníase.



**Figura 5** - Testes índice, padrões de referência, valores de sensibilidade e valores de especificidade de testes de resistência antimicrobiana da rifampicina em hanseníase.



**Figura 6** - Testes índice, padrões de referência, valores de sensibilidade e valores de especificidade de testes de resistência antimicrobiana de ofloxacino em hanseníase.



**Figura 7** - Curvas ROC. Cada símbolo reflete uma tabela 2x2 de dapsona, rifampicina e estudos de resistência de ofloxacino.

**Tabela 1** – Resultados de metanálise e metarregressão de sensibilidade e especificidade para testes moleculares para detecção de resistência antimicrobiana da hanseníase e influência de covariáveis

<b>DAPSONA</b>			
<b>COVARIÁVEL</b>	<b>Estudos (n)</b>	<b>Sensibilidade (IC 95%)</b>	<b>Especificidade (IC 95%)</b>
Sumário	15	78,8 (65.6-87.9)	97,0 (94.0-98.60)
GSEQ	7	66.7 (20.6-93.9)	92.2 (46.8-99.4)
Não GSEQ	8	89.2 (76.9-95.4)	98.5 (96.1-99.4)
P-value		0.014	0.035
RFSTD Mouse	8	69,1 (21.7-94.7)	94.3 (53.0-99.6)
RFSTD GSEQ	7	87.3 (72.8-94.7)	98.4 (95.5-99.5)
P-value		0.053	0.107
<b>RIFAMPICINA</b>			
<b>COVARIÁVEL</b>	<b>Estudos (n)</b>	<b>Sensibilidade (IC 95%)</b>	<b>Especificidade (IC 95%)</b>
Sumário	16	88.7 (80.0-93.9)	97.3 (94.3-98.8)
GSEQ	6	88.4 (45.0-98.6)	92.9 (54.7-99.3)
Não GSEQ	10	88.9 (77.0-95.0)	98.5 (96.4-99.4)
P-value		0.947	0.034
RFSTD Mouse	7	90.0 (48.3-98.9)	95.0 (59.3-99.6)
RFSTD GSEQ	9	87.5 (73.7-94.6)	98.3 (95.6-99.4)
P-value		0.720	0.154
<b>OFLOXACINO</b>			
<b>COVARIÁVEL</b>	<b>Estudos (n)</b>	<b>Sensibilidade (IC 95%)</b>	<b>Especificidade (IC 95%)</b>
Sumário	9	80.9 (60.1-92.3)	96.1 (90.2-98.5)
GSEQ	4	79.2 (10.6-99.2)	90.9 (25.2-99.7)
Não GSEQ	5	82.2 (53.7-94.8)	97.8 (92.4-99.4)
P-value		0.857	0.163
RFSTD Mouse	5	78.4 (8.9-99.3)	94.9 (31.8-99.9)
RFSTD GSEQ	4	83.6 (52.4-95.9)	97.2 (88.3-99.4)
P-value		0.751	0.567

Legenda: RFSTD = Referência padrão, GSEQ = Método molecular baseado em sequenciamento de genes.

Nota: A qualidade das evidências relacionadas a cada desfecho (valores de sensibilidade e especificidade sumária) foi classificada de acordo com a ferramenta Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation (GRADE). Ferramenta do Grupo de Trabalho em Alta ⊕⊕⊕⊕, Moderada ⊕⊕⊕^x, baixa ⊕⊕^x^x e muito baixa ⊕^x^x^x.

### Estudos de rastreio

Foi possível extrair a proporção de casos resistentes aos antimicrobianos entre o total de casos de hanseníase em 129 artigos. Em nossa análise de qualidade, apenas 27 (20,93%) artigos incluíram um quadro amostral adequado para atender à população-alvo; apenas 24 (18,60%) amostraram os participantes de forma adequada; e 42 (32,56%) apresentaram tamanho amostral adequado. Em apenas 36 (27,91%) estudos, os participantes e o local foram descritos detalhadamente. Em 77 (59,69%) estudos, a análise dos dados foi conduzida com cobertura suficiente da amostra identificada. Em 109 (84,49%) estudos, métodos válidos foram utilizados para a identificação da condição. E em 93 (72,09%) estudos, a condição foi medida de forma padrão e confiável para todos os participantes. Por fim, em 105 (81,39%) estudos, foi utilizada uma análise estatística adequada, e em 106 (82,17%) estudos, a taxa de resposta foi adequada (Tabela Suplementar S4).

A proporção de resistência foi avaliada para dapsona (112 artigos), rifampicina (81 artigos), ofloxacino (47 artigos), Clofazimina (8 artigos), os outros 5 tipos de drogas e para multirresistência (59 artigos). Esses resultados estão presentes na Tabela 2 e no Arquivo Suplementar S5. Foi encontrada heterogeneidade significativa em todos os 5 modelos de metanálise.

A metarregressão mostrou que a proporção de resistência à dapsona foi significativamente influenciada pelo ano em que o estudo foi realizado. Os gráficos de floresta indicaram redução significativa na proporção de casos resistentes à dapsona após a introdução da PQT-OMS, em 1981. A metarregressão também mostrou que os estudos que utilizaram o teste Mouse Foot Pad apresentaram maiores proporções de casos com resistência à dapsona e multidrogas do que os estudos que utilizaram GSEQ.

A metarregressão mostrou que a proporção de resistência antimicrobiana à rifampicina e ao ofloxacino e de resistência multidrogas não foi influenciada por covariáveis (Tabela 2). Também não fomos capazes de identificar a fonte de heterogeneidade para estudos envolvendo essas drogas. É importante ressaltar que não encontramos evidências de que a proporção de resistência antimicrobiana tenha aumentado ao longo do tempo. Não foi encontrado viés de publicação. As análises de metarregressão e viés de publicação não foram realizadas para resistência à clofazimina devido ao pequeno número de estudos incluídos. Os resultados individuais dos estudos que avaliaram a resistência antimicrobiana a minociclina,

claritromicina, moxifloxacina, desoxifruco-serotonina e outros macrolídeos são apresentados na Tabela 3.

**Tabela 2** – Metanálise e metarregressão de proporções de casos de hanseníase com resistência antimicrobiana a dapsona, rifampicina, ofloxacino e multirresistência e influência de covariáveis

<b>Dapsona</b>	<b>Proporção (%)</b>	<b>IC 95%</b>	<b>I<sup>2</sup> (%)</b>	<b>p-value</b>
Metanálise	8,5	4.8-12.9	98.5	<0.001
Metarregressão	R <sup>2</sup> (%)		p-value	
Ano do estudo	30,1		<0.001	
País	0		0.460	
Resistência primária	0,3		0.303	
Pacientes paucibacilares	2,7		0.159	
Amostra adequada	0		0.339	
Tipo de teste	33,8		<0.001	
<b>Rifampicina</b>	<b>Proporção (%)</b>	<b>IC 95%</b>	<b>I<sup>2</sup> (%)</b>	<b>p-value</b>
Metanálise	2,0	1.0-3.0	89.3	<0.001
Metarregressão	R <sup>2</sup> (%)		p-value	
Ano do estudo	0		0.984	
País	0		0.794	
Resistência primária	0		0.623	
Pacientes paucibacilares	0		0.974	
Amostra adequada	0		0.924	
Tipo de teste	0		0.878	
<b>Ofloxacino</b>	<b>Proporção (%)</b>	<b>IC 95%</b>	<b>I<sup>2</sup> (%)</b>	<b>p-value</b>
Metanálise	1,0	0-2.0	84.0	<0.001
Metarregressão	R <sup>2</sup> (%)		p-value	
Ano do estudo	0		0.499	
País	7,2		0.261	
Resistência primária	0		0.576	
Pacientes paucibacilares	6,9		0.158	
Amostra adequada	0		0.427	
Tipo de teste	--		--	

Continua

## Continuação

<b>Clofazimina</b>	<b>Proporção (%)</b>	<b>IC 95%</b>	<b>I<sup>2</sup> (%)</b>	<b>p-value</b>
Metanálise	3,0	0-8.1	89.2	<0.001
Multidroga resistente	Proporção (%)	IC 95%	I <sup>2</sup> (%)	p-value
Metanálise	1,0	0-2.0	92.1	<0.001
Metarregressão	R <sup>2</sup> (%)		p-value	
Ano do estudo	0		0.864	
País	0		0.502	
Resistência primária	0		0.439	
Pacientes paucibacilares	8,9		0.115	
Amostra adequada	0		0.440	
Tipo de teste	58,5		<0.001	

Nota: A qualidade das evidências relacionadas a cada desfecho (valores de sensibilidade e especificidade sumária) foi classificada de acordo com a ferramenta Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation (GRADE). Ferramenta do Grupo de Trabalho em Alta ⊕⊕⊕⊕, Moderada ⊕⊕⊕^x, baixa ⊕⊕^x^x e muito baixa ⊕^x^x^x.

**Tabela 3** – Resultados individuais de estudos que avaliaram a proporção de resistência antimicrobiana a Minociclina, claritromicina, moxifloxacina, desoxifruco-serotonina e outros macrolídeos

<b>Autor/ano</b>	<b>Droga</b>	<b>Tipo</b>	<b>Resistência (n)</b>	<b>População (n)</b>	<b>Proporção</b>	<b>IC 95%</b>
Matsuoka M, 2010	Minociclina	Mouse FootPad	0	21	0	0.00-0.16
Kim S, 2003	Claritromicina	Touch-down PCR	0	7	0	0.00-0.41
Chokkakula S, 2019	Claritromicina	Gene Sequencing 23s rRNA	2	290	0.01	0.00-0.02
Pardillo FEF, 2008	Moxifloxacino	Mouse FootPad	0	8	0	0.00-0.37
Balakrishnan S, 1985	Desoxifruco-serotonina	Mouse FootPad	6	22	0.27	0.11-0.50
Rumebe L, 2016	Macrolídeos	Gene Sequencing of rplD, rplV, rrl	0	34	0	0.00-0.10
Matsuoka M, 2010	Claritromicina	Mouse FootPad	0	21	0	0.00-0.16

## Discussão

A PQT-OMS revolucionou o tratamento da hanseníase. Substituiu o antigo uso da monoterapia dapsona, reduzindo drasticamente o tempo de tratamento. A introdução dessa combinação também reduziu a disseminação de isolados resistentes à dapsona na segunda metade do século XX, como confirmado por nosso estudo (Arquivo Suplementar S5).

Na metanálise dos estudos de acurácia, a especificidade sumária dos testes moleculares foi maior que 96% para a detecção de resistência antimicrobiana a dapsona, rifampicina e ofloxacino (Tabela 1), o que significa que os resultados falso-positivos não parecem ser um problema relevante na prática clínica. A sensibilidade global desses testes variou de 78,8% (IC 95% = 65,6-87,9) para resistência à dapsona a 88,7% (IC 95% = 80,0-93,9) para resistência à rifampicina. Essa sensibilidade reduzida pode representar um desafio significativo para as autoridades de saúde pública. Por exemplo, se um inquérito molecular for realizado em uma população de 10.000 pacientes com hanseníase e a proporção de resistência da dapsona for de 1%, 21 casos com resistência à dapsona não serão detectados. Esses pacientes podem não responder à PQT-OMS e transmitir bacilos com resistência múltipla a outros contatos. Essa sensibilidade reduzida encontrada em alguns estudos pode ser explicada por outros mecanismos de resistência além da mutação genética em regiões determinantes da resistência, pela limitada capacidade de detecção em pacientes paucibacilares, pela presença de populações de bacilos resistentes e sensíveis no mesmo paciente e pela presença de inibidores da PCR.

Rifampicina e ofloxacino têm atividade bactericida contra micobactérias, enquanto dapsona é bacteriostática (7;40). Esse mecanismo de ação, além do fato de a dapsona ser a droga mais antiga utilizada para o tratamento da hanseníase, sugere que o perfil de resistência da dapsona possui mecanismos patogênicos mais amplos do que os perfis de outras drogas. Isso também pode explicar por que, excluindo-se a resistência à dapsona, os gráficos de floresta apresentaram valores de sensibilidade e especificidade relativamente homogêneos. No entanto, observamos que os intervalos de confiança foram muito amplos, refletindo o baixo número de pacientes estudados (Figura 4).

De acordo com os resultados do estudo individual e com o nosso modelo de metarregressão, outros métodos moleculares, incluindo PCR em tempo real (baseado na análise de HRM ou em sondas Taqman), foram mais sensíveis e específicos para

a detecção de resistência à dapsona do que GSEQ. Esses testes moleculares também foram mais específicos para detecção de resistência à rifampicina do que GSEQ. Para detecção da resistência de ofloxacino, todos os testes moleculares foram equivalentes. Esses métodos têm, também, a vantagem de ser relativamente mais simples do que o GSEQ, e podem ser úteis para inquéritos de rastreio (8). No entanto, algumas limitações metodológicas foram detectadas na análise de qualidade do QUADAS-2 (Figura 3). Espera-se que técnicas como a PCR em tempo real sejam mais sensíveis do que a GSEQ, uma vez que esta última é precedida de amplificação PCR convencional. Além disso, a maioria das mutações que conferem resistência em *M. leprae* são baseadas em mutações consistentes de códon ou nucleotídeo, possivelmente garantindo boa especificidade para outros métodos moleculares.

Devido à presença de limitações metodológicas e ao número relativamente baixo de pacientes avaliados, as conclusões devem ser tomadas com cautela. É importante considerar que os estudos de avaliação de outras técnicas, que não o GSEQ, podem ainda estar numa fase mais precoce de validação, e, embora as metodologias de artigos publicados possam resultar em maior sensibilidade e especificidade, a capacidade de reproduzir esses resultados pode ser limitada. O fato de a maioria dos estudos ter utilizado delineamento caso-controle corrobora essa interpretação alternativa (Figura 3).

Para os estudos de rastreio, foi encontrada heterogeneidade substancial na metanálise, o que significa que os resultados sumários não são confiáveis. Na metarregressão, estudos que utilizaram o teste Mouse FootPad para rastreio relataram maior proporção de casos resistentes à dapsona do que estudos que utilizaram métodos moleculares. Muito provavelmente, a muito baixa concentração de dapsona utilizada no teste Mouse FootPad pode explicar esse resultado. Alguns autores acreditam que a administração de 0,0001 g de dapsona por 100 g de dieta de camundongos, por exemplo, é equivalente a 1 mg de dapsona diária em humanos (41). Uma vez que a dose habitual de dapsona é de 100 mg por dia, podemos concluir que o teste Mouse FootPad é provavelmente muito sensível para detectar resistência. O teste Mouse FootPad pode detectar resistência à dapsona mesmo em pacientes que terão uma boa resposta clínica a terapias que contenham essa droga. Curiosamente, o ano de publicação também foi um mediador significativo da resistência da dapsona na metarregressão. Estudos realizados antes de 1980, quando a monoterapia da dapsona era considerada o tratamento padrão para a hanseníase,

relataram maior proporção de casos resistentes à dapsona do que artigos mais recentes.

Embora a heterogeneidade diminua a precisão das conclusões, os gráficos de floresta de resistência à dapsona, rifampicina, ofloxacino e clofazimina não indicam que a resistência antimicrobiana contra a PQT-OMS está aumentando (Arquivo Suplementar S5). Para todas as drogas, os gráficos de floresta mostram que a proporção de resistência é estável nas últimas décadas. Esse resultado é corroborado pelo modelo de metarregressão, que não mostrou efeito do tempo nas proporções de casos resistentes à rifampicina e ofloxacino. Esse resultado está de acordo com as recomendações recentes da OMS e com os resultados de ensaios clínicos recentes (2;42). Embora a duração do tratamento e a necessidade da adição de clofazimina em pacientes paucibacilares estejam sendo intensamente discutidas por especialistas da área, há um claro consenso de que a PQT-OMS ainda é uma medida importante para o controle da hanseníase (2;42;43).

Como limitação importante, não foi possível identificar outras variáveis que pudessem explicar os resultados heterogêneos para resistência à rifampicina, ao ofloxacino e à clofazimina. Isso pode ser explicado pela presença de importantes limitações metodológicas para a validação de estudos de rastreamento. A questão mais importante para os estudos de rastreamento baseia-se nos métodos de amostragem relatados. Na maioria dos estudos, não foi possível garantir que os métodos de amostragem e inclusão dos pacientes resultam em proporção representativa da população-alvo.

## **Conclusões**

Podemos concluir que estudos avaliando técnicas moleculares mais simples que o Mouse FootPad e o GSEQ, incluindo a PCR em tempo real, são alternativas promissoras para a detecção da resistência antimicrobiana na hanseníase, embora a qualidade metodológica das evidências existentes ainda precise ser melhorada. Além disso, nossos resultados sugerem que a proporção de casos resistentes não é influenciada pelas características regionais ou clínicas dos pacientes e que não aumentou significativamente nas últimas décadas. No entanto, o constante relato de casos resistentes de hanseníase é uma preocupação clínica e epidemiológica, pois mesmo poucos casos podem ser importantes fontes de transmissão da doença.

## Referências

1. Gurung P, Gomes CM, Vernal S, Leeflang MMG. Diagnostic accuracy of tests for leprosy: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect.* 2019;25(11):1315–27.
2. World Health Organization. Guidelines for the Diagnosis, Treatment and Prevention of Leprosy. 2018; 1:87.
3. Asia WHO-RO for S-E. A guide for surveillance of antimicrobial resistance in leprosy. 2017.
4. Contreras Mejía MDC, Dos Santos MP, Da Silva GAV, Da Motta Passos I, Naveca FG, Cunha MDGS, et al. Identification of primary drug resistance to rifampin in mycobacterium leprae strains from leprosy patients in Amazonas State, Brazil. *J Clin Microbiol.* 2014;52(12):4359–60.
5. Shepard CC. The first decade in experimental leprosy. *Bull World Health Organ.* 1971;44(6):821–7.
6. World Health Organization. A guide for surveillance of antimicrobial resistance in leprosy: 2017 update. New Delhi World Health Organ Reg Off South-East Asia. 2017.
7. Beltrán-Alzate C, López Díaz F, Romero-Montoya M, Sakamuri R, Li W, Kimura M, et al. Leprosy Drug Resistance Surveillance in Colombia: The Experience of a Sentinel Country. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016;10(10):1–12.
8. Li W, Matsuoka M, Kai M, Thapa P, Khadge S, Hagge DA, et al. Real-time PCR and high-resolution melt analysis for rapid detection of Mycobacterium leprae drug resistance mutations and strain types. *J Clin Microbiol.* 2012;50(3):742–53.
9. Whiting PF, Rutjes AWS, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, et al. Quadas-2: A revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Ann Intern Med.* 2011;155(8):529–36.
10. Sevilha-Santos L, dos Santos Júnior ACM, Medeiros-Silva V, Bergmann JO, da Silva EF, Segato LF, et al. Accuracy of qPCR for quantifying Leishmania kDNA in different skin layers of patients with American tegumentary leishmaniasis. *Clin Microbiol Infect.* 2018;25(2):242–7.
11. Schwarzer G, Chemaitelly H, Abu-Raddad LJ, Rücker G. Seriously misleading results using inverse of Freeman-Tukey double arcsine transformation in meta-analysis of single proportions. *Res Synth Methods.* 2019; 10:476–83.
12. Hunter JP, Saratzis A, Sutton AJ, Boucher RH, Sayers RD, Bown MJ. In meta-analyses of proportion studies, funnel plots were found to be an inaccurate method of assessing publication bias. *J Clin Epidemiol [Internet].* 2014;67(8):897–903.
13. Higgins JPT, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat Med.* 2002.

14. Pearson JMH, Haile GS, Barnetson St. RC, Rees RJW. Dapsone-resistant leprosy in Ethiopia. *Lepr Rev.* 1979;50(3):183–99.
15. Almeida JG, Chacko CJG, Christian M, Taylor PM, Fritschi EP. DDS-resistant infection among leprosy patients in the population of Gudiyatham Taluk, South India. Part III. Prevalence, incidence, risk factors, and interpretation of mouse foot pad test results. *Int J Lepr.* 1983;51(3):366–73.
16. Sathish M, Rees RJW, Seshadri PS, Nath I. Comparison of radiometric macrophage assay and the mouse foot pad infection for the evaluation of *Mycobacterium leprae* sensitivity/resistance to dapsone. *Int J Lepr.* 1985;53(3):378–84.
17. Honoré N, Cole S. Molecular Basis of Rifampin Resistance in *Mycobacterium leprae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37(3):414–8.
18. Honoré N, Perrani E, Telenti A, Grosset J, Cole S. A Simple and Rapid Technique for the Detection of Rifampin Resistance in *Mycobacterium leprae*. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1993;61(4):600–4.
19. Honoré N, Roche P, Grosset J, Cole S. A method for rapid detection of rifampicin-resistant isolates of *Mycobacterium leprae*. *Lepr Rev.* 2001;72(4):441–8.
20. Williams DL, Waguespack C, Eisenach K, Crawford JT, Portaels F, Salfinger M, et al. Characterization of rifampin resistance in pathogenic mycobacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994;38(10):2380–6.
21. Williams DL, Spring L, Harris E, Roche P, Gillis TP. Dihydropteroate synthase of *Mycobacterium leprae* and dapsone resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(6):1530–7.
22. Williams DL, Pittman TL, Gillis TP, Matsuoka M, Kashiwabara Y. Simultaneous detection of *Mycobacterium leprae* and its susceptibility to dapsone using DNA heteroduplex analysis. *J Clin Microbiol.* 2001;39(6):2083–8.
23. Kai M, Matsuoka M, Nakata N, Maeda S, Gidoh M, Maeda Y, et al. Diaminodiphenylsulfone resistance of *Mycobacterium leprae* due to mutations in the dihydropteroate synthase gene. *FEMS Microbiol Lett.* 1999;177(2):231–5.
24. Lee SB, Kim SK, Kang TJ, Chae GT, Chun JH, Shin HK, et al. The prevalence of folP1 mutations associated with clinical resistance to dapsone, in *Mycobacterium leprae* isolates from South Korea. *Ann Trop Med Parasitol.* 2001;95(4):429–32.
25. Maeda S, Matsuoka M, Nakata N, Kai M, Maeda Y, Hashimoto K, et al. Multi-drug Resistant *Mycobacterium leprae* from Patients with Leprosy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45(12):3635–9.
26. Cambau E, Bonnafous P, Perrani E, Sougakoff W, Ji B, Jarlier V. Molecular Detection of Rifampin and Ofloxacin Resistance for Patients Who Experience Relapse of Multibacillary Leprosy. *Clin Infect Dis.* 2002;34(1):39–45.

27. Cambau E, Carthagena L, Chauffour A, Ji B, Jarlier V. Dihydropteroate Synthase Mutations in the folP1 Gene Predict Dapsone Resistance in Relapsed Cases of Leprosy. *Clin Infect Dis*. 2006;42(2):238–41.
28. Cambau E, Tejmar-Kolar L, Chauffour-Nejevans A, Roth Dit Bettoni R, Jarlier V. Surveillance of antibiotic resistance in leprosy by a new molecular test, the GenoType® LepraeDR. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(S2):S55.
29. Cambau E, Chauffour-Nejevans A, Tejmar-Kolar L, Matsuoka M, Jarlier V. Detection of antibiotic resistance in leprosy using GenoType LepraeDR, a novel ready-to-use molecular test. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(7):e1739.
30. Kim SK, Lee SB, Kang TJ, Chae GT. Detection of gene mutations related with drug resistance in *Mycobacterium leprae* from leprosy patients using Touch-Down (TD) PCR. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2003;36(1–2):27–32.
31. Maeda S. Multi-drug Resistant *Mycobacterium leprae* from Patients with Leprosy. *Japanese J Lepr*. 2004; 73:227–33.
32. Matsuoka M, Aye KS, Kyaw K, Tan EV, Balagon MV, Saunderson P, et al. A novel method for simple detection of mutations conferring drug resistance in *Mycobacterium leprae*, based on a DNA microarray, and its applicability in developing countries. *J Med Microbiol*. 2008;57(10):1213–9.
33. Matsuoka M. The history and characteristics of isolates maintained at the Leprosy Research Center. *Japanese J Lepr*. 2010;79(3):247–56.
34. Sekar B, Arunagiri K, Kumar BN, Narayanan S, Menaka K, Oommen PK. Detection of mutations in folp1, rpoB and gyrA genes of *M. leprae* by PCR- direct sequencing - A rapid tool for screening drug resistance in leprosy. *Lepr Rev*. 2011;82(1):36–45.
35. Singh P, Busso P, Paniz-Mondolfi A, Aranzazu N, Monot M, Honore N, et al. Molecular drug susceptibility testing and genotyping of *Mycobacterium leprae* strains from South America. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(6):2971–3.
36. Vedithi SC, Lavania M, Kumar M, Kaur P, Turankar RP, Singh I, et al. A report of rifampin-resistant leprosy from northern and eastern India: identification and in silico analysis of molecular interactions. *Med Microbiol Immunol*. 2015;204(2):193–203.
37. Lavania M, Hena A, Reja H, Nigam A, Biswas NK uma., Singh I, et al. Mutation at codon 442 in the rpoB gene of *Mycobacterium leprae* does not confer resistance to rifampicin. *Lepr Rev*. 2016;87(1):93–100.
38. Araujo S, Goulart LR, Truman RW, Goulart IMB, Vissa V, Li W, et al. qPCR-High resolution melt analysis for drug susceptibility testing of *Mycobacterium leprae* directly from clinical specimens of leprosy patients. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2017;11(6):1–18.
39. Rosa PS, D’Espindula HRS, Melo ACL, Fontes ANB, Finardi AJ, Belone AFF, et al. Emergence and Transmission of Drug-/Multidrug-resistant *Mycobacterium leprae* in

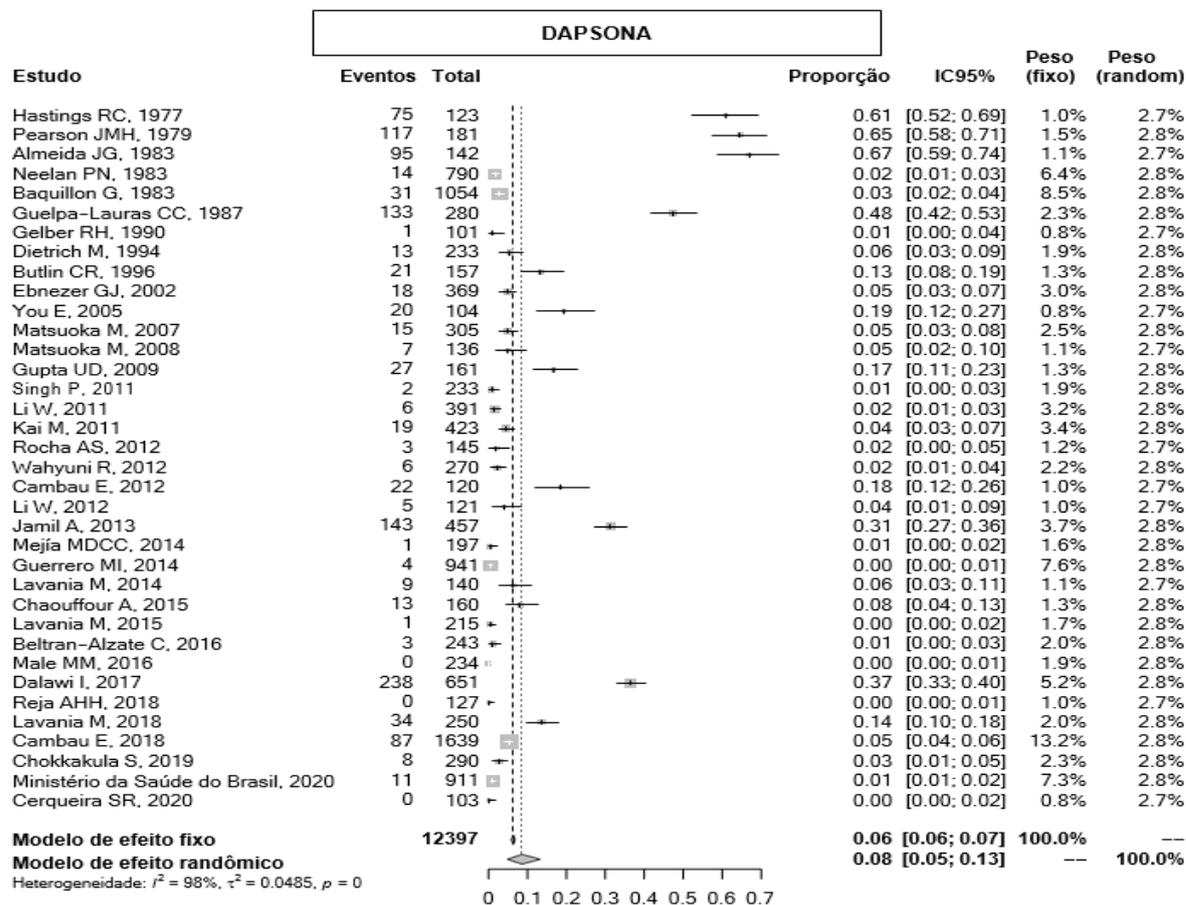
- a Former Leprosy Colony in the Brazilian Amazon. *Clin Infect Dis.* 2020;70(10):2054–61.
40. Hawkey PM. Mechanisms of quinolone action and microbial response. *J Antimicrob Chemother.* 2003;51(SUPPL S1):29–35.
41. Matsuoka M, Budiawan T, Aye KS, Kyaw K, Tan EV, Dela Cruz E, et al. The frequency of drug resistance mutations in *Mycobacterium leprae* isolates in untreated and relapsed leprosy patients from Myanmar, Indonesia and the Philippines. *Lepr Rev.* 2007;78(4):343–52.
42. Penna GO, Bühner-Sékula S, Kerr LRS, Stefani MM de A, Rodrigues LC, de Araújo MG, et al. Uniform multidrug therapy for leprosy patients in Brazil (U-MDT/CT-BR): Results of an open label, randomized and controlled clinical trial, among multibacillary patients. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11(7):1–19.
43. Lockwood DNJ, Lambert S, Srikantam A, Darlong J, Pai V V., Butlin CR, et al. Three drugs are unnecessary for treating paucibacillary leprosy—A critique of the WHO guidelines. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019;13(10):2–5.

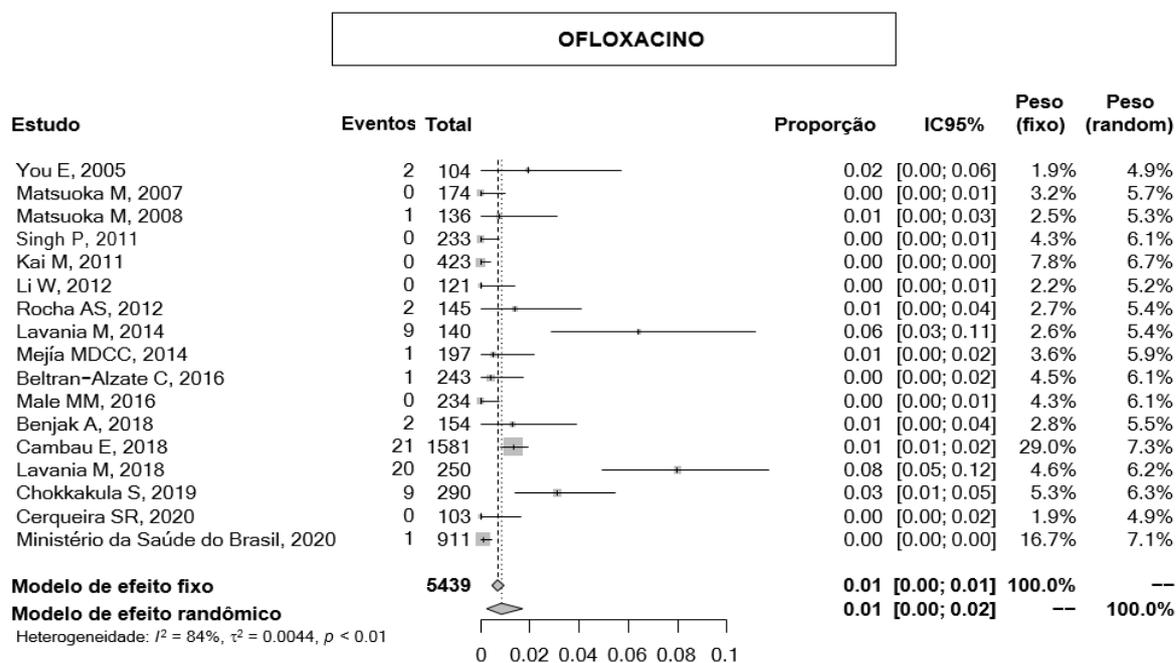
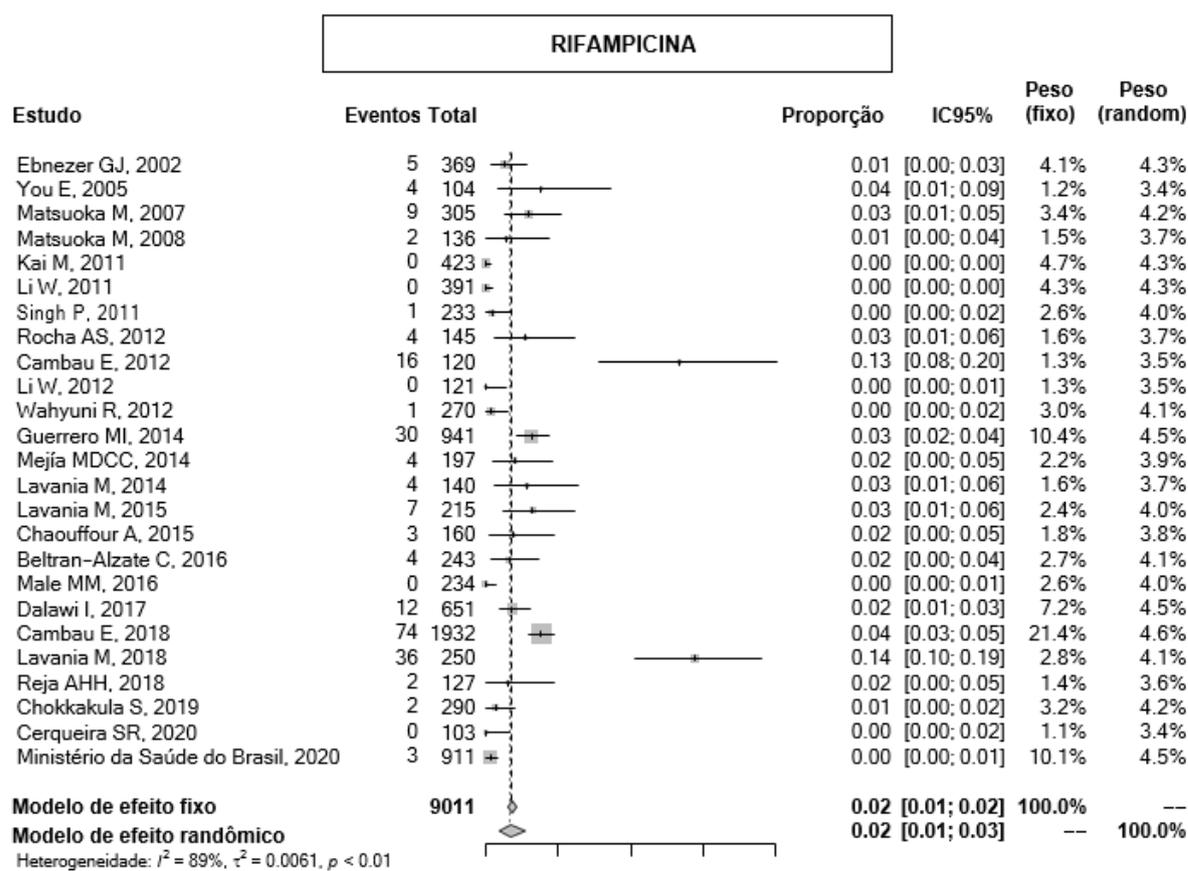
Tabela suplementar 1 – Estudos de acurácia inseridos na metanálise e na metarregressão

<b>Dapsona</b>							
Artigos, Ano	Teste Diagnóstico	VP	FN	FP	VN	GSEQ	REFSTD
Araújo S, 2017	qPCR-HRM folp1	4	0	0	207	NAO	GSEQ
Cambau E, 2012	GenoType® LepraeDR	22	0	0	98	NAO	GSEQ
Kim S, 2003	Touch Down PCR	4	0	0	3	NAO	GSEQ
Li W, 2012	qPCR-HRM folp1	5	0	4	112	NAO	GSEQ
Matsuoka M, 2008	DNA microarray - Hibridization	5	2	0	129	NAO	GSEQ
Singh P, 2011	qPCR Taqman folp1	2	0	0	166	NAO	GSEQ
Williams DL, 2001	DNA Heteroduplex Analysis	10	0	0	6	NAO	GSEQ
Cambau E, 2005	Gene Sequencing folp1	10	6	0	22	SIM	MFP
Kai M, 1999	Gene Sequencing folp1	4	0	0	2	SIM	MFP
Lavania M, 2016	Gene Sequencing folp1	1	1	0	1	SIM	MFP
Matsuoka M, 2010	Gene Sequencing folp1	9	0	0	12	SIM	MFP
Rosa PS, 2020	Gene Sequencing folp1	3	0	0	1	SIM	MFP
Sekar B, 2011	Gene Sequencing folp1	6	4	0	30	SIM	MFP
Williams DL, 2000	Gene Sequencing folp1	2	2	0	2	SIM	MFP
Cambau E, 2010	GenoType® LepraeDR	18	0	0	73	NAO	MFP
<b>Rifampicina</b>							
Araújo S, 2017	qPCR-HRM rpoB	1	0	0	210	NAO	GSEQ
Cambau E, 2012	GenoType® LepraeDR PCR single-strand conformational polymorphism	16	0	0	104	NAO	GSEQ
Honore N, 1993(2)	PCR - Hibridization	10	0	0	5	NAO	GSEQ
Honore N, 2001	Touch Down PCR	2	0	0	3	NAO	GSEQ
Kim S, 2003	qPCR-HRM rpoB	2	0	0	5	NAO	GSEQ
Li W, 2012	DNA microarray - Hibridization	5	1	0	12	NAO	GSEQ
Matsuoka M, 2008	qPCR Taqman rpoB	2	0	0	134	NAO	GSEQ
Singh P, 2011	qPCR-HRM rpoB	1	0	0	167	NAO	GSEQ
Vedithi SC, 2015	Gene Sequencing rpoB	10	0	0	16	NAO	GSEQ
Cambau E, 2015	Gene Sequencing rpoB	11	0	0	35	SIM	MFP
Honore N, 1993(1)	Gene Sequencing rpoB	9	0	0	5	SIM	MFP
Lavania M, 2016	Gene Sequencing rpoB	2	0	0	1	SIM	MFP
Matsuoka M, 2010	Gene Sequencing rpoB	6	1	0	14	SIM	MFP
Rosa PS, 2020	Gene Sequencing rpoB	2	0	0	2	SIM	MFP
Williams DL, 1994	Gene Sequencing rpoB	4	0	0	4	SIM	MFP
Cambau E, 2010	GenoType® LepraeDR	14	0	0	77	NAO	MFP
<b>Ofloxacino</b>							
Cambau E, 2015	Gene Sequencing GyrA	1	0	0	4	YES	MFP
Maeda S, 2001	Gene Sequencing GyrA	1	0	0	2	YES	MFP
Maeda S, 2004	Gene Sequencing GyrA	1	0	0	2	YES	MFP
Matsuoka M, 2010	Gene Sequencing GyrA	3	0	0	18	YES	MFP
Cambau E, 2010	GenoType® LepraeDR	1	0	0	90	NO	MFP
Cambau E, 2012	GenoType® LepraeDR	4	0	0	56	NO	GSEQ
Kim S, 2003	Touch Down PCR	1	0	0	6	NO	GSEQ
Li W, 2012	qPCR-HRM gyrA	3	0	1	14	NO	GSEQ
Matsuoka M, 2008	DNA microarray - Hibridization	1	0	0	135	NO	GSEQ

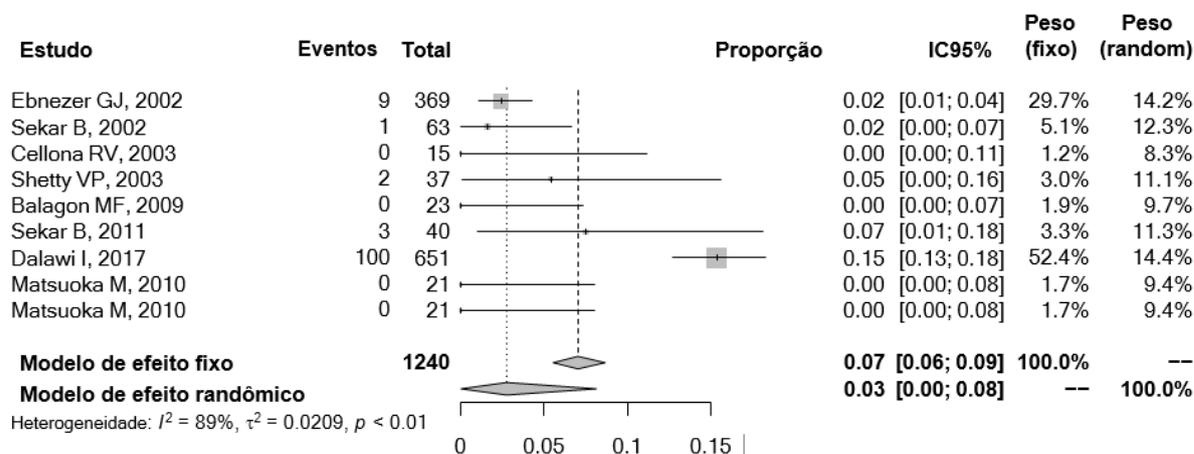
Legenda: VP = Verdadeiro Positivo, FN = Falso-Negativo, FP = Falso-Positivo, VN = Verdadeiro Negativo, GSEQ = Método molecular baseado em sequenciamento de genes, RFTSD = Referência padrão.

**Figuras suplementares 1** - Estudos de rastreio inseridos na metanálise e a proporção de RAM entre os casos de hanseníase por subgrupo de droga investigada.

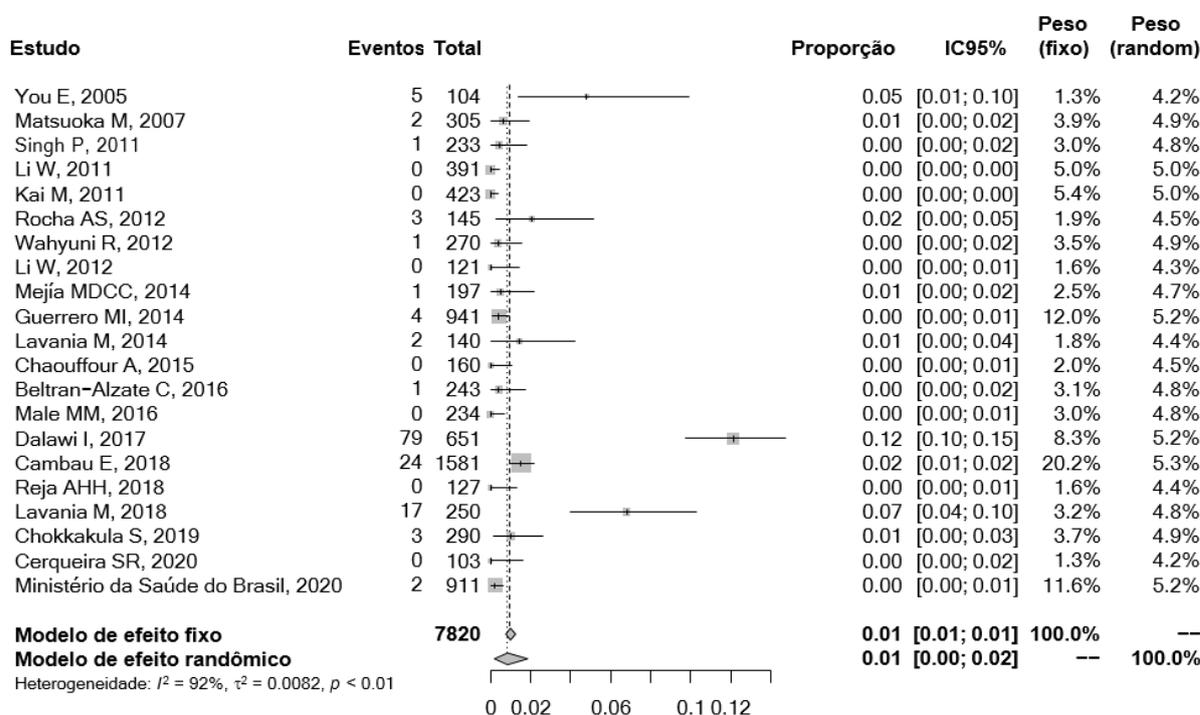




## CLOFAZIMINA



## MULTIDROGA RESISTENTE



**Quadro suplementar 1** – Principais genótipos associados com à resistência aos antimicrobianos da hanseníase.

Região	Autor/Ano	País	Antimicrobianos	Gene	Genótipo de Resistência
África	Avanzi et al., 2016	Guiné	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Ser456Leu
			Dapsona	<i>folP1</i>	Thr53Arg
	Coulibaly et al., 2020	Costa do Marfim	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Gln438Val; Asp441Asn; Ser4561Leu; Ser456Phe
			Dapsona	<i>folP1</i>	Thr53Iso; Pro55Arg; Pro55Leu
Américas	Matsuoka et al., 2010	México	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Ser425Leu
			Ofloxacino	<i>gyrA</i>	Ala91Val
	Sing et al., 2011	Brasil, Venezuela, Colômbia e Uruguai	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Ser425Leu
			Dapsona	<i>folP1</i>	Pro55Leu
	Rocha et al., 2012	Brasil	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Ser531Met; Ser531Leu; Ser531Phe
			Dapsona	<i>folP1</i>	Pro55Arg
			Ofloxacino	<i>gyrA</i>	Ala91Val
	Williams et al., 2013	EUA	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Ser425Leu
			Dapsona	<i>folP1</i>	Thr53Ala
	Guerrero et. Al, 2014	Colômbia	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Ser425Leu; Asp410Asn; Asp410Tyr; His420Tyr
			Dapsona	<i>folP1</i>	Thr53Ala; Pro55Leu
			Ofloxacino	<i>gyrA</i>	Ala91Val
	Contreras et al., 2014	Brasil	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Ser425Phe
			Dapsona	<i>folP1</i>	Pro55Arg
Ofloxacino			<i>gyrA</i>	Ala91Val	
Rifampicina			<i>rpoB</i>	Ala426Thre; Asp441Tyr; Ser456Leu; Ser458Met; Asp505Trp	
Beltrán-Alzate et al., 2016	Colômbia	Dapsona	<i>folP1</i>	Thre53Ala; Pro55Leu; Thr88Pro; Asp91His; Arg94Trp	
		Ofloxacino	<i>gyrA</i>	Ala107Leu	
		Rifampicina	<i>rpoB</i>	Ser456Met; Ser456Met; Leu470Gln; Asp441Tyr	
Rosa et al., 2019	Brasil	Dapsona	<i>folP1</i>	Thr53Ala; Pro55Arg; Pro55Leu	
		Ofloxacino	<i>gyrA</i>	Leu97Phe	
		Dapsona	<i>folP1</i>	Thr53Ile; Pro55Arg; Pro55Leu	
Ásia	Masanori et al., 2010	Vietnã	Dapsona	<i>folP1</i>	Thr53Ile; Pro55Arg; Pro55Leu
	Li et al., 2011	Filipinas	Dapsona	<i>folP1</i>	Thr53Ala; Thr53Val; Pro55Leu
	Wahyuni et al., 2012	Indonésia	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Asp410Tyr
Dapsona			<i>folP1</i>	Thr53Ala; Thr53Arg; Pro55Arg; Pro55Leu	

Continua

## Continuação

Região	Autor/Ano	País	Antimicrobianos	Gene	Genótipo de Resistência
Ásia	Lavania et al., 2014	Índia	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Thr433Ile; Phe439Leu; Asp441Tyr; Gln442His
			Dapsona	<i>folP1</i>	Thr53Arg; Pro55Leu; Pro55Arg
			Ofloxacino	<i>gyrA</i>	Ala91Thr; Ala91Val; Ser92Ala
	Reja et al., 2015	Índia	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Glu442His
	Vedithi et al., 2015	Índia	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Thr433Ile; Gln438Val; Phe439Leu; Glu442His; Pro460Del; Gly462Del; Gly495Ser
	Lavania et al., 2015	Índia	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Ala411Val; Val424Gly; Ala425Gly; Ser437Gln; Gln438Tyr; Gln442His; Leu455Pro
	Liu et al., 2015	China	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Ser531Leu
			Dapsona	<i>folP1</i>	Pro55Arg
			Ofloxacino	<i>gyrA</i>	Ala91Val
	Lavania et al., 2018	Índia	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Ser456Leu; Ser456Val; Val424Gly; Ser434Cys; Asp441Tyr
			Dapsona	<i>folP1</i>	Thr53Ile; Ala53Asp; Pro55Leu; Pro55Arg;
			Ofloxacino	<i>gyrA</i>	Ala91Val; Ser92Ala
	Siskawati et al., 2018	Indonésia	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Asp410Tyr; Ser425Leu
	Singh et al., 2018	Índia	Ofloxacino	<i>gyrA</i>	Ala91Val
	Lavania et al., 2018	Índia	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Leu436Meth; Ser437Pro; Asp441Tyr; Gln442His; Ser456Leu;
	Vedithi et al., 2018	Índia	Rifampicina	<i>rpoB</i>	H476R; S437L; D441Y; D441V
	Chokkakula et al., 2019	China	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Asp410Tyr
Dapsona			<i>folP1</i>	Pro55Ser; Thr53Arg; Thr53Ile; Pro55Arg	
Ofloxacino			<i>gyrA</i>	Ala91Val; Gly362Asp	
Mahajan et al., 2020	Índia	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Lue436Gln;	
		Dapsona	<i>folP1</i>	Pro55Ser; Pro55Lue	
		Ofloxacino	<i>gyrA</i>	Ala91Pro; Gly89Ala; Gly89Cys	
Chen et al., 2020	China	Dapsona	<i>folP1</i>	Thr53Ala; Thr53Ile; Pro55Arg; Pro55Leu	
		Ofloxacino	<i>gyrA</i>	Ala91Val	
Europa	Chauffour et al., 2018	França	Rifampicina	<i>rpoB</i>	Ser456Leu; Ser456Phe
			Dapsona	<i>folP1</i>	Thr53Ile; Thr53Ala; Pro55Leu
			Ofloxacino	<i>gyrA</i>	Ala91Val

## 4.2 SEGUNDO ARTIGO: ESTUDO TRANSVERSAL PARA DETERMINAR A FREQUÊNCIA DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E INVESTIGAR SEUS FATORES ASSOCIADOS NOS PACIENTES DE HANSENÍASE NO BRASIL.

### **Publicado no “Antimicrobial Agents and Chemotherapy” (Apêndice B)**

#### **Título**

Resistência antimicrobiana em pacientes com hanseníase no Brasil: resultados do Plano Nacional de Vigilância.

#### **Autores**

Elaine Silva Nascimento Andrade<sup>1,2</sup>, Jurema Guerrieri Brandão<sup>1,3</sup>, Juliana Souza da Silva<sup>1</sup>, Carmelita Ribeiro Filha Coriolano<sup>1</sup>, Patrícia Sammarco Rosa<sup>4</sup>, Milton Ozório de Moraes<sup>5</sup>; Cynthia de Oliveira Ferreira<sup>6</sup>, Ciro Martins Gomes<sup>3,7</sup>, Wildo Navegantes de Araújo<sup>2,7,8,9</sup>

#### **Afiliações**

- 1.Coordenação Geral de Doenças em Eliminação – CGDE, Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis – DCCI, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Brasília, Brasil
- 2.Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Brasil
- 3.Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Brasil
- 4.Laboratório de Biologia Molecular, Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru, Brasil
- 5.Laboratório de Biologia Molecular, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil
- 6.Laboratório de Biologia Molecular, Fundação Alfredo da Matta, Manaus, Brasil
- 7.Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Brasil
- 8.Faculdade UnB Ceilândia, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Brasil
- 9.Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Avaliação de Tecnologia em Saúde, Porto Alegre, Brasil

## Título curto

Resistência antimicrobiana na hanseníase no Brasil.

## Resumo

O Brasil ocupa o segundo lugar entre os casos novos e o primeiro em casos de recidiva de hanseníase em todo o mundo, por isso, foi criado o Plano de Vigilância da Resistência *Mycobacterium leprae*. O objetivo desta pesquisa é apresentar os resultados de um acompanhamento de dois anos do Plano Nacional de Vigilância no Brasil. Foi realizado um estudo transversal de casos de hanseníase para investigar a resistência antimicrobiana (RAM) no Brasil, entre outubro de 2018 e setembro de 2020. Foram realizados rastreamento molecular de genes relacionados à dapsona (*folP1*), à rifampicina (*rpoB*) e resistência ao ofloxacino (*gyrA*). No período de encaminhamento, 63.520 pacientes ativos de hanseníase foram registrados no Brasil, e 1.183 preencheram os critérios de inclusão para investigação molecular da RAM. No total, apenas 16 (1,4%) pacientes apresentaram polimorfismos genéticos associados à RAM. Destes, 8 (50%) foram em casos de recidiva de hanseníase, 7 (43,8%) em casos classificados como suspeita de falha terapêutica com tratamento padrão, e 1 (6,2%) era caso novo de apresentação de hanseníase. Cepas de *M. leprae* com mutações associadas à RAM foram encontradas para todos os três genes examinados. Cepas de dois pacientes, apresentaram resistência simultânea à dapsona e à rifampicina, indicando resistência multidroga (MDR). Não foi identificada relação significativa entre variáveis clínicas e presença de RAM. O estudo revelou baixa frequência de RAM no Brasil. As cepas foram, principalmente, resistentes à dapsona, e um número muito baixo de cepas foi resistente à rifampicina, a principal droga bactericida para hanseníase, ou apresentou MDR, reforçando a importância da terapia multidroga padrão da Organização Mundial da Saúde. A maior frequência de RAM entre pacientes com recidiva sustenta a necessidade de monitorar constantemente esse grupo.

**Palavras-chave:** Hanseníase; *M. leprae*; Resistência às drogas; Análise de sequência, DNA; Vigilância; Brasil.

## Introdução

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica causada por *Mycobacterium leprae* e *Mycobacterium lepromatosis* (1). O número médio anual de novos casos nos últimos dez anos manteve-se estável em todo o mundo. Em 2019, foram notificados 202.185 novos casos e 3.897 casos de recidiva em mais de 120 países, demonstrando a manutenção da cadeia de transmissão (2). O monitoramento da resistência antimicrobiana (RAM) em cepas de *M. leprae* nos casos novos e de recidiva tem sido recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), com o objetivo de avaliar a eficácia da poliquimioterapia (PQT). As diretrizes atuais estão focadas, principalmente, na investigação da resistência à rifampicina, a droga principal no

regime da PQT-OMS (3). RAM pode resultar em infecção persistente e regimes de tratamento ineficazes, dificultando as medidas de controle da hanseníase (4).

Estudos recentes na China (5), na França (6) e na Índia (7) relataram proporções de 25%, 11,2% e 7% entre os casos de hanseníase, respectivamente. Apesar desses relatos, ainda não se sabe se a RAM afeta a manutenção da carga da doença. O regime de 12 doses da PQT-OMS é altamente eficaz (8) e tem sido bem sucedido no tratamento de casos de resistência isolada à dapsona (9). O Brasil está entre os 23 países com maiores cargas da doença, e, em 2019, foi responsável por 13,7% dos novos casos e 43,5% dos casos de recidiva em todo o mundo (2).

A importância da investigação de cepas resistentes de *M. leprae* no Brasil foi destacada após a publicação dos resultados do estudo obtidos a partir da vigilância sentinela em 19 países, entre 2009 e 2015. A proporção de resistência à rifampicina encontrada no Brasil parecia alarmante, com 9,1%, em comparação com a proporção global registrada, que é de 3,8% (10). Estudos anteriores, no Brasil, mostraram 5% de resistência à rifampicina e 2% de resistência multidroga (MDR) (11,12). A maioria dos casos resistentes foi identificada por meio de pesquisa realizada pelos centros de referência terciários (11-13), e pode não representar o verdadeiro cenário epidemiológico nacional.

O principal objetivo do presente estudo é apresentar os dados de um acompanhamento de dois anos do Plano de Vigilância de Resistência *M. leprae* elaborado pelo Programa Nacional de Hanseníase do Ministério da Saúde. O plano abrange todos os estados brasileiros onde amostras de biópsia são coletadas, a partir de casos primários e de retratamento, conforme indicado pela OMS. Também buscamos investigar possíveis características clínicas relacionadas à RAM.

## **Métodos**

### Desenho, população e fonte de dados do estudo

Trata-se de um estudo transversal nacional de todos os casos de hanseníase que coletou materiais biológicos para a investigação da RAM no Brasil. Os pacientes foram classificados, principalmente, como novos casos de hanseníase e aqueles que precisavam ser retratados. Foram registradas e classificadas as principais situações que requerem retratamento da seguinte forma: 1. suspeita de falha terapêutica: pacientes que, ao final do primeiro tratamento adequado de hanseníase, ainda

apresentam sinais de atividade da doença, como reações de hanseníase intratáveis e formas anérgicas de hanseníase; e 2. Recidiva: pacientes que desenvolveram atividade da doença muito tempo após o primeiro tratamento. Os critérios de inclusão para a investigação da RAM no Brasil se constituíram de pacientes encaminhados a centros sentinelas, classificados como novos casos multibacilares com índice baciloscópico (IB) maior ou igual a 2+. Além disso, casos de hanseníase de recidiva e casos classificados como suspeita de falha terapêutica foram investigados sem qualquer restrição relacionada ao IB (14).

Os dados demográficos, clínicos e laboratoriais dos casos de hanseníase investigados com relação à RAM foram obtidos nas bases de dados do Sistema de Formulários Eletrônicos (FORMSUS) de 1º de outubro de 2018 a 30 de setembro de 2020, no sistema do Plano de Vigilância. Também foram coletadas informações adicionais do tratamento anterior e atual de pacientes classificados como recidiva e suspeita de falha terapêutica do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), de 2001 a 2020. Ambos são sistemas do Ministério da Saúde. Foram excluídos pacientes sem resultados laboratoriais da investigação molecular. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde da Universidade de Brasília (nº 4.391.397). O consentimento informado do paciente foi dispensado após aprovação ética, pois os dados relevantes foram incluídos no sistema nacional de vigilância.

### Detecção de RAM

A detecção da RAM foi realizada em três laboratórios de referência (Fundação Alfredo da Matta, Instituto Lauro Souza Lima e Fundação Oswaldo Cruz), que padronizaram a técnica molecular de acordo com as diretrizes da OMS (15,16). A técnica utilizada é um teste molecular de reação em cadeia de polimerase de sequenciamento direto (PCR) baseado em DNA para detectar mutações ou Polimorfismos de Nucleotídeo Único que têm sido associados à resistência do *M. leprae* a drogas (17). Os laboratórios realizaram a PCR para amplificação de fragmentos de DNA de *M. leprae* isolados da biópsia da pele do paciente. Em seguida, o sequenciamento genético (sequenciamento PCR-DNA) foi usado para identificar mutações ou Polimorfismos de Nucleotídeo Único presentes nas regiões determinantes de resistência à droga do gene *folP1* para dapsona, gene *rpoB* para rifampicina e gene *gyrA* para ofloxacino (16).

Amostras de biópsia da pele foram obtidas a partir da borda de uma lesão cutânea. A coleta de material biológico de novos pacientes multibacilares e recidiva foi realizada no momento do diagnóstico (14). As regiões-alvo dos genes *foIP1* (Gene ID: 908646), *rpoB* (Gene ID: 910599) e *gyrA* (Gene ID: 908154), que estão disponíveis sob a adesão do GenBank nº NC002677 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>), foram utilizadas como padrões. As sequências foram alinhadas usando MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis versão 7.0 para maiores conjuntos de dados (Kumar, Stecher e Tamura 2015).

### Análise de dados

A proporção de casos de hanseníase resistentes entre os casos de hanseníase investigados foi calculada conforme recomendado pela OMS (18). Para identificar fatores associados à presença de RAM, foi realizada uma análise bivariada utilizando-se o teste qui-quadrado de Pearson ou o teste exato de Fischer para variáveis categóricas (sexo, região, caso, forma clínica e reação). As variáveis numéricas (idade e IB) foram comparadas utilizando-se o teste de Mann-Whitney U. Variáveis que poderiam influenciar significativamente a ocorrência de RAM foram selecionadas por um especialista em hanseníase (GC) com base em critérios clínicos e foram inseridas em um modelo de regressão logística multivariada. Um ponto de corte de 50 anos foi considerado para a idade com base no valor médio encontrado para os pacientes com hanseníase. Análises de subgrupos também foram utilizadas para explorar as características de novos casos de hanseníase, casos de hanseníase de recidiva e casos suspeitos de falha terapêutica. As associações são expressas como odds ratios (ORs) com intervalos de confiança de 95% (IC) na análise bivariada, e ORs ajustados (AORs) na análise multivariada para reduzir os valores de confusão e  $p$  correspondentes. As perdas foram ignoradas, e os valores perdidos resultaram na exclusão do caso na análise multivariada.

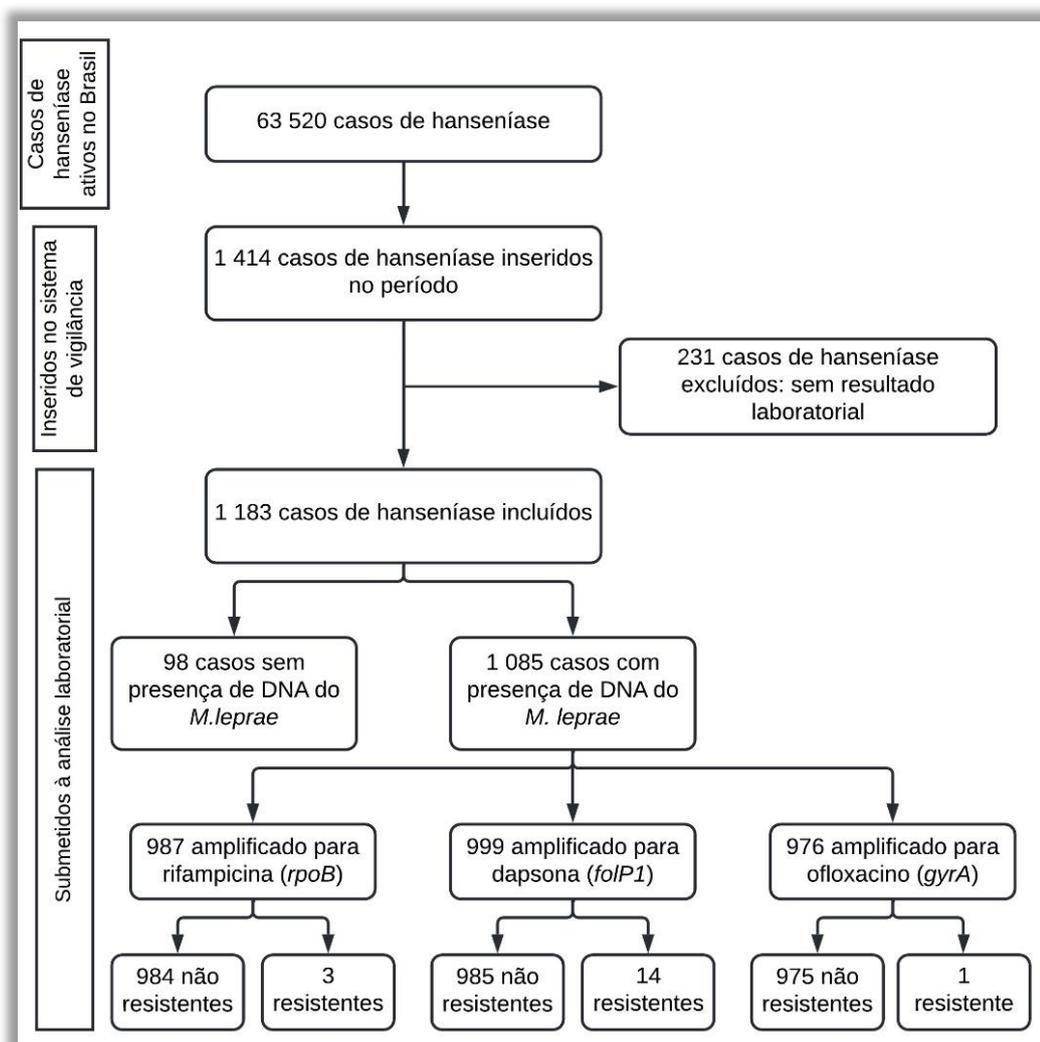
O software Rstudio versão 1.2.1335 (Rstudio Team, Boston, EUA) foi utilizado para análise estatística, e o QGIS Geographic Information System (Open-Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>" versão 2.18) foi usado para a elaboração do mapa.

## Resultados

### Características dos pacientes investigados

De outubro de 2018 a setembro de 2020, foram registrados, no Brasil, 63.520 pacientes ativos de hanseníase e isolados de 1.414 (2,23%) casos de hanseníase investigados para a RAM. Destes, 1.183 (83,66%) foram incluídos neste estudo, e 16 (1,35%) dos casos apresentaram RAM (Figura 1). Na análise demográfica, houve predomínio de 860 homens (72,69%), com relação sexo feminino/masculino de 1:3. 887 (74,98%) pacientes usavam PQT, e 421 (35,59%) apresentaram estados reacionários ativos durante a investigação da RAM. As características demográficas e clínicas dos pacientes com hanseníase estão detalhadas na tabela 1. A investigação foi realizada em 26 estados brasileiros, entre os quais, três estados relataram mais de 100 casos investigados. Os casos de hanseníase resistentes foram diagnosticados em sete estados, com maior número de diagnósticos em três deles: Pará (4), Mato Grosso (4) e São Paulo (4) (Figura 2).

Na análise do subgrupo, os isolados dos pacientes classificados por suspeita de falência terapêutica foram os mais investigados, com 534 (45,14%) dos pacientes nesse grupo; o tempo médio de tratamento no momento da investigação foi de 12 meses; e o índice baciloscópio positivo médio (IB) foi de 2.80+. Novos casos multibacilares foram o segundo subgrupo mais investigado, com 344 (29,08%) pacientes, dos quais, 283 (82,27%) apresentaram IB positivo, com média de 3.60+. Finalmente, entre os 305 (25,78%) casos de recidiva investigados, 230 (75,41%) tinham informações sobre a data do tratamento anterior, com tempo médio de 12 anos entre o último tratamento e o tratamento atual, e a média positiva do IB foi de 2.80+. Dos 33 casos paucibacilares investigados pela RAM, 24 (72,7%) apresentaram resultado PCR positivo, com amplificação de pelo menos um dos três genes avaliados, e, destes, 14 (58,33%) foram clinicamente tuberculoides, 10 (41,66%) foram classificados como recidiva e 9 (37,50%) como suspeita de falha terapêutica.

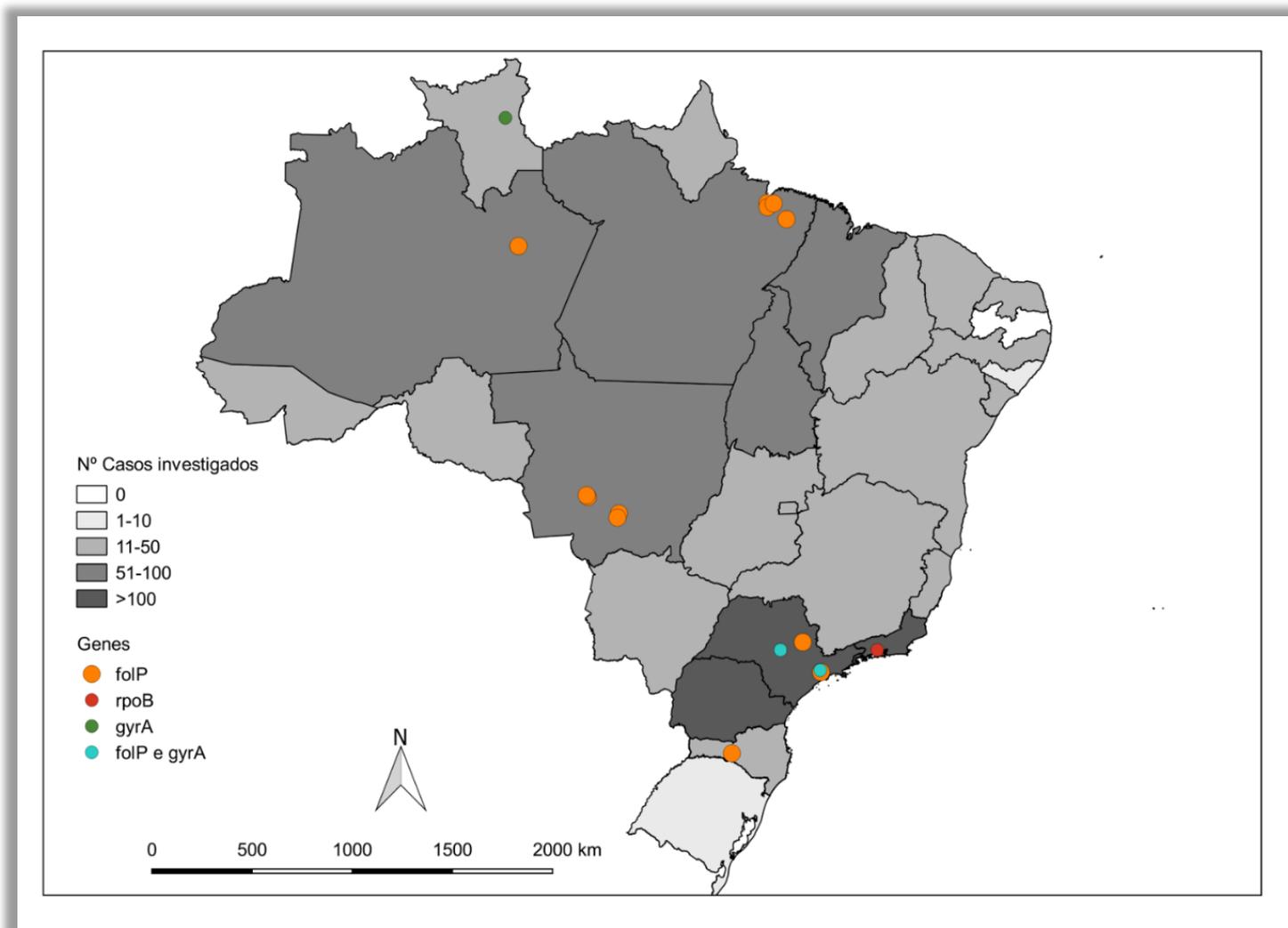


**Figura 1** - Fluxograma dos casos de hanseníase investigados para RAM no Brasil entre outubro de 2018 e setembro de 2020.

**Tabela 1** – Características de pacientes com hanseníase investigados para RAM de outubro de 2018 a setembro de 2020, Brasil

Variável	Total (n=1183)	Novo caso (n=344)	Recidiva (n=305)	Suspeita de falha no tratamento (n=534)
Idade, anos, mediana (IQR)	47 (37-49)	48 (35-49)	50 (39-61)	46 (37-59)
Sexo, masculino, n (%)	860 (72,7)	241 (70,1)	217 (71,1)	402 (75,3)
<b>Regiões</b>				
Norte, n (%)	309 (26,1)	79 (23,0)	79 (25,9)	151 (28,3)
Nordeste, n (%)	192 (16,2)	65 (18,9)	35 (11,5)	92 (17,2)
Sudeste, n (%)	407 (34,4)	137 (39,8)	125 (41,0)	145 (27,1)
Sul, n (%)	138 (11,7)	31 (9,0)	46 (15,1)	61 (11,4)
Centro-Oeste, n (%)	137 (11,6)	32 (9,3)	20 (6,5)	85 (16,0)
Forma clínica, WHO-multibacilar, n (%)	1017 (86,0)	223 (64,8)	278 (91,1)	516 (96,6)
Reação, sim, n (%)	421 (35,6)	90 (26,2)	102 (33,4)	229 (42,9)
Regime de tratamento, PQT-OMS, n (%)	887 (75,0)	220 (64,0)	260 (85,2)	407 (76,2)
Presença de DNA <i>M. leprae</i> , sim, n (%)	1085 (91,7)	321 (93,3)	273 (89,5)	491 (92,0)
Índice baciloscópico, mediana (IQR)	3.00 (2.00-4.25)	3.50 (2.25-4.75)	2.00 (0.66-3.95)	3.00 (1.75-4.00)

Abreviaturas: PQT: poliquimioterapia; OMS: Organização Mundial da Saúde; Presença de DNA *M. leprae* detectado por PCR; IQR: intervalo interquartil



**Figura 2** - Mapa das unidades federativas brasileiras que investigaram casos de hanseníase para RAM e amostras com resistência às drogas entre outubro de 2018 e setembro de 2020.

### Achados e características dos pacientes com infecção resistente

Entre os 1.085 casos positivos para a presença de DNA do *M. leprae*, a amplificação foi bem sucedida para o *rpoB* em 987 (90,96%) amostras, para *folP1* em 999 (92,07%) amostras e para *gyrA* em 976 (89,95%) amostras. A proporção de cepas com resistência à dapsona foi de 1,2%, representando 12 casos. Outros dois casos (0,2%) tinham concomitantemente resistência à rifampicina e à dapsona. Também foi identificado um caso de resistência isolada à rifampicina e um caso de resistência isolada ao ofloxacino (0,1% cada).

A Tabela 2 mostra as características de cada cepa resistente. As cepas resistentes de *M. leprae* foram mais frequentemente encontradas em pacientes com recidiva de hanseníase. Nesse subgrupo, a frequência de resistência à rifampicina foi 1/273 (0,36%), a resistência à dapsona 5/273 (1,83%), resistência ao ofloxacino de 1/273 (0,36%) e de resistência dupla (dapsona e rifampicina) foi 1/273 (0,36%). O tempo médio entre cura inicial e recidiva em pacientes com RAM foi de 8,5 anos. Entre os oito casos resistentes à recidiva, quatro pacientes apresentaram irregularidade no tratamento, dois pacientes foram perdidos no seguimento anterior e dois pacientes possivelmente receberam tratamento paucibacilar inadequado.

A RAM foi detectada em sete pacientes que estão sendo tratados por suspeita de falência terapêutica. Destes, 6/491 (1,22%) apresentaram resistência à dapsona e 1/491 (0,20%) tinham resistência dupla (dapsona e rifampicina). Todos esses pacientes estavam em seu segundo ciclo de tratamento. Entre os novos casos, apenas 1/321 (0,31%) apresentou resistência isolada à dapsona (Tabela 2).

### Análise bivariada e multivariada

Na análise do subgrupo, os pacientes com recidiva de hanseníase apresentaram maior proporção de casos resistentes do que pacientes com suspeita de falha no tratamento e novos casos multibacilares, com OR de 3.03 (IC95% 1.13-8.16;  $p = 0.043$ ); no entanto, na análise multivariada, essa associação não foi confirmada: OR=8.12 (IC95% 1.35-154.86;  $p = 0.054$ ). Não foi observada outra associação significativa (Tabela 3).

**Tabela 2 – Características dos casos de hanseníase com resistência antimicrobiana de outubro de 2018 a setembro de 2020, Brasil**

Nº	Caso	Resistência <sup>a</sup>	Genótipo	Região	Idade	Sexo	CO	IB	Tratamento	Reação	Recidiva			Suspeita de falência	
											Tempo de recidiva (anos)	Tratamento anterior/Nº Doses	Resultado tratamento anterior	Entrada /Ano	Tratamento Atual/ Nº Doses
1	Recidiva	Rifampicina + Dapsona	<i>RpoB</i> - TCG 456 TTG (Ser-Leu) <i>Folp1</i> - CCC 55 CGC (Pro-Arg)	Sudeste	61	F	MB	S/Info	Substitutivo	S/Info	S/Info	PQT-MB Irregular/9	Abandono	-	-
2	Recidiva	Dapsona	<i>Folp1</i> - CCC 55 CGC (Pro-Arg)	Sudeste	53	F	MB	0,0	PQT	Não	7	PQT-PB Regular/6	Cura	-	-
3	Recidiva	Dapsona	<i>Folp1</i> - CCC 55 CGC (Pro-Arg)	Norte	28	F	MB	4,0	PQT	Sim	S/Info	PQT-MB Irregular/8	Abandono	-	-
4	Recidiva	Dapsona	<i>Folp1</i> - CCC 55 CGC (Pro-Arg)	Centro-oeste	42	M	MB	S/Info	PQT	Não	12	PQT-MB Regular/12	Cura	-	-
5	Recidiva	Dapsona	<i>Folp1</i> - ACC 53 GCC (Thr-Ala)	Sul	80	M	MB	S/Info	PQT	Não	6	PQT-MB Regular/24	Cura	-	-
6	Recidiva	Rifampicina	<i>RpoB</i> - TCG 456 ATG (Ser-Met)	Sudeste	24	M	MB	2,75	PQT	Não	9	PQT-PB Irregular/6	Cura	-	-
7	Recidiva	Dapsona	<i>Folp1</i> - ACC 53 ATC (Tre-Ile)	Norte	80	F	MB	4,0	PQT	S/Info	S/Info	S.info	S.info	-	-
8	Recidiva	Ofloxacino	<i>GyrA</i> - GCA 91 GTA (Ala-Val)	Norte	37	M	MB	3,25	PQT	Sim	S/Info	PQT-MB Irregular/12	Cura	-	-
9	Suspeita de Falência	de Rifampicina + Dapsona	<i>RpoB</i> - TCG 456 TTG (Ser-Leu) <i>Folp1</i> - CCC 55 CGC (Pro-Arg)	Sudeste	36	M	MB	S/Info	PQT	Não	-	-	-	Caso novo/ 2018	PQT-MB/ 17
10	Suspeita de Falência	de Dapsona	<i>Folp1</i> - CCC 55 CGC (Pro-Arg)	Centro-oeste	51	F	MB	S/Info	PQT	Não	-	-	-	Caso novo/ 2018	PQT-MB/ 17
11	Suspeita de Falência	de Dapsona	<i>Folp1</i> - CCC 55 CGC (Pro-Arg)	Centro-oeste	28	M	MB	S/Info	PQT	Sim	-	-	-	Reingresso/ 2019	PQT-MB/ 15
12	Suspeita de Falência	de Dapsona	<i>Folp1</i> - ACC 53 GCC (Thr-Ala)	Centro-oeste	51	M	MB	1,0	Substitutivo	Sim	-	-	-	Caso novo/ 2015	PQT-MB/ 24
13	Suspeita de Falência	de Dapsona	<i>Folp1</i> - CCC 55 CGC (Pro-Arg)	Norte	75	F	MB	4,0	PQT	Não	-	-	-	Reingresso/ 2019	PQT-MB/ 17
14	Suspeita de Falência	de Dapsona	<i>Folp1</i> - CCC 55 CGC (Pro-Arg)	Norte	24	F	MB	4,0	Substitutivo	Não	-	-	-	Caso novo/ 2017	PQT-MB/ S.info
15	Suspeita de Falência	de Dapsona	<i>Folp1</i> - CCC 55 CGC (Pro-Arg)	Norte	44	F	MB	3,3	PQT	Sim	-	-	-	Caso novo/ 2017	PQT-MB/ S.info
16	Caso Novo	Dapsona	<i>Folp1</i> - CCC 55 CGC (Pro-Arg)	Sudeste	59	M	MB	2,0	PQT	Sim	-	-	-	-	-

Abreviaturas: M: Masculino; F: Feminino; CO: Classificação Operacional; MB: Multibacilar; IB: Índice Baciloscópico; S/info: Sem informação  
PQT: Poliquimioterapia; Substitutivo: Esquemas terapêuticos com minociclina, ofloxacino e claritomicina

<sup>a</sup>Resistência inferida a partir de mutações em regiões determinantes da resistência às drogas que comprovadamente causam resistência

**Tabela 3** – Características demográficas e clínicas dos pacientes com hanseníase e resultados das análises univariadas e multivariadas dos fatores de risco

Variável	n*	Resistente	Não resistente	OR (IC 95%)	p valor	OR Ajustado (IC 95%)	p valor
Idade (anos), n (%)							
Mais de 50 **	462	8 (1,7)	454 (98,3)	0.74 (0.28-1.98) <sup>c</sup>	0.726	0.55 (0.08-3.32)	0.525
50 ou menos de 50	623	8 (1,3)	615 (98,7)	-			
Sexo, n (%)							
Feminino	286	8 (2,79)	278 (97,21)	2.85 (1.06-7.65) <sup>c</sup>	0.060	2.21 (0.71-6.50)	0.147
Masculino	799	8 (1,00)	791 (99,00)	-		-	-
Região, n (%)							
Norte	282	6 (2,13)	276 (97,87)	1.72 (0.62-4.79) <sup>a,c</sup>	0.441		
Nordeste	166	0 (0,00)	166 (100,00)	-	1.000		
Sudeste	368	5 (1,36)	363 (98,64)	0.88 (0.30-2.56) <sup>a,f</sup>	1.000	-	-
Sul	135	1 (0,74)	134 (99,26)	0.47 (0.06-3.55) <sup>a,f</sup>	0.708		
Centro-Oeste	134	4 (2,99)	130 (97,01)	2.41 (0.77-7.58) <sup>a,f</sup>	0.124		
Caso, n (%)							
Recidiva	273	8 (2,93)	265 (97,07)	3.03 (1.13-8.16) <sup>b,c</sup>	0.043	8.12 (1.35-154.86)	0.054
Suspeito de falência terapêutica	491	7 (1,43)	484 (98,57)	0.94 (0.35-2.54) <sup>b,c</sup>	1.000	4.86 (0.84-91.71)	0.141
Caso novo	321	1 (0,31)	320 (99,69)	0.16 (0.02-1.19) <sup>b,f</sup>	0.049	-	-
Forma Clínica, OMS, n (%)							
Multibacilar	942	16 (1,70)	926 (98,30)	-	1.000	-	-
Paucibacilar	24	0 (0,00)	24 (100,00)				
Reação, n (%)							
Sim	389	6 (1,54)	383 (98,46)	1.11 (0.38-3.24) <sup>c</sup>	1.000	0.93 (0.30-2.74)	0.899
Não	577	8 (1,39)	569 (98,61)	-		-	-

\* Análise realizada somente com pacientes com presença de DNA de *M. leprae* detectado por PCR. Os dados são expressos em frequência absoluta (n) e porcentagem (%) com p valor para variáveis categóricas: teste qui-quadrado (c) ou teste exato de Fisher (f) e para variáveis numéricas: Mann-Whitney U. \*\* Corte de 50 anos. As variáveis com baixa variabilidade foram retiradas da análise multivariada. <sup>a</sup> Comparado com todos os outros no grupo; <sup>b</sup> Comparado com todos os outros no grupo  
Abreviação: OMS: Organização Mundial da Saúde

## Discussão

As estratégias indicadas pela OMS para garantir o sucesso dos esquemas terapêuticos para a hanseníase incluem a detecção e o monitoramento precoce da RAM (19). O presente estudo mostra baixa frequência de RAM, especialmente para rifampicina, a droga primária na PQT-OMS. Além disso, não identificamos nenhuma relação significativa entre características clínicas e a ocorrência de RAM. Este é o primeiro estudo realizado no Brasil que analisou dados nacionais e um grande número de amostras. Os dados atuais estão em consonância com estudos realizados há dez anos, indicando baixas taxas de resistência à rifampicina (11,12).

Em nosso estudo, a RAM foi mais prevalente em casos de recidiva, o que também tem sido observado em outros países (20-22). No entanto, a frequência de RAM nesse subgrupo foi menor do que a relatada pela rede de vigilância da OMS entre 2010 e 2015, sendo 10% para rifampicina, 13% para dapsona e 2% para ofloxacino entre os 254 casos investigados no Brasil (10). A frequência de RAM também foi menor do que nos estudos de Rocha et al. (11), com 1,08% de resistência à rifampicina e a 3,26% de taxa de resistência dupla; e de Contreras et al. (12), com uma taxa de 2,5% de resistência à rifampicina, realizada no Brasil. Essas diferenças podem ser explicadas, principalmente, por diferentes períodos de estudo, áreas de cobertura, tamanhos amostrais e critérios de seleção. Pequenas amostras podem resultar em tamanhos de efeito superestimados. No entanto, a vigilância da RAM nesse subgrupo é importante, pois a recorrência, devido à hanseníase resistente a antimicrobianos, pode manter uma frequência aumentada de resistência primária.

Um achado importante é o número de casos de hanseníase com suspeita de falha terapêutica investigada para RAM. Curiosamente, a frequência de RAM nesse subgrupo foi a segunda mais alta encontrada. O conceito de falha terapêutica na hanseníase vem sendo discutido no Brasil há anos. Devido ao tempo de replicação de *M. leprae*, é provável que sejam casos de resistência primária e, principalmente, devido à dapsona, uma vez que, independentemente da discussão na década de 1980, parece que cepas resistentes à dapsona podem sobreviver. Tal achado indica que um esquema PQT melhorado, substituindo a dapsona por minociclina, por exemplo, poderia ser usado.

Como esperado, a resistência isolada à dapsona foi o tipo de resistência mais frequentemente observado. Esse resultado foi semelhante aos achados na Malásia (23), França (6) e Costa do Marfim (24), mas diverge dos achados na China (25) e na

Índia (21), onde a resistência à rifampicina foi mais frequente. A frequência de resistência isolada à rifampicina e ao ofloxacino foi considerada muito baixa, em contraste com os resultados relatados na Índia (7). No entanto, nossos achados foram semelhantes aos de estudos de Wahyuni et al. (22) e Chen et al. (5). Nossos resultados apoiam a eficácia das ações de controle da doença de acordo com o regime da PQT-OMS (8). Encontramos dois casos de resistência dupla (rifampicina + dapsona). Esse número foi inferior aos 12 relatados no estudo realizado por Rosa et al. (26) em uma área de aglomerado situada em estado hiperendêmico no Norte do Brasil. Esses dados indicam uma peculiaridade da população de uma ex-colônia que não foi observada no resto do país.

A frequência de resistência primária não foi elevada neste estudo. Esse resultado difere dos achados de pesquisas realizadas na região Norte do Brasil, em Manaus (12), que relataram uma frequência primária de resistência de 2,30% (3/126), e no Pará (26), que relataram uma frequência primária de resistência de 31,50% (6/19). O programa Nacional de Vigilância da RAM tem como objetivo contribuir com informações para apoiar o estabelecimento de diretrizes nacionais (14,27). Irregularidade no tratamento, perda de seguimento, possíveis regimes de tratamento inadequados e períodos de tratamento prolongados foram características de casos resistentes nos subgrupos de recidiva e falha terapêutica. Notavelmente, do total de casos notificados no país durante o período de estudo, apenas 1% representou novos casos multibacilares, e 9,60% foram casos de recidiva.

Na análise do genótipo, a mutação mais frequente identificada em casos de hanseníase resistentes foi no códon 55 (Pro-Arg), que confere resistência à dapsona. Essa mutação também foi relatada como a mutação mais prevalente em estudos anteriores (11,26). Esse resultado sugere que, provavelmente, há persistência desse genótipo durante a transmissão da doença no Brasil, demonstrando a necessidade de monitorar mutações de resistência à dapsona e realizar investigações mais consistentes dos casos primários e casos índices.

O modelo de análise multivariada utilizado mostrou que nenhuma das variáveis demográficas e clínicas influenciou a ocorrência de resistência a medicamentos. Os mesmos resultados foram encontrados em estudos na Colômbia (28), China (29) e Índia (30). Isso pode indicar que a RAM está mais relacionada às características inerentes ao bacilo e que, provavelmente, é influenciada por fatores como o uso irregular de antimicrobianos (31). A recidiva da hanseníase foi associada à detecção

de resistência na análise multivariada, mas o intervalo de confiança foi consideravelmente amplo. No entanto, esses pacientes devem ser constantemente monitorados para a RAM.

Uma limitação deste estudo é a má qualidade de alguns dos registros no sistema de vigilância; alguns deles apresentaram alta proporção de campos em branco e/ou incompletos para variáveis importantes. A falta de completude também pode dificultar a orientação de estratégias nacionais baseadas no cenário real da RAM. A redução do poder estatístico estava relacionada a poucos casos de resistência em *M. leprae*. Também foram identificadas outras limitações importantes, como a ausência de dados relativos ao tratamento prévio ou concomitante para outras infecções crônicas, o curto período de funcionamento do Plano Nacional de Vigilância e o fato de que diferentes mecanismos de resistência relacionados a outros genes ainda não foram identificados (32). Outros estudos são necessários sobre a RAM na hanseníase, principalmente estudos prospectivos capazes de analisar associações de risco e relatar outros tipos de mutações.

Em conclusão, este estudo revelou um percentual muito baixo de RAM em hanseníase no Brasil e, conseqüentemente, ressalta que o regime padrão da PQT-OMS é eficaz na prevenção de casos de hanseníase resistentes. Além disso, os resultados sustentam que o ofloxacino é a melhor escolha para substituir a rifampicina em casos de intolerância e resistência no Brasil.

## Referências

1. Han XY, Sizer KC, Velarde-Félix JS, Frias-Castro LO, Vargas-Ocampo F. The leprosy agents *Mycobacterium lepromatosis* and *Mycobacterium leprae* in Mexico. *International journal of dermatology* [Internet]. 2012;51(8):952–9.
2. World Health Organization. World Health Organization. Global leprosy (Hansen disease) update, 2019: time to step-up prevention initiatives [Internet]. Vol. 95, *Weekly epidemiological record*. Geneva; 2020.
3. World Health Organization. Guidelines for global surveillance of drug resistance in Leprosy [Internet]. New Delhi: WHO Regional Office for South-East Asia; 2009
4. Matsuoka M. Drug resistance in leprosy. *Japanese Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 2010;63(1):1–7.
5. Chen X, He J, Liu J, You Y, Yuan L, Wen Y. Nested PCR and the TaqMan SNP Genotyping Assay enhanced the sensitivity of drug resistance testing of *Mycobacterium leprae* using clinical specimens of leprosy patients. *PLoS neglected tropical diseases* [Internet]. 2019;13(12):e0007946.
6. Chauffour A, Lecorche E, Reibel F, Mougari F, Raskine L, Aubry A, et al. Prospective study on antimicrobial resistance in leprosy cases diagnosed in France from 2001 to 2015. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2018; 24(11):1213.e5-1213.e8.
7. Lavania M, Singh I, Turankar R, Ahuja M, Pathak V, Sengupta U, et al. Molecular detection of multidrug-resistant *Mycobacterium leprae* from Indian leprosy patients. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* [Internet]. 2018; 12:214–9.
8. Nery JAC, Sales AM, Hacker MAVB, Moraes MO, Maia RC, Sarno EN, et al. Low rate of relapse after twelve-dose multidrug therapy for hansen's disease: A 20-year cohort study in a brazilian reference center. *PLOS Neglected Tropical Diseases* [Internet]. 2021; 15(5):e0009382.
9. Opromolla DVA. Terapêutica da hanseníase. *Medicina, Ribeirão Preto* [Internet]. 1997; 30(3):345–50.
10. Cambau E, Saunderson P, Matsuoka M, Cole ST, Kai M, Suffys P, et al. Antimicrobial resistance in leprosy: results of the first prospective open survey conducted by a WHO surveillance network for the period 2009–15. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2018; 24(12):1305–10.
11. Rocha A, Cunha M da GS, Diniz L, Salgado C, Aires MA, Nery JA, et al. Drug and multidrug resistance among *Mycobacterium leprae* isolates from Brazilian relapsed leprosy patients. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2012; 50(6):1912–7.
12. Contreras Mejía MDC, dos Santos MP, da Silva GA v, da Motta Passos I, Naveca FG, Cunha MDGS, et al. Identification of primary drug resistance to rifampin in

- mycobacterium leprae strains from leprosy patients in Amazonas State, Brazil. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2014; 52(12):4359–60.
13. Damasco M, Talhari S, Viana SM, Signorelli M, Saad MH, Andrade LM. Secondary dapson-resistant leprosy in Brazil: a preliminary report. *Leprosy review* [Internet]. 1986; 57(1):5–8.
  14. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Nota Técnica CGDE/DCCI/SVS/MS no 8, de 07 abril de 2020. Vigilância da resistência antimicrobiana em hanseníase. Brasília: Ministério da Saúde; 2020.
  15. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Nota Informativa CGHDE/ CGLAB/DEVIT/SVS/MS nº 31, de 31 agosto de 2018. Implantação do protocolo de Investigação da Resistência Medicamentosa em Hanseníase e estabelecimento do fluxo de envio de amostra. [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2018.
  16. World Health Organization. A guide for surveillance of antimicrobial resistance in leprosy [Internet]. New Delhi: World Health Organization, Regional Office for South-East Asia; 2017.
  17. Sekar B, Arunagiri K, Kumar BN, Narayanan S, Menaka K, Oommen PK. Detection of mutations in folP1, rpoB and gyrA genes of *M. leprae* by PCR- direct sequencing - A rapid tool for screening drug resistance in leprosy. *Leprosy Review* [Internet]. 2011; 82(1):36–45.
  18. World Health Organization. Global Leprosy Strategy 2016–2020. Accelerating towards a leprosy-free world. Monitoring and Evaluation Guide [Internet]. New Delhi: WHO. Regional Office for South-East Asia; 2017.
  19. World Health Organization. Global Leprosy Strategy 2016-2020: Accelerating towards a leprosy-free world [Internet]. New Delhi: WHO Regional Office for South-East Asia; 2016.
  20. Beltran-Alzate C, Lopez Diaz F, Romero-Montoya M, Sakamuri R, Li W, Kimura M, et al. Leprosy Drug Resistance Surveillance in Colombia: The Experience of a Sentinel Country. *PLoS Neglected Tropical Diseases* [Internet]. 2016;10(10):e0005041.
  21. Singh SK, Kumar A, Nath G, Singh TB, Mishra MN. Resistance to anti leprosy drugs in multi-bacillary leprosy: A cross sectional study from a tertiary care centre in eastern Uttar Pradesh, India. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology* [Internet]. 2018;84(3):275–9.
  22. Wahyuni R, Adriaty D, Iswahyudi I, Rosita C, Agusni I, Izumi S. Profile of Mutation on Drug Resistance Mycobacterium leprae Isolates in Indonesia Collected During 2003-2011. *Microbiology Indonesia* [Internet]. 2012 Sep; 6(3):135–8.

23. Dalawi I, Tang MM, Osman AS, Ismail M, Abu Bakar RS, Dony JF, et al. Drug resistance pattern of *Mycobacterium leprae* from mouse footpad cultivation between 1997 to 2013 in Malaysia. *Leprosy Review* [Internet]. 2017; 88(4):463–77.
24. Coulibaly N'Golo D, Roger D, Kakou-N G, Solange, Henri K, Christiane A, et al. Drugs Susceptibility Testing in Leprosy Patients from Côte d'Ivoire Reveals Multidrug Resistance Combination Cases to Dapsone, Rifampicin and Ofloxacin. *American Journal of Microbiological Research* [Internet]. 2020; 8(4):160–3.
25. Liu D, Zhang Q, Sun Y, Wang C, Zhang Y, Fu X, et al. Drug resistance in *Mycobacterium leprae* from patients with leprosy in China. *Clinical and Experimental Dermatology* [Internet]. 2015;40(8):908–11.
26. Rosa PS, D'Espindula HRS, Melo ACL, Fontes ANB, Finardi AJ, Belone AFF, et al. Emergence and Transmission of Drug-Multidrug-resistant *Mycobacterium leprae* in a Former Leprosy Colony in the Brazilian Amazon. *Clinical infectious diseases* [Internet]. 2020 May; 70(10):2054–61.
27. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Nota Informativa CGHDE/ CGLAB/DEVIT/SVS/MS nº 31, de 31 agosto de 2018. Implantação do protocolo de Investigação da Resistência Medicamentosa em Hanseníase e estabelecimento do fluxo de envio de amostra. [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2018.
28. Guerrero MI, Colorado CL, Torres JF, León CI, M.I. G, C.L. C, et al. Is drug-resistant *Mycobacterium leprae* a real cause for concern? First approach to molecular monitoring of multibacillary Colombian patients with and without previous leprosy treatment. *Biomédica: revista del Instituto Nacional de Salud* [Internet]. 2014; 34(SUPPL.1):137–47.
29. Chokkakula S, Chen Z, Wang L, Jiang H, Chen Y, Shi Y, et al. Molecular surveillance of antimicrobial resistance and transmission pattern of *Mycobacterium leprae* in Chinese leprosy patients. *Emerging microbes & infections* [Internet]. 2019; 8(1):1479–89.
30. Mahajan NP, Lavania M, Singh I, Nashi S, Preethish-Kumar V, Vengalil S, et al. Evidence for *Mycobacterium leprae* Drug Resistance in a Large Cohort of Leprous Neuropathy Patients from India. *The American journal of tropical medicine and hygiene* [Internet]. 2020; 102(3):547–52.
31. Avanzi C, Maia RC, Benjak A, Nery JA, Sales AM, Miranda A, et al. Emergence of *Mycobacterium leprae* Rifampin Resistance Evaluated by Whole-Genome Sequencing after 48 Years of Irregular Treatment. *Antimicrobial agents and chemotherapy* [Internet]. 2020; 64(7).
32. Andrade ESN, Brandão JG, da Silva JS, Kurizky PS, Rosa PS, de Araújo WN, et al. A systematic review and meta-analysis of studies on the diagnostic accuracy and screening of tests to detect antimicrobial resistance in leprosy. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* [Internet]. 2021; 100(1):115325.

**Tabela suplementar 1** – Número de casos de hanseníase por grupo de investigação para RAM e casos de hanseníase resistentes. Brasil, Regiões e Unidades Federativas no período de outubro de 2018 a setembro de 2020

<b>UF</b>	<b>Caso Novo multibacilar</b>	<b>Recidiva</b>	<b>Suspeita de falência</b>	<b>Total</b>	<b>Resistentes</b>
<b>Brasil</b>	<b>344</b>	<b>305</b>	<b>534</b>	<b>1183</b>	<b>16</b>
Região Norte	79	79	151	309	6
AC	15	2	4	21	0
AM	22	18	25	65	1
AP	9	8	7	24	0
PA	18	17	55	90	4
RO	5	20	12	37	0
RR	7	9	2	18	1
TO	3	5	46	54	0
Região Nordeste	65	35	92	192	0
AL	0	0	10	10	0
BA	3	6	11	20	0
CE	18	14	1	33	0
MA	24	4	31	59	0
PB	0	0	0	0	0
PE	1	0	11	12	0
PI	9	6	7	22	0
RN	10	4	4	18	0
SE	0	1	17	18	0
Região Sudeste	137	125	145	407	5
ES	1	16	6	23	0
MG	3	18	24	45	0
RJ	109	60	38	207	1
SP	24	31	77	132	4
Região Sul	31	46	61	138	1
PR	23	33	49	105	0
RS	0	0	6	6	0
SC	8	13	6	27	1
Região Centro Oeste	32	20	85	137	4
DF	6	7	4	17	0
GO	4	0	4	8	0
MS	2	1	14	17	0
MT	20	12	63	95	4

**Tabela suplementar 2** – Completitude das variáveis do Formsus no período de outubro de 2018 a setembro de 2020

VARIÁVEIS DO FORMSUS	COMPETITUDE (%)
Idade	100
Sexo	100
UF_Residência	100
MN_Residência	100
Região_Residência	100
Motivo_Investigação	100
Esquema_Tratamento	89
Forma_Clínica	89
Classificação Operacional	89
Reação	89
Indice_Baciloscópio	78
DNA_ <i>M. Leprae</i>	100

**Tabela suplementar 3** – Número de casos de hanseníase por grupo de investigação para RAM sem presença de DNA do *M. leprae* detectado por PCR. Brasil e Unidades Federativas, no período de outubro de 2018 a setembro de 2020

UF	Caso Novo multibacilar	Recidiva	Suspeita de falência	Total
RJ	11	11	5	27
RO	1	6	7	14
MA	2	0	7	9
AM	3	3	1	7
SE	0	1	6	7
ES	0	3	2	5
SP	0	1	4	5
AP	0	0	3	3
CE	0	3	0	3
PE	0	0	3	3
RR	2	1	0	3
SC	2	1	0	3
BA	1	0	1	2
MG	0	2	0	2
MT	0	0	2	2
AL	0	0	1	1
DF	1	0	0	1
PI	0	0	1	1
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>32</b>	<b>43</b>	<b>98</b>

## 5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

A hanseníase ainda perdura como um grande problema de saúde pública no Brasil, necessitando de ações de enfrentamento mais eficazes na vigilância da doença e na redução da transmissão do bacilo em todo nível nacional. A vigilância da resistência antimicrobiana é considerada uma estratégia importante para avaliar a eficácia terapêutica, principal arma contra a doença. O aumento no número de casos de hanseníase com bacilos resistentes às drogas da PQT gerará um grande problema com poucas possibilidades de solução terapêuticas.

Os resultados desta tese demonstraram pela primeira vez a sumarização da acurácia dos principais testes de susceptibilidade para o diagnóstico de RAM na hanseníase e as proporções de casos de hanseníase resistentes a dapsona, rifampicina e ofloxacino, descritos na literatura, provendo evidências para vigilância no Brasil.

Apesar da baixa qualidade metodológica dos estudos de acurácia inseridos na revisão sistemática, conseguiu-se concluir que a sensibilidade e a especificidade dos testes moleculares são boas para detectar resistência aos principais antimicrobianos usados no tratamento da hanseníase. Além disso, testes moleculares diferentes do PCR-*Sequencing* parecem ter a vantagem de ser mais simples, podendo ser utilizados em larga escala em uma vigilância nacional. No entanto, a maioria deles é utilizada basicamente para pesquisas, dificultando a aplicação desses testes na rotina laboratorial pela falta de kits comerciais. O único registrado no Brasil, GenoType *Leprae-DR*, parece apresentar boa aplicabilidade e fácil execução, porém, estudos mais robustos de acurácia diagnóstica e estudos econômicos são necessários para verificar a viabilidade para o uso na rotina da vigilância no país.

A grande variação entre os estudos de rastreamento impossibilitou estimar a proporção de resistência para cada droga testada e utilizada no tratamento da hanseníase. Isso aponta necessidade de padronização metodológica em futuros estudos, bem como a utilização de uma amostragem adequada o bastante a ponto de garantir um número razoável de eventos, a fim de estimar uma proporção de resistência mais próxima da população estudada.

Apesar disso, pode-se concluir que a PQT está sendo eficaz na prevenção de cepas resistentes, uma vez que os estudos de rastreamento relataram pequenas proporções de casos de hanseníase resistentes, principalmente à rifampicina e à

dapsona, após a introdução da PQT. Em virtude disso, esses resultados são importantes para ratificar que o tratamento com a PQT é a principal ação de controle da doença.

Esta tese também foi pioneira ao analisar os primeiros resultados da primeira vigilância nacional para RAM na hanseníase no mundo. O segundo estudo aqui apresentado contou com a vantagem de analisar um número maior de pacientes de hanseníase investigados para RAM, em comparação com estudos de rastreio incluídos no primeiro estudo e uma amostragem de pacientes recrutados nos serviços de rotina normal de atendimento.

Como conclusão, podemos relatar que a proporção de resistência antimicrobiana na hanseníase encontrada foi muito baixa no Brasil, principalmente a rifampicina, apesar de as metas de investigação preconizadas pelo Ministério da Saúde estarem longe de serem atingidas. Entretanto, esses primeiros resultados parecem reforçar a eficácia da PQT na prevenção da RAM relatada também no primeiro estudo.

Entretanto, apesar do número pequeno de casos resistentes é importante o acompanhamento desses casos nos centros especializados para hanseníase e o monitoramento por parte do MS. Além disso, a investigação dos contatos será uma das estratégias primordiais para a quebra da transmissão das cepas resistentes.

Quanto à pesquisa de fatores de risco, nenhuma variável demográfica e clínica incluída na análise do estudo teve associação com a resistência antimicrobiana. Esse resultado pode ser devido a limitação do tipo do dado analisado, da base amostral da rede de vigilância ou do período de tempo estudado, como também a presença de outros fatores inerentes ao bacilo. Neste contexto, estudos prospectivos são necessários, a fim de analisarem novas associações de risco.

Adicionalmente, na análise dos dados do segundo estudo desta tese, demonstrou-se que os serviços de saúde responsáveis pela investigação da RAM podem estar tendo dificuldade na classificação e na diferenciação de falha terapêutica e estado reacional, tornando isso um problema operacional da rede de vigilância. Isso porque observamos um número alto de pacientes classificados como suspeita de falência terapêutica que estavam em estado reacional no momento da coleta de material biológico ou que não apresentavam DNA do *M. leprae* na realização do PCR. O conceito e uso da classificação “falência terapêutica” ao tratamento foram implementados no Brasil em 2015 como uma tentativa de detectar precocemente

casos circulantes resistentes (180). Porém, é necessária a simplificação dos conceitos existentes hoje (recidiva, insuficiência e falência terapêutica) por parte do Ministério da Saúde, a fim de facilitar as condutas dos profissionais de saúde. Para todos esses conceitos em uso atualmente, no Brasil, a OMS classifica-os como “casos de retratamento”, e esses podem servir de ponto de partida para novas discussões no país.

Por outro lado, se de fato existir um contingente alto de casos que não respondem à PQT e que não apresentam resistência antimicrobiana, novos estudos são necessários, pois, nesse contexto, outros fatores, como estilo de vida do paciente, comorbidades e genética humana, podem estar interferindo na resposta ao esquema terapêutico. Sabe-se que a genética humana pode afetar o metabolismo das drogas (212), e que as diretrizes da hanseníase trazem a necessidade de avaliar parâmetros associados ao metabolismo das drogas da PQT para os casos de falência terapêutica (5).

Também se faz necessário estudar outras mutações no genoma do *M. leprae* ainda não correlacionadas com a RAM na hanseníase e confrontar com amostras resistentes no modelo *in vivo*, uma vez que a detecção de mutação associada à resistência é clinicamente importante, mas a inexistência de mutação nos genes-alvo não representa, obrigatoriamente, que o bacilo em questão seja sensível.

Por fim, o estudo mostrou também que a vigilância da RAM na hanseníase é imprescindível, principalmente para os pacientes de recidiva, uma vez que esse foi o grupo com maior número de casos resistentes. Sabemos que a recorrência da doença devido à RAM pode aumentar a frequência de resistência primária, principalmente em áreas mais endêmicas.

Uma limitação importante observado neste trabalho foi a amostragem utilizada, proveniente da rede de vigilância do país, que parece não ser representativa e, por conseguinte, o baixa número de resistência não pode ser extrapolado para todo país. Recomenda-se que o MS trabalhe para uma ampliação da investigação com desenhos amostrais para todas UF, de modo que se tenha dados mais representativos do país como um todo.

Em conjunto, esses resultados promoveram novas evidências e discussões para a implementação da vigilância da RAM na hanseníase no país, de modo que possam ajudar na construção e na implementação de políticas públicas voltadas para a vigilância e assistência dos pacientes de hanseníase no país.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Monot M, Honoré N, Garnier T, Zidane N, Sherafi D, Paniz-Mondolfi A, et al. Comparative genomic and phylogeographic analysis of *Mycobacterium leprae*. *Nature Genetics* [Internet]. 2009 [cited 2020 Aug 4]; 41(12):1282–9. Available from: <https://www.nature.com/articles/ng.477>
2. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Estratégia Nacional para Enfrentamento da Hanseníase 2019-2022 [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2019 [cited 2019 Apr 14]. Available from: [http://www.aids.gov.br/system/tdf/pub/2016/67207/estrategia\\_nacional\\_de\\_hanseniase\\_2019-2022\\_web.pdf?file=1&type=node&id=67207&force=1](http://www.aids.gov.br/system/tdf/pub/2016/67207/estrategia_nacional_de_hanseniase_2019-2022_web.pdf?file=1&type=node&id=67207&force=1)
3. Han XY, Seo YH, Sizer KC, Schoberle T, May GS, Spencer JS, et al. A new *Mycobacterium* species causing diffuse lepromatous leprosy. *Am J Clin Pathol* [Internet]. 2008 Dec;130(6):856–64 [cited 2020 Aug 10]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19019760/>
4. Han XY, Sizer KC, Thompson EJ, Kabanja J, Li J, Hu P, et al. Comparative sequence analysis of *Mycobacterium leprae* and the new leprosy-causing *Mycobacterium lepromatosis*. *J Bacteriol* [Internet]. 2009 Oct;191(19):6067–74 [cited 2020 Apr 4]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19633074/>
5. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Diretrizes para vigilância, atenção e eliminação da Hanseníase como problema de saúde pública [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2016 [cited 2020 Apr 14]. Available from: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2016/fevereiro/04/diretrizes-eliminacao-hanseniase-4fev16-web.pdf>
6. World Health Organization. Global Leprosy Strategy 2016-2020: Accelerating towards a leprosy-free world [Internet]. New Delhi: WHO Regional Office for South-East Asia; 2016 [cited 2020 Apr 14]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/208824>
7. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia prático sobre a hanseníase [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2017 [cited 2020 Apr 14]. 68 p. Available from: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_pratico\\_hanseniase.%0Apdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_pratico_hanseniase.%0Apdf)
8. World Health Organization. Global leprosy (Hansen disease) update, 2020: impact of COVID-19 on global leprosy control [Internet]. Vol. 96, Weekly Epidemiological Record. Geneva = Genève PP - Geneva = Genève: World Health Organization = Organisation mondiale de la Santé; 2021 [cited 2020 Feb 4]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/345048>

9. Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de Vigilância e Doenças Transmissíveis. Boletim Epidemiológico Hanseníase 2021 [Internet]. 2021 [cited 2020 Aug 4]. Available from: [https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2021/setembro/8/boletim\\_hanseniase\\_internet\\_-2.pdf](https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2021/setembro/8/boletim_hanseniase_internet_-2.pdf)
10. Nery JS, Ramond A, Pescarini JM, Alves A, Strina A, Ichihara MY, et al. Socioeconomic determinants of leprosy new case detection in the 100 Million Brazilian Cohort: a population-based linkage study. *Lancet Glob Health*. 2019 Sep;7(9):e1226–36.
11. World Health Organization. Ending the Neglect to Attain the Sustainable Development Goals: A Road Map for Neglected Tropical Diseases 2021-2030 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2020 [cited 2020 Aug 4]. p. 6–9. Available from: [https://www.who.int/neglected\\_diseases/WHONTD-roadmap-2030/en](https://www.who.int/neglected_diseases/WHONTD-roadmap-2030/en)
12. ONU (Organização das Nações Unidas). Objetivos de Desenvolvimento Sustentável até 2030 [Internet]. 2015. Available from: <https://nacoesunidas.org/conheca-os-novos-17-objetivos-de-desenvolvimento-sustentavel-da-onu/>
13. Matsuoka M. Drug resistance in leprosy. *Japanese Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 2010 [cited 2021 Feb 19];63(1):1–7. Available from: <https://www.niid.go.jp/niid/images/JJID/63/1.pdf>
14. World Health Organization. Guidelines for global surveillance of drug resistance in Leprosy [Internet]. New Delhi: WHO Regional Office for South-East Asia; 2009 [cited 2020 Apr 14]. 40 p. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205158>
15. You EY, Kang TJ, Kim SK, Lee SB, Chae GT. Mutations in genes related to drug resistance in *Mycobacterium leprae* isolates from leprosy patients in Korea. *J Infect* [Internet]. 2005 [cited 2020 Apr 9];50(1):6–11. Available from: [https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453\(04\)00065-9/fulltext](https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453(04)00065-9/fulltext)
16. Lavania M, Singh I, Turankar R, Ahuja M, Pathak V, Sengupta U, et al. Molecular detection of multidrug-resistant *Mycobacterium leprae* from Indian leprosy patients. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* [Internet]. 2018 [cited 2020 Apr 9];12:214–9. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L621032288>
17. Rocha A, Cunha M da GS, Diniz L, Salgado C, Aires MA, Nery JA, et al. Drug and multidrug resistance among *Mycobacterium leprae* isolates from Brazilian relapsed leprosy patients. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2012 [cited 2020 Apr 19];50(6):1912–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3372169/pdf/zjm1912.pdf>

18. Contreras Mejía MDC, dos Santos MP, da Silva GA v, da Motta Passos I, Naveca FG, Cunha MDGS, et al. Identification of primary drug resistance to rifampin in mycobacterium leprae strains from leprosy patients in Amazonas State, Brazil. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2014 [cited 2020 Apr 19];52(12):4359–60. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4313315/pdf/zjm4359.pdf>
19. Damasco M, Talhari S, Viana SM, Signorelli M, Saad MH, Andrade LM. Secondary dapsone-resistant leprosy in Brazil: a preliminary report. *Lepr Rev* [Internet]. 1986 [cited 2020 Apr 19];57(1):5–8. Available from: <http://leprev.ilsl.br/pdfs/1986/v57n1/pdf/v57n1a02.pdf>
20. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Nota Técnica CGDE/.DCCI/SVS/MS nº 8, de 07 abril de 2020. Vigilância da resistência antimicrobiana em hanseníase. Brasília: Ministério da Saúde; 2020.
21. Opromolla DVA. Manifestações Clínicas e reações. In: *Noções de hansenologia* [Internet]. 2000. p. 51–8 [cited 2020 Aug 4]. Available from: [http://hansen.bvs.ilsl.br/textoc/livros/OPROMOLLA\\_DILTOR\\_nocoos/PDF/manifes\\_rea.pdf](http://hansen.bvs.ilsl.br/textoc/livros/OPROMOLLA_DILTOR_nocoos/PDF/manifes_rea.pdf)
22. Opromolla DVA. Classificação. In: Opromolla DVA, editor. *Noções de hansenologia*. Bauru, São Paulo: Centro de Estudos Dr. Reynaldo Quaquiato; 2000. p. 47–9.
23. Ridley DS, Jopling WH. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases* [Internet]. 1966 [cited 2020 Aug 9];34(3):255–73. Available from: <https://www.leprosy-information.org/resource/classification-leprosy-according-immunity-five-group-system>
24. Alemu Belachew W, Naafs B. Position statement: LEPROSY: Diagnosis, treatment and follow-up. *J Eur Acad Dermatol Venereol* [Internet]. 2019 Jul;33(7):1205–13 [cited 2020 Sep 16]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30945360/>
25. Diniz LM, Moreira MV, Puppim MA, Oliveira MLWDR de. Estudo retrospectivo de recidiva da hanseníase no Estado do Espírito Santo. *Rev Soc Bras Med Trop* [Internet]. 2009 Aug [cited 2022 May 31];42(4):420–4. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822009000400012&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822009000400012&lng=pt&tlng=pt)
26. Shen J, Yan L, Sun P. Clinical features of relapse after multidrug therapy for leprosy in China. *Lepr Rev*. 2015;86(2):165–9.
27. Guerrero-Guerrero MI, Muvdi-Arenas S, León-Franco CI. Relapses in multibacillary leprosy patients: a retrospective cohort of 11 years in Colombia. *Lepr Rev*. 2012 Sep;83(3):247–60.

28. World Health Organization. Expert Committee on Leprosy: seventh report [Internet]. Geneva: World Health Organization; 1998 [cited 2020 Apr 14]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42060>
29. Moschioni C, Antunes CM de F, Grossi MAF, Lambertucci JR. Risk factors for physical disability at diagnosis of 19,283 new cases of leprosy. *Rev Soc Bras Med Trop* [Internet]. 2010 Feb [cited 2022 May 31];43(1):19–22. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822010000100005&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822010000100005&lng=en&tlng=en)
30. Barbieri RR, Manta FSN, Moreira SJM, Sales AM, Nery JAC, Nascimento LPR, et al. Quantitative polymerase chain reaction in paucibacillary leprosy diagnosis: A follow-up study. *PLoS Neglected Tropical Diseases* [Internet]. 2019 [cited 2020 Aug 19];13(3):1–12. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007147>
31. Tatipally S, Srikantam A, Kasetty S. Polymerase chain reaction (PCR) as a potential point of care laboratory test for leprosy diagnosis—a systematic review. *Tropical Medicine and Infectious Disease*. 2018;3(4).
32. Andrade A, Grossi M, Bühner-Sékula S, Antunes C. Soroprevalência do teste ML Flow em contatos de hanseníase de Minas Gerais. *Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical - Rev Soc Bras Med Trop*. 2008 Jan 1;41(Suplemento 2):56–9.
33. World Health Organization. World Health Organization. Global leprosy (Hansen disease) update, 2019: time to step-up prevention initiatives [Internet]. Vol. 95, *Weekly epidemiological record*. Geneva; 2020 [cited 2021 Feb 19]. Available from: <http://www.who.int/wer>
34. Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de Vigilância e Doenças Transmissíveis. Boletim Epidemiológico Hanseníase 2022 [Internet]. 2022 [cited 2022 feb 4]. Available from: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos/especiais/2022/boletim-epidemiologico-de-hanseniase--25-01-2022.pdf>
35. da Paz WS, Souza M do R, Tavares DDS, de Jesus AR, dos Santos AD, do Carmo RF, et al. Impact of the COVID-19 pandemic on the diagnosis of leprosy in Brazil: An ecological and population-based study. *Lancet Regional Health Americas*. 2022 May;9:100181.
36. Smith WCS, Aerts A. Role of contact tracing and prevention strategies in the interruption of leprosy transmission. Vol. 85, *Leprosy review*. England; 2014. p. 2–17.

37. Andrade V, Pereira GFM, Virmond M, Soares RG, Custodio A, Moreira T. Uma nova perspectiva para acelerar a eliminação da hanseníase no Brasil: A integração na atenção básica. *Boletim de Pneumologia Sanitária* [Internet]. 2000 [cited 2022 May 31];8(2):51–9. Available from: [http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-460X200000200007&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-460X200000200007&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)
38. Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de Vigilância e Doenças Transmissíveis. *Boletim Epidemiológico - Hanseníase 2020* [Internet]. Vol. Edição Esp. Brasília; 2020 [cited 2020 Apr 9]. Available from: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2020/boletim-epidemiologico-de-hanseniaze-2020>
39. World Health Organization. *Global Leprosy Strategy 2016–2020. Accelerating towards a leprosy-free world. Monitoring and Evaluation Guide* [Internet]. New Delhi: WHO. Regional Office for South-East Asia; 2017 [cited 2020 Apr 14]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/254907>
40. World Health Organization. *Global leprosy update, 2018: moving towards a leprosy free world* [Internet]. Vol. 35/36, Weekly epidemiological record. Geneva; 2019 [cited 2020 Mar 14]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/326775/WER9435-36-en-fr.pdf>
41. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Situação Epidemiológica - Dados e Resultados* [Internet]. [cited 2021 Apr 9]. Available from: <http://antigo.saude.gov.br/saude-de-a-z/hanseniaze>
42. Ferreira SMB, Ignotti E, Gamba MA. Fatores associados à recidiva em hanseníase em Mato Grosso. *Revista de Saúde Pública* [Internet]. 2011 Aug [cited 2022 May 31];45(4):756–64. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-89102011000400016&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102011000400016&lng=pt&tlng=pt)
43. Gonçalves FG, Belone A de FF, Rosa PS, Laporta GZ. Underlying mechanisms of leprosy recurrence in the Western Amazon: a retrospective cohort study. *BMC Infectious Diseases* [Internet]. 2019 [cited 2021 Feb 19];19(1):460. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4100-6>
44. Diório SM. Aspectos microbiológicos e molecularares do *Mycobacterium leprae*. In: Alves ED, Ferreira TL, Ferreira IN, Júnior AN, editors. *Hanseníase: avanços e desafios* [Internet]. Brasília: NESPROM/UNB; 2014 [cited 2020 Apr 9]. p. 67–80. Available from: <http://www.morhan.org.br/views/upload/hanseniazeavancoes.pdf>
45. Hunter SW, Fujiwara T, Brennan PJ. Structure and antigenicity of the major specific glycolipid antigen of *Mycobacterium leprae*. *J Biol Chem* [Internet].

- 1982;257(24):15072–8 [cited 2020 Aug 4]. Available from: [https://www.ijbc.org/article/S0021-9258\(18\)33395-7/pdf](https://www.ijbc.org/article/S0021-9258(18)33395-7/pdf)
46. Singh RK, Bhasin R, Bisht YS, Kumar KVSH. Endocrine dysfunction in patients of leprosy. *Indian J Endocrinol Metab* [Internet]. 2015 [cited 2021 Feb 28];19(3):369–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25932392>
  47. Wang HY, Kim H, Kim Y, Bang H, Kim JP, Hwang JH, et al. Performance of PCR-reverse blot hybridization assay for detection of rifampicin-resistant *Mycobacterium leprae*. *Journal of Microbiology* [Internet]. 2015 [cited 2020 Apr 4];53(10):686–93. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84942844423&doi=10.1007%2Fs12275-015-5057-9&partnerID=40&md5=fcd077260c71722ce42ebf0922432bcf>
  48. Araujo S, Goulart LR, Truman RW, Goulart IMB, Vissa V, Li W, et al. qPCR-High resolution melt analysis for drug susceptibility testing of *Mycobacterium leprae* directly from clinical specimens of leprosy patients. *PLoS Neglected Tropical Diseases* [Internet]. 2017;11(6). Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85021680739&doi=10.1371%2Fjournal.pntd.0005506&partnerID=40&md5=d34a6a3c463916f6a3578cb17210909a>
  49. Araujo S, Goulart LR, Truman RW, Goulart IMB, Vissa V, Li W, et al. qPCR-High resolution melt analysis for drug susceptibility testing of *Mycobacterium leprae* directly from clinical specimens of leprosy patients. *PLoS Neglected Tropical Diseases* [Internet]. 2017;11(6) [cited 2020 Aug 4]. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85021680739&doi=10.1371%2Fjournal.pntd.0005506&partnerID=40&md5=d34a6a3c463916f6a3578cb17210909a>
  50. Godal T, Lofgren M, Negassi K. Immune response to *M. leprae* of healthy leprosy contacts. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* [Internet]. 1972;40(3):243–50 [cited 2020 Apr 20]. Available from: <http://ila.ils.br/pdfs/v40n3a02.pdf>
  51. Souza VN. Imunologia da hanseníase. In: *Hanseníase: avanços e desafios* [Internet]. Brasília; 2014 [cited 2020 Apr 9]. p. 105–30. Available from: <http://www.morhan.org.br/views/upload/hanseniaaseavancoes.pdf>

52. Brown M. Manson's tropical diseases [Internet]. 2009/06/22. Vol. 9, Infectious Diseases. Elsevier Ltd.; 2009. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7128861/>
53. Shepard CC, Congdon C. Increased growth of *Mycobacterium leprae* in thymectomized irradiated mice after foot pad inoculation. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1968;36(2):224–7.
54. Kirchheimer WF, Sanchez RM. Leprosy-susceptibility testing of armadillos. 1. Cellular responses to intradermally inoculated heat-killed leprosy bacilli. *Microbios*. 1973;7(25):31–5.
55. Avanzi C, Del-Pozo J, Benjak A, Stevenson K, Simpson VR, Busso P, et al. Red squirrels in the British Isles are infected with leprosy bacilli. *Science* (1979) [Internet]. 2016 [cited 2020 Oct 11];354(6313):744–7. Available from: <https://science.sciencemag.org/content/354/6313/744>
56. Hockings KJ, Mubemba B, Avanzi C, Pleh K, Dux A, Bersacola E, et al. Leprosy in wild chimpanzees. *Nature*. 2021 Oct;598(7882):652–6.
57. Matsuoka M, Izumi S, Budiawan T, Nakata N, Saeki K. *Mycobacterium leprae* DNA in daily using water as a possible source of leprosy infection. *Indian J Lepr* [Internet]. 1999 [cited 2020 Aug 19];71(1):61–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10439326/>
58. Holanda MV de, Marques LEC, Macedo MLB de, Pontes MA de A, Sabadia JAB, Kerr LRFS, et al. Presence of *Mycobacterium leprae* genotype 4 in environmental waters in Northeast Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* [Internet]. 2017 Mar [cited 2022 May 31];50(2):216–22. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822017000200216&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822017000200216&lng=en&tlng=en)
59. Lavania M, Katoch K, Katoch VM, Gupta AK, Chauhan DS, Sharma R, et al. Detection of viable *Mycobacterium leprae* in soil samples: insights into possible sources of transmission of leprosy. *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. 2008 Sep;8(5):627–31.
60. Turankar R, Lavania M, Vedithi S, Sengupta U, Krovvidi S, Jadhav R. Single nucleotide polymorphism (SNP) based molecular typing of *M. leprae* from multi-case families of leprosy patients and their surroundings to understand the transmission of leprosy. *Clinical Microbiology and Infection*. 2013.
61. Britton WJ, Lockwood DNJ. Leprosy. *The Lancet* [Internet]. 2004 [cited 2020 Mar 29];363(9416):1209–19. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15081655>

62. Singh P, Cole ST. *Mycobacterium leprae*: Genes, pseudogenes and genetic diversity. *Future Microbiology* [Internet]. 2011 [cited 2020 Dec 19];6(1):57–71. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-78650491780&doi=10.2217%2Ffmb.10.153&partnerID=40&md5=3799f928f9dee112d0b63277bc09391b>
63. Shepard CC. The Experimental Disease That Follows the Injection of Human Leprosy Bacilli Into Foot-Pads of Mice. *The Journal of Experimental Medicine* [Internet]. 1960 [cited 2020 Apr 19];112(3):445–54. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2137235/pdf/445.pdf>
64. Kirchheimer WF, Storrs EE. Attempts to establish the armadillo (*Dasypus novemcinctus* Linn.) as a model for the study of leprosy. I. Report of lepromatoid leprosy in an experimentally infected armadillo. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* [Internet]. 1971 [cited 2020 Apr 19];39(3):693–702. Available from: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19722901692>
65. Vissa VD, Brennan PJ. The genome of *Mycobacterium leprae*: A minimal mycobacterial gene set. *Genome Biology* [Internet]. 2001 [cited 2020 Jul 4];2(8):1–8. Available from: <https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/gb-2001-2-8-reviews1023>
66. Akama T, Suzuki K, Tanigawa K, Nakamura K, Kawashima A, Wu H, et al. Whole-Genome expression analysis of *mycobacterium leprae* and its clinical application. *Japanese Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 2010 [cited 2020 Jul 14];63(6):387–92. Available from: <https://www.niid.go.jp/niid/images/JJID/63/387.pdf>
67. Scollard DM, Adams LB, Gillis TP, Krahenbuhl JL, Truman RW, Williams DL. The continuing challenges of leprosy. *Clinical Microbiology Reviews* [Internet]. 2006 [cited 2020 Apr 9];19(2):338–81. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1471987/pdf/0036-05.pdf>
68. Monot M, Honoré N, Garnier T, Araoz R, Coppée JY, Lacroix C, et al. On the origin of leprosy. *Science*. 2005 May;308(5724):1040–2.
69. Sales A, de Leon A, Düppre N, Hacker M, Nery J, Sarno E, et al. Leprosy among Patient Contacts: A Multilevel Study of Risk Factors. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011 Mar 15;5:e1013.
70. Souza VNB de, Pereira AC. Genética humana na susceptibilidade à hanseníase. *Hansenologia Internationalis: hanseníase e outras doenças infecciosas* [Internet]. 2007 [cited 2020 Apr 9] Jun 30;32(1 SE-Artigos de revisão):81–93. Available from: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/hansenologia/article/view/35199>

71. Moraes M, Cardoso C, Vanderborgh P, Pacheco A. Genetics of host response in leprosy. *Lepr Rev*. 2006 Oct 1;77:189–202.
72. Alcaïs A, Abel L, Casanova JL. Human genetics of infectious diseases: between proof of principle and paradigm. *J Clin Invest* [Internet]. 2009 [cited 2020 Apr 9] Sep;119(9):2506–14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19729848>
73. Santos FSD, Souza LPA, Siani AC. O óleo de chaulmoogra como conhecimento científico: A construção de uma terapêutica antileprótica. *História, Ciências, Saude - Manguinhos* [Internet]. 2008 [cited 2020 Jul 14];15(1):29–47. Available from: <https://www.scielo.br/pdf/hcsm/v15n1/03.pdf>
74. Parascandola J. Chaulmoogra oil and the treatment of leprosy. *Pharm Hist* [Internet]. 2003 [cited 2020 Jul 14];45(2):47–57. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/277597573\\_Chaulmoogra\\_Oil\\_and\\_the\\_Treatment\\_of\\_Leprosy](https://www.researchgate.net/publication/277597573_Chaulmoogra_Oil_and_the_Treatment_of_Leprosy)
75. Maciel LR. A solução de um mal que é um flagelo. Notas históricas sobre a hanseníase no Brasil do século XX. In: Nascimento DR, Carvalho DM, editors. *Uma história brasileira de doenças*. Brasília: Editora Paralelo 15; 2004. p. 109–25.
76. Faget GH, Pogge RC, Johansen FA, Dinan JF, Eccles CG. The Prominent Treatment of Leprosy. A Progress Report. *Public Health Reports (1896-1970)* [Internet]. 1943 Jul 9 [cited 2020 Apr 19];58(48):1729. Available from: <http://www.jstor.org/stable/4584691>
77. Cochrane RG, Ramanujam K, Paul H, Russell D. Two and a half years experimental work on the sulfone groups of drugs. *Lepr Rev* [Internet]. 1949 [cited 2020 Apr 19];20:4–64. Available from: <http://leprev.ils.br/pdfs/1949/v20n1-2/pdf/v20n1-2a02.pdf>
78. Wozel G. The Story of Sulfones in Tropical Medicine and Dermatology. *International Journal of Dermatology* [Internet]. 1989 Jan 1;28(1):17–21 [cited 2020 Aug 4]. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-4362.1989.tb01301.x>
79. Erickson PT. Relapse following Apparent Arrest of Leprosy by Sulfone Therapy. *Public Health Reports (1896-1970)* [Internet]. 1950 Apr 19;65(36):1147–57 [cited 2020 Jun 18]. Available from: <http://www.jstor.org/stable/4587461>
80. PRICE RB. Relapse of leprosy in American Samoa. *Am J Trop Med Hyg*. 1959 May;8(3):358–63.

81. Memoria del VI Congreso Internacional de Leprología. In: 6º Congreso Internacional de Leprología Madrid [Internet]. 1953 [cited 2020 Apr 14]. p. 1344. Available from: <http://www.cervantesvirtual.com/nd/ark:/59851/bmc0941704>
82. World Health Organization. Expert Committee on Leprosy: fifth report [Internet]. Geneva: World Health Organization; 1977 [cited 2020 Apr 14]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/40864>
83. Browne S, Hogerzeil L. "B 663" in the treatment of leprosy. Preliminary report of a pilot trial. Leprosy Review [Internet]. 1962 [cited 2020 Apr 19];33(1):6–10. Available from: <http://leprev.ils.br/pdfs/1962/v33n1/pdf/v33n1a02.pdf>
84. Rees RJ, Pearson JM, Waters MF. Experimental and clinical studies on rifampicin in treatment of leprosy. Br Med J [Internet]. 1970 [cited 2020 Apr 19];1(5688):89–92. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1699176/>
85. Hoefler R. Medicamentos combinados em doses fixas: considerações e proposta de metodologia de análise. Boletim Farmacoterapêutica. [Internet]. 2003 [cited 2020 Apr 9]. Available from: <http://revistas.cff.org.br/?journal=boletimfarmacoterapeutica&page=article&op=view&path%5B%5D=1565>
86. World Health Organization. Chemotherapy of leprosy for control programmes: report of a WHO study group [Internet]. Geneva: World Health Organization; 1982 [cited 2020 Apr 14]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/38984>
87. World Health Organization. WHO Expert Committee on Leprosy: sixth report. Geneva; 1988.
88. GALLO MEN (tese). POLIQUIMIOTERAPIA COM DURAÇÃO FIXA EM HANSENÍASE MULTIBACILAR. FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. INSTITUTO OSWALDO CRUZ; 1998.
89. Crespo MJ, Gonçalves A. Avaliação das possibilidades de controle da hanseníase a partir da poliquimioterapia. Rev Port Sau Pub [Internet]. 2014 [cited 2020 Apr 9];32(1):80–8. Available from: [http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0870-90252014000100011&nrm=iso](http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0870-90252014000100011&nrm=iso)
90. Bhattacharya S, dermatology SVNBTI journal of. Reappraisal of the drifting scenario of leprosy multi-drug therapy: new approach proposed for the new millennium. Int J Dermatol. 2002;41(6):321–6.

91. Katoch K. New emerging drug regimens for leprosy. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 1997;63(3):139–47.
92. World Health Organization. Chemotherapy of leprosy: report of a WHO study group [Internet]. Geneva: World Health Organization; 1994 [cited 2020 Aug 4]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/39877>
93. World Health Organization. Report of the Eighth Meeting of the WHO Technical Advisory Group on Leprosy Control. Aberdeen, Scotland; 2006.
94. Setia MS, Shinde SS, Jerajani HR, Boivin JF. Is there a role for rifampicin, ofloxacin and minocycline (ROM) therapy in the treatment of leprosy? Systematic review and meta-analysis. *Trop Med Int Health.* 2011 Dec;16(12):1541–51.
95. Maciel LR, Ferreira IN. A presença da hanseníase no Brasil - alguns aspectos relevantes nessa trajetória. In: *Hanseníase: avanços e desafios* [Internet]. Brasília; 2014 [cited 2020 Apr 9]. p. 19–40. Available from: <http://www.morhan.org.br/views/upload/hanseniaaseavancoes.pdf>
96. Andrade V. Implementação da PQT/OMS no Brasil. *Hansenologia Internationalis* [Internet]. 2006 [cited 2020 Apr 19];31(1):23–31. Available from: <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/hi/v31n1/v31n1a04.pdf>
97. World Health Organization. Guia para eliminação da hanseníase como problema de saúde pública [Internet]. 1ª edição. Geneva; 2000. 36 p. [cited 2020 Aug 4]. Available from: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/brazil\\_guide.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/brazil_guide.pdf)
98. Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de Vigilância e Doenças Transmissíveis. NOTA TÉCNICA CGDE/.DCCI/SVS/MS N° 4/2020- Ampliação de uso da clofazimina para hanseníase paucibacilar no âmbito do Sistema Único de Saúde [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2020. Available from: [http://www.aids.gov.br/sites/default/files/legislacao/2020/notas\\_tecnicas/sei\\_ms\\_-\\_0013261936\\_-\\_nota\\_tecnica4.pdf](http://www.aids.gov.br/sites/default/files/legislacao/2020/notas_tecnicas/sei_ms_-_0013261936_-_nota_tecnica4.pdf)
99. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento Ciência e Tecnologia. Relatório de Recomendação – Ampliação de uso da claritromicina para o tratamento de pacientes com hanseníase resistente a medicamentos [Internet]. Brasília; 2020 [cited 2020 Aug 4]. Available from: [http://conitec.gov.br/images/Relatorios/2020/20201103\\_Relatorio\\_de\\_Recomendacao\\_claritromicina\\_Hanseniaase\\_Resistente\\_CP58.pdf](http://conitec.gov.br/images/Relatorios/2020/20201103_Relatorio_de_Recomendacao_claritromicina_Hanseniaase_Resistente_CP58.pdf)

100. Seydel JK, Richter M, Wempe E. Mechanism of action of the folate blocker diaminodiphenylsulfone (dapson, DDS) studied in *E. coli* cell-free enzyme extracts in comparison to sulfonamides (SA). *International journal of leprosy and other mycobacterial diseases: official organ of the International Leprosy Association*. 1980 Mar;48(1):18–29.
101. Kulkarni VM, Seydel JK. Inhibitory activity and mode of action of diaminodiphenylsulfone in cell-free folate-synthesizing systems prepared from *Mycobacterium lufu* and *Mycobacterium leprae*. A comparison. *Chemotherapy*. 1983;29(1):58–67.
102. Levy L, Shepard CC, Fasal P. The bactericidal effect of rifampicin on *M. leprae* in man: a) single doses of 600, 900 and 1200 mg; and b) daily doses of 300 mg. *International journal of leprosy and other mycobacterial diseases: official organ of the International Leprosy Association*. 1976;44(1–2):183–7.
103. Opromolla DVA. Terapêutica da hanseníase. *Medicina, Ribeirão Preto* [Internet]. 1997 [cited 2020 Apr 19];30(3):345–50. Available from: [http://revista.fmrp.usp.br/1997/vol30n3/terapeutica\\_hanseníase.pdf](http://revista.fmrp.usp.br/1997/vol30n3/terapeutica_hanseníase.pdf)
104. Morrison NE, Marley GM. Clofazimine binding studies with deoxyribonucleic acid. *International journal of leprosy and other mycobacterial diseases: official organ of the International Leprosy Association*. 1976;44(4):475–81.
105. Jamet P, Traore I, Husser JA, Ji B. Short-term trial of clofazimine in previously untreated lepromatous leprosy. *International journal of leprosy and other mycobacterial diseases: official organ of the International Leprosy Association*. 1992 Dec;60(4):542–8.
106. Ji B, Grosset J. Ofloxacin for the treatment of leprosy. *Acta Leprol*. 1991;7(4):321–6.
107. Gelber RH, Iranmanesh A, Murray L, Siu P, Tsang M. Activities of various quinolone antibiotics against *Mycobacterium leprae* in infected mice. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992 Nov;36(11):2544–7.
108. Williams DL, Gillis TP. Drug-resistant leprosy: monitoring and current status. *Lepr Rev* [Internet]. 2012 [cited 2020 Apr 19];83(3):269–81. Available from: [https://www.researchgate.net/profile/Diana\\_Williams2/publication/235364780\\_Drugresistant\\_leprosy\\_Monitoring\\_and\\_current\\_status/links/54ad74640cf2213c5fe40432/Drug-resistant-leprosy-Monitoring-and-current-status.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Diana_Williams2/publication/235364780_Drugresistant_leprosy_Monitoring_and_current_status/links/54ad74640cf2213c5fe40432/Drug-resistant-leprosy-Monitoring-and-current-status.pdf)
109. Gelber RH. Activity of minocycline in *Mycobacterium leprae*-infected mice. *J Infect Dis*. 1987 Jul;156(1):236–9.

110. Pereira-Maia E, Silva P, Almeida W, Santos H, Marcial B, Ruggiero R, et al. Tetraciclínas e gliciliclinas: uma visão geral. *Química Nova - QUIM NOVA*. 2010 Jan 1;33.
111. Cambau E, Williams DL. Anti-Leprosy Drugs : Modes of Action and Mechanisms of Resistance in Mycobacterium leprae Mode of Action and Antibacterial Activity. In: Scollard D, Gillis T, editors. *The International Textbook of Leprosy* [Internet]. 2019 [cited 2020 Apr 4]. p. 1–33. Available from: <https://internationaltextbookofleprosy.org/>
112. Ji B, Jamet P, Perani EG, Bobin P, Grosset JH. Powerful bactericidal activities of clarithromycin and minocycline against Mycobacterium leprae in lepromatous leprosy. *J Infect Dis*. 1993 Jul;168(1):188–90.
113. Chan GP, Garcia-Ignacio BY, Chavez VE, Livelio JB, Jimenez CL, Parrilla ML, et al. Clinical trial of clarithromycin for lepromatous leprosy. *Antimicrob Agents Chemother*. 1994 Mar;38(3):515–7.
114. Machado OVO, Patrocínio MCA, Medeiros MS, Bandeira T de JPG. Antimicrobianos: revisão geral para graduandos e generalistas [recurso eletrônico] [Internet]. Fortaleza: EdUnichristus; 2019. 455 p. [cited 2020 Aug 4] Available from: [https://unichristus.edu.br/uni\\_editoras/antimicrobianos-revisao-geral-para-graduandos-e-generalistas/](https://unichristus.edu.br/uni_editoras/antimicrobianos-revisao-geral-para-graduandos-e-generalistas/)
115. Singh SK, Kumar A, Nath G, Singh TB, Mishra MN. Resistance to anti leprosy drugs in multi-bacillary leprosy: A cross sectional study from a tertiary care centre in eastern Uttar Pradesh, India. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology* [Internet]. 2018;84(3):275–9 [cited 2020 Dec 10]. Available from: [https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85045611917&doi=10.4103%2Fijdv.IJDVL\\_34\\_16&partnerID=40&md5=a34e3a6c55a90225a54cad80478e52a5](https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85045611917&doi=10.4103%2Fijdv.IJDVL_34_16&partnerID=40&md5=a34e3a6c55a90225a54cad80478e52a5)
116. Liu D, Zhang Q, Sun Y, Wang C, Zhang Y, Fu X, et al. Drug resistance in Mycobacterium leprae from patients with leprosy in China. *Clinical and Experimental Dermatology* [Internet]. 2015;40(8):908–11[cited 2020 Aug 4]. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L604540439>
117. World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2014 [cited 2020 Apr 14]. Available from: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748\\_eng.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf?sequence=1)
118. Estrela TS. Resistência antimicrobiana: enfoque multilateral e resposta brasileira. In: *Saúde e Política Externa: os 20 anos da Assessoria de Assuntos Internacionais de Saúde (1998-2018)* [Internet]. 2018 [cited 2020 Apr 14]. p.

- 307–27. Available from: [https://www.saude.gov.br/images/pdf/2018/outubro/22/18\\_Tatiana\\_Estrela.pdf](https://www.saude.gov.br/images/pdf/2018/outubro/22/18_Tatiana_Estrela.pdf)
119. Silver LL. Challenges of antibacterial discovery. *Clin Microbiol Rev.* 2011 Jan;24(1):71–109.
120. World Health Organization. 2020 antibacterial agents in clinical and preclinical development: an overview and analysis [Internet]. Geneva PP - Geneva: World Health Organization; 2020. 59 p [cited 2020 Apr 14]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/340694>
121. Medeiros EAS de, Stempliuk V de A, Santi LQ. Medidas de prevenção e controle de resistência microbiana e programa de uso racional de antimicrobianos em serviços de saúde. Curso à distância [Internet]. 2007 [cited 2021 Oct 19]. Available from: <http://www.rmcontrole.org.br/resistencia>
122. Berendonk TU, Manaia CM, Merlin C, Fatta-Kassinos D, Cytryn E, Walsh F, et al. Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nature Reviews Microbiology* [Internet]. 2015;13(5):310–7[cited 2020 Apr 14]. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrmicro3439>
123. Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJ v. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol.* 2015 Jan;13(1):42–51.
124. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Mecanismos de resistência bacteriana aos antimicrobianos [Internet]. [cited 2021 Sep 14]. Available from: [https://www.anvisa.gov.br/servicos/saude/controle/rede\\_rm/cursos/rm\\_controle/0\\_pas\\_web/modulo3/mec\\_enzimatico.htm](https://www.anvisa.gov.br/servicos/saude/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/0_pas_web/modulo3/mec_enzimatico.htm)
125. World Health Organization. World Health Day 2011: Policy package to combat antimicrobial resistance [Internet]. 2011 [cited 2021 Nov 4]. Available from: <https://www.paho.org/pt/node/64965>
126. World Health Organization. Worldwide country situation analysis: response to antimicrobial resistance [Internet]. Geneva PP - Geneva: World Health Organization; 2015 [cited 2021 Nov 4]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/163473>
127. World Health Organization. Global action plan on antimicrobial resistance [Internet]. Geneva PP - Geneva: World Health Organization; 2015. 45 p. [cited 2020 Jul 18] Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/193736>
128. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Plano Nacional para a Prevenção e o Controle da Resistência Microbiana nos Serviços de Saúde. [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2017 [cited 2020 Apr 14]. 84 p. Available from: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33852/271855/>

[Plano+Nacional+para+a+Prevenção+e+o+Controle+da+Resistência+Microbiana+nos+Serviços+de+Saúde/9d9f63f3-592b-4fe1-8ff2-e035fcc0f31d](#)

129. FLOCH HA. La sulfono-resistance du bacille de Hansen. Arch Inst Pasteur Guyane Francaise. 1947;(429).
130. Pettit JHS, Rees RJW. Sulphone Resistance in Leprosy. The Lancet. 1964;284(7361):673–4.
131. Jacobson RR, Hastings RC. Rifampin-Resistant Leprosy. The Lancet. 1976;308(7998):1304–5.
132. Cambau E, Perani E, Guillemin I, Jamet P, Ji B. Multidrug-resistance to dapsone, rifampicin, and ofloxacin in Mycobacterium leprae. Lancet [Internet]. 1997 [cited 2020 Mar 29];349(9045):103–4. Available from: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(05\)60888-4/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(05)60888-4/fulltext)
133. Matsuoka M, Aye KS, Kyaw K, Tan E v, Balagon MaV, Saunderson P, et al. A novel method for simple detection of mutations conferring drug resistance in Mycobacterium leprae, based on a DNA microarray, and its applicability in developing countries. Journal of Medical Microbiology [Internet]. 2008 [cited 2020 Apr 19];57(10):1213–9. Available from: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.2008/002600-0>
134. Cole ST, Eiglmeier K, Parkhill J, James KD, Thomson NR, Wheeler PR, et al. Massive gene decay in the leprosy bacillus. Nature. 2001 Feb;409(6823):1007–11.
135. Aubry A, Sammarco Rosa P, Chauffour A, Lee Fletcher M, Cambau E, Avanzi C. Drug resistance in leprosy: an update following 70 years of chemotherapy. Infect Dis Now. 2022 Apr;
136. Sekar B, Arunagiri K, Kumar BN, Narayanan S, Menaka K, Oommen PK. Detection of mutations in folp1, rpoB and gyrA genes of M. leprae by PCR- direct sequencing - A rapid tool for screening drug resistance in leprosy. Leprosy Review [Internet]. 2011 [cited 2020 Apr 19];82(1):36–45. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L361821661>
137. Visser MR, Fluit AC. Amplification methods for the detection of bacterial resistance genes. Journal of Microbiological Methods [Internet]. 1995 [cited 2021 Mar 13];23(1):105–16. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/016770129500033H>

138. World Health Organization. A guide for surveillance of antimicrobial resistance in leprosy [Internet]. New Delhi: World Health Organization, Regional Office for South-East Asia; 2017 [cited 2020 Apr 14]. Available from: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1137285/retrieve>
139. Baohong J. Drug susceptibility testing of Mycobacterium leprae. International Journal of Leprosy. 1988;55(4 SUPPL.):830–5.
140. Levy L, Ji B. The mouse foot-pad technique for cultivation of Mycobacterium leprae. Leprosy Review [Internet]. 2006 [cited 2020 Apr 14];77(1):5–24. Available from: [https://pdfs.semanticscholar.org/c500/49da28a105da7959755489d18b5d887c4d7e.pdf?\\_ga=2.233775382.902609028.1596494906-611894553.1592879011](https://pdfs.semanticscholar.org/c500/49da28a105da7959755489d18b5d887c4d7e.pdf?_ga=2.233775382.902609028.1596494906-611894553.1592879011)
141. Wilson SM. Application of nucleic acid-based technologies to the diagnosis and detection of disease. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1993;87(6):609–11.
142. Hackel C. Pela Técnica Da Reação Em Cadeia. Hansenol Int. 1990;15(1–2):67–75.
143. Santos AR, Degrave WM, Suffys PN. Use of polymerase chain reaction (PCR) in leprosy research. Indian J Lepr [Internet]. 1999;71(1):101–110. Available from: <http://europepmc.org/abstract/MED/10439331>
144. Li W, Matsuoka M, Kai M, Thapa P, Khadge S, Hagge DA, et al. Real-time PCR and high-resolution melt analysis for rapid detection of Mycobacterium leprae drug resistance mutations and strain types. Journal of Clinical Microbiology [Internet]. 2012 [cited 2020 Apr 14];50(3):742–53. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84863148656&doi=10.1128%2FJCM.05183-11&partnerID=40&md5=f9b54d5717326e011e6c40533539ef7f>
145. Cambau E, Allerheiligen V, Coulon C, Corbel C, Lascols C, Deforges L, et al. Evaluation of a new test, GenoType HelicoDR, for molecular detection of antibiotic resistance in Helicobacter pylori. Journal of Clinical Microbiology. 2009;47(11):3600–7.
146. Hillemann D, Weizenegger M, Kubica T, Richter E, Niemann S. Use of the GenoType MTBDR Assay for Rapid Detection of Rifampin and Isoniazid Resistance in Mycobacterium tuberculosis Complex Isolates. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY [Internet]. 2005;43(8):3699–702[cited 2020 Apr 14]. Available from: <http://books.google.com/books?id=PsiLjRHr1JQC>
147. Cambau E, Chauffour-Nevejans A, Tejmar-Kolar L, Matsuoka M, Jarlier V. Detection of antibiotic resistance in leprosy using GenoType LepraeDR, a novel ready-to-use molecular test. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2012;6(7):e1739–

- e1739 [cited 2020 Apr 14]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22860144>
148. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Registro do GenoType MTBDRsl VER 2.0 [Internet]. [cited 2021 Aug 9]. Available from: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/saude/25351592157201806/?numeroRegistro=80502070068>
149. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento Ciência e Tecnologia. Testes comerciais de sondas em linha para detecção do complexo Mycobacterium tuberculosis (MTB), de mutações nas regiões determinantes de resistência a rifampicina e isoniazida (1ª linha) e a fluoroquinolonas e aminoglicosídeos (2ª linha). [Internet]. Brasília; 2021 [cited 2020 Apr 14]. Available from: [http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2021/20210423\\_PTC\\_teste\\_em\\_linha\\_deteccao\\_resistencia\\_tuberculose\\_CP\\_31.pdf](http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2021/20210423_PTC_teste_em_linha_deteccao_resistencia_tuberculose_CP_31.pdf)
150. Honoré N, Roche PW, Grosset JH, Cole ST. A method for rapid detection of rifampicin-resistant isolates of Mycobacterium leprae. Leprosy Review [Internet]. 2001 [cited 2020 Apr 4];72(4):441–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11826480/>
151. Williams DL, Pittman TL, Gillis TP, Matsuoka M, Kashiwabara Y. Simultaneous detection of Mycobacterium leprae and its susceptibility to dapsone using DNA heteroduplex analysis. J Clin Microbiol [Internet]. 2001 [cited 2020 Aug 19];39(6):2083–8. Available from: <https://jcm.asm.org/content/jcm/39/6/2083.full.pdf>
152. World Health Organization. Anti-Microbial Resistance in Leprosy. [Internet]. New Delhi, India; 2021 [cited 2021 Aug 19]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/SEA-GLP-7>
153. Saunderson PR. Drug-resistant M leprae. Clinics in Dermatology [Internet]. 2015 [cited 2020 May 29];34(1):79–81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clindermatol.2015.10.019>
154. World Health Organization. Rifampicin Resistance in Leprosy. Report of an Informal Consultation National JALMA Institute of Leprosy and other Mycobacterial Diseases, Agra, India, 30 November – 1 December, 2006. [Internet]. New Delhi; 2007 [cited 2020 Apr 14]. Available from: <https://www.who.int/lep/resources/Rifampicin-SEAGLP20071.pdf?ua=1>
155. Matsuoka M. Global surveillance system to monitor the development of drug resistance in Mycobacterium leprae. Research and Reports in Tropical Medicine [Internet]. 2015 [cited 2020 Apr 19];6:75–83. Available from: <https://www.dovepress.com/getfile.php?fileID=28189>

156. World Health Organization. Sentinel Surveillance for Drug Resistance in Leprosy. Cotonou, Benin, 12-13 November 2012 [Internet]. New Delhi; 2013 [cited 2020 Apr 14]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/206354/B5068.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
157. World Health Organization. Antimicrobial resistance in Leprosy. Report of a global consultation [Internet]. New Delhi; 2016 [cited 2020 Apr 14]. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/254628/1/sea-glp-2016.5.pdf>
158. Cambau E, Saunderson P, Matsuoka M, Cole ST, Kai M, Suffys P, et al. Antimicrobial resistance in leprosy: results of the first prospective open survey conducted by a WHO surveillance network for the period 2009–15. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2018 [cited 2020 Apr 19];24(12):1305–10. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6286419/>
159. World Health Organization. Situation and trends Leprosy [Internet]. [cited 2022 May 27]. Available from: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/leprosy-hansens-disease>
160. Chen X, He J, Liu J, You Y, Yuan L, Wen Y. Nested PCR and the TaqMan SNP Genotyping Assay enhanced the sensitivity of drug resistance testing of *Mycobacterium leprae* using clinical specimens of leprosy patients. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2019 [cited 2021 Feb 20];13(12):e0007946. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31881061/>
161. Chauffour A, Lecorche E, Reibel F, Mougari F, Raskine L, Aubry A, et al. Prospective study on antimicrobial resistance in leprosy cases diagnosed in France from 2001 to 2015. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2018 [cited 2021 Feb 9];24(11):1213.e5-1213.e8. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85049873708&doi=10.1016%2Fj.cmi.2018.06.004&partnerID=40&md5=f349edbf8dbb6094186a78d0f69aa169>
162. Brennan PJ. IDEAL: In the footsteps of IMMLEP and THELEP. *Leprosy Review* [Internet]. 2009 [cited 2021 Feb 9];80(3):236–45. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-73249128358&partnerID=40&md5=ee29b1f0d2d04606003e49c589a1e796>
163. Adams LB. Susceptibility and resistance in leprosy: Studies in the mouse model. *Immunol Rev*. 2021 May;301(1):157–74.
164. Avanzi C, Maia RC, Benjak A, Nery JA, Sales AM, Miranda A, et al. Emergence of *Mycobacterium leprae* Rifampin Resistance Evaluated by Whole-Genome Sequencing after 48 Years of Irregular Treatment. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2020 [cited 2021 May 31];64(7). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32340990/>

165. Talhari S, Damasco MH, da Graça Cunha M, Schettini APM, Andrade LM. Sulfono-resistência secundária: comprovação laboratorial em seis casos. In: Anais Brasileiros de Dermatologia [Internet]. 1985. Available from: [www.anaisdedermatologia.org.br/detalhe-artigo/330/Sulfono-resistencia-secundaria---Comprovacao-laboratorial-em-seis-casos](http://www.anaisdedermatologia.org.br/detalhe-artigo/330/Sulfono-resistencia-secundaria---Comprovacao-laboratorial-em-seis-casos)
166. Costa H, Opromolla D, Madeira S, Marques FB, Martelli A, Ura S. Prevalência de sulfono resistência em pacientes hansenianos do município de Bauru, estado de São Paulo. Hansenologia Internationalis [Internet]. 1993 [cited 2020 Apr 19];18(1/2):5–10. Available from: [http://www.ilsl.br/revista/detalhe\\_artigo.php?id=10401](http://www.ilsl.br/revista/detalhe_artigo.php?id=10401)
167. Costa HC, Opromolla DVA, Virmond M, Beiguelman B. Influence of the rapid acetylator phenotype on the emergence of DDS resistant mycobacterium leprae. Revista brasileira de genetica. 1993;16(4):1029–34.
168. OPROMOLLA DVA, COSTA HC, OLIVEIRA PRD de. RESISTÊNCIA MEDICAMENTOSA MÚLTIPLA SECUNDÁRIA NA HANSENÍASE. Hansen int [Internet]. 1993 [cited 2020 Jan 14];18(1/2):11–6. Available from: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-143828>
169. Diorio S, Manini M, Trino L, Sartori B, Opromolla D. Resistência a dapsona e rifampicina em Mycobacterium leprae isolado de pacientes portadores de hanseníase no Estado de São Paulo. Hansenologia Internationalis [Internet]. 2005 [cited 2020 Apr 19];30(1):9–14. Available from: [http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S198251612005000100003&nrm=iso](http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S198251612005000100003&nrm=iso)
170. Diorio S, Rosa PS, Belone AFF, Sartori BGC, Trino LM, Baptista IMFD, et al. Recidivas associadas à resistência a drogas na hanseníase. Hansenologia Internationalis [Internet]. 2009 [cited 2020 Apr 24];34(1):37–42. Available from: [http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S198251612009000100005&nrm=iso](http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S198251612009000100005&nrm=iso)
171. Albertini BB, Alvarenga MT, Rodrigues F da C, Leturiondo AL, Ferreira C de O, Moraes MO. Novo protocolo de PCR para a detecção de mutações que conferem resistência medicamentosa ao M. leprae. In: Hansen Int 9º Simpósio Brasileiro de Hansenologia [Internet]. 2016 [cited 2020 Apr 19]. p. 41(Suppl. 1):116. Available from: [http://www.ilsl.br/revista/detalhe\\_artigo.php?id=12480#](http://www.ilsl.br/revista/detalhe_artigo.php?id=12480#)
172. Rosa PS, D'Espindula HRS, Melo ACL, Fontes ANB, Finardi AJ, Belone AFF, et al. Emergence and Transmission of Drug-Multidrug-resistant Mycobacterium leprae in a Former Leprosy Colony in the Brazilian Amazon. Clinical infectious diseases [Internet]. 2020 May [cited 2020 May 29];70(10):2054–61. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7201420/pdf/ciz570.pdf>

173. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Saúde Pública. Divisão Nacional de Lepra. Guia para o controle da Lepra. Ministério da Saúde; 1973. 45 p.
174. Brasil. Ministério da Saúde. Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária. Manual de normas e procedimentos de enfermagem de tipo ambulatorial no controle da hanseníase. Brasília: Ministério da Saúde; 1978. 44 p.
175. Brasil. Ministério da Saúde. Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária. Guia para o controle da hanseníase. Brasília: Ministério da Saúde; 1983. 87 p.
176. Brasil. Ministério da Saúde. Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária. Normas técnicas e procedimentos para utilização dos esquemas de PQT no tratamento de hanseníase. Brasília: Ministério da Saúde; 1989. 71 p.
177. Brasil. Ministério da Saúde. Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária. PORTARIA N° 814 - Instruções Normativas. In: Legislação sobre o controle das doenças na área de dermatologia sanitária. Brasília: Ministério da Saúde; 1993. p. 13–26.
178. Brasil. Ministério da Saúde. Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária. PORTARIA N.º 1.073 - Instruções Normativas. In: Legislação sobre o controle da hanseníase no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2000. p. 13–42.
179. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. PORTARIA CONJUNTA N° 125: Define ações de controle da hanseníase [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2009. p. 19[cited 2020 Apr 14]. Available from: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/2009/poc0125\\_26\\_03\\_2009.html](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/2009/poc0125_26_03_2009.html)
180. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Nota Informativa N°51 DE 2015 CGHDE/DEVIT/SVS/MS. Recidiva, Insuficiência, Falência e Resistência. Brasília; 2015. p. 1–5.
181. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Nota Informativa CGHDE/ CGLAB/DEVIT/SVS/MS n° 31, de 31 agosto de 2018. Implantação do protocolo de Investigação da Resistência Medicamentosa em Hanseníase e estabelecimento do fluxo de envio de amostra. [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2018 [cited 2020 Apr 14]. Available from: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33852/271855/Plano+Nacional+para+a+Prevenção+e+o+Controle+da+Resistência+Microbiana+nos+Serviços+de+Saúde/9d9f63f3-592b-4fe1-8ff2-e035fcc0f31d>
182. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Plano de ação nacional de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos no âmbito da saúde única 2018-2022 (PAN-BR) [Internet]. Brasília; 2018 [cited 2020 Dec 4]. 24 p.

Available from: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/dezembro/20/af-pan-br-17dez18-20x28-csa.pdf>

183. Instituto Lauro de Souza Lima, Coordenadoria de Controle de Doenças S de E da S. Recidiva e resistência em hanseníase [Internet]. Vol. 45, Rev Saúde Pública. 2011 [cited 2020 Apr 14]. p. 631–3. Available from: <https://www.scielo.br/pdf/rsp/v45n3/itss.pdf>
184. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Nota Técnica nº05 PNCH/DEVEP/SVS/MS. Monitoramento das recidivas e resistência medicamentosa em hanseníase no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2009.
185. World Health Organization. Drug resistance surveillance in leprosy: Report of the WHO-ILEP joint meeting 4-6 February 2014, Cebu City, Philippines [Internet]. New Delhi: WHO Regional Office for South-East Asia; 2014 [cited 2020 Apr 19]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/204980>
186. Rosa PS. Vigilância de Resistência a Drogas em Hanseníase. A Responsabilidade Além da Rede (Editorial). *Hansenologia Internationalis: hanseníase e outras doenças infecciosas*. 2018;43(e-2362):1–3.
187. Brasil. Ministério da Saúde. FormSus - Formulário Eletrônico [Internet]. [cited 2021 Feb 3]. Available from: <http://siteformsus.datasus.gov.br/FORMSUS/index.php>
188. SCHMIDT MI, DUNCAN BB. Epidemiologia clínica e medicina baseada em evidências. In: Z. RM, editor. *Epidemiologia e saúde*. Rio de Janeiro: Medsi; 2003. p. 193–227.
189. Galvão TF, Pereira MG. Revisões sistemáticas da literatura: passos para sua elaboração. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* [Internet]. 2014 [cited 2020 Apr 30];23:183–4. Available from: [http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-49742014000100018&nrm=iso](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742014000100018&nrm=iso)
190. McGowan J, Sampson M, Salzwedel DM, Cogo E, Foerster V, Lefebvre C. PRESS Peer Review of Electronic Search Strategies: 2015 Guideline Statement. *J Clin Epidemiol*. 2016 Jul;75:40–6.
191. von Elm E, Poglia G, Walder B, Tramèr MR. Different Patterns of Duplicate Publication: An Analysis of Articles Used in Systematic Reviews. *JAMA* [Internet]. 2004 Feb 25;291(8):974–80. Available from: <https://doi.org/10.1001/jama.291.8.974>
192. Wright RW, Brand RA, Dunn W, Spindler KP. How to write a systematic review. *Clin Orthop Relat Res*. 2007 Feb;455:23–9.

193. Galvao T, Andrade Pansani T, Harrad D. Principais itens para relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises: A recomendação PRISMA. *Epidemiol Serv Saude* [Internet]. 2015 [cited 2021 May 4];24. Available from: [http://prisma-statement.org/documents/PRISMA Portuguese Statement.pdf](http://prisma-statement.org/documents/PRISMA%20Portuguese%20Statement.pdf)
194. Pereira MG, Galvao T. Extração, avaliação da qualidade e síntese dos dados para revisão sistemática. *Revista Epidemiologia e Serviços de Saúde* [Internet]. 2014;23(3):369–71[cited 2020 Aug 25]. Available from: <https://www.scielo.br/j/ress/a/JRHMrRzNtGqXFvfBMY9k38R/?lang=pt#>
195. Bosi PL. Saúde baseada em evidências [Internet]. EAD; 2020 [cited 2021 Mar 9]. Available from: <https://docplayer.com.br/5874120-Saude-baseada-em-evidencias-paula-lima-bosi.html>
196. Roever L. Compreendendo os estudos de metanálise na pesquisa clínica. *Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica*. 2016;14(4):245–9.
197. Pereira M, Galvão TF. Heterogeneidade e viés de publicação em revisões sistemáticas. *Epidemiologia e serviços de saúde*. 2014;23(4):775–8.
198. Higgins J, Green S. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions* [Internet]. Version 5.1.0. [Internet]. Oxford, editor. Cochrane Collaboration; 2011 [cited 2020 Jul 19]. 674 p. Available from: <https://training.cochrane.org/handbook/current>
199. Borenstein M, Rothstein HR, Hedges L v., Higgins J. *Introduction to Meta-Analysis*. Wiley, editor. United Kingdom; 2009. 544 p.
200. Donato H, Donato M. Etapas na Condução de uma Revisão Sistemática. *Acta Médica Portuguesa*. 2019 Mar 29; 32:227.
201. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento Ciência e Tecnologia. Diretrizes metodológicas: Sistema GRADE – Manual de graduação da qualidade da evidência e força de recomendação para tomada de decisão em saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2014. 71 p.
202. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento Ciência e Tecnologia. Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e metanálise de estudos de acurácia diagnóstica [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2014 [cited 2020 Oct 14]. 116 p. Available from: <https://rebrats.saude.gov.br/diretrizes-metodologicas?download=57:diretrizes-metodologicas-elaboracao-de-revisao-sistematica-e-metanalise-de-estudos-de-acuracia-diagnostics-1-edicao>
203. Oliveira G, Camargo F, Gonçalves E, Duarte C, Guimaraes CA. Revisão sistemática da acurácia dos testes diagnósticos: uma revisão narrativa. *Revista*

- do Colégio Brasileiro de Cirurgiões [Internet]. 2010;37(2):153–6[cited 2020 Apr 14]. Available from: <https://www.scielo.br/j/rcbc/a/XTbJWZPVvCYTqG6tDNBbpKn/?lang=pt#>
204. Oliveira MRF de, Gomes A de C, Toscano CM. QUADAS e STARD: avaliação da qualidade de estudos de acurácia de testes diagnósticos. *Revista de Saúde Pública* [Internet]. 2011;45(2):416–22 [cited 2020 Apr 20]. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S003489102011000200021&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003489102011000200021&lng=pt&tlng=pt)
205. The Joanna Briggs Institute Critical. Checklist for Prevalence Studies [Internet] [cited 2020 Apr 30]. Available from: [https://jbi.global/sites/default/files/2019-05/JBI\\_Critical\\_Appraisal-Checklist\\_for\\_Prevalence\\_Studies2017\\_0.pdf](https://jbi.global/sites/default/files/2019-05/JBI_Critical_Appraisal-Checklist_for_Prevalence_Studies2017_0.pdf)
206. Doebler P, Holling H. Meta-Analysis of Diagnostic Accuracy with mada. R Packages [Internet]. 2015;1–21 [cited 2020 Apr 14]. Available from: <https://cran.r-project.org/web/packages/mada/vignettes/mada.pdf>
207. Shim SR, Kim SJ, Lee J. Diagnostic test accuracy: application and practice using R software. *Epidemiol Health* [Internet]. 2019/03/28. 2019;41: e2019007–e2019007 [cited 2020 May 14]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30999739>
208. Hunter JP, Saratzis A, Sutton AJ, Boucher RH, Sayers RD, Bown MJ. In meta-analyses of proportion studies, funnel plots were found to be an inaccurate method of assessing publication bias. *J Clin Epidemiol*. 2014 Aug;67(8):897–903.
209. Schwarzer G, Chemaitelly H, Abu-Raddad LJ, Rücker G. Seriously misleading results using inverse of Freeman-Tukey double arcsine transformation in meta-analysis of single proportions. *Res Synth Methods*. 2019 Sep;10(3):476–83.
210. Gordis L. *Epidemiologia*. 4ª edição. Revinter, editor. Baltimore; 2010. 365 p.
211. Leal GS, Silva DA de O, Sopelete MC. Conceitos básicos de bioestatística. In: EDUFU, editor. *Pesquisa na área biomédica: do planejamento à publicação* [online] [Internet]. Uberlândia; 2005. p. 137–80 [cited 2020 Apr 14]. Available from: <https://books.scielo.org/id/wh35j/pdf/mineo-9788570785237-07.pdf>
212. Sim S, Kacevska M, Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenomics of drug-metabolizing enzymes: A recent update on clinical implications and endogenous effects. *Pharmacogenomics J*. 2012 Oct 23;13:1–11.

## APÊNDICES

## Apêndice A - Cópia da primeira página do Artigo 1 publicado

Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 100 (2021) 115325



Contents lists available at ScienceDirect

## Diagnostic Microbiology and Infectious Disease

Journal homepage: [www.elsevier.com/locate/diagmicrobio](http://www.elsevier.com/locate/diagmicrobio)



---

Original Article

### A systematic review and meta-analysis of studies on the diagnostic accuracy and screening of tests to detect antimicrobial resistance in leprosy



Elaine Silva Nascimento Andrade<sup>a,b</sup>, Jurema Guerrieri Brandão<sup>a</sup>, Juliana Souza da Silva<sup>a</sup>,  
 Patrícia Shu Kurizky<sup>c</sup>, Patricia Sammarco Rosa<sup>d</sup>, Wildo Navegantes de Araújo<sup>b,e</sup>,  
 Ciro Martins Gomes<sup>c,e,\*</sup>

<sup>a</sup> Coordenação Geral de Doenças em Hibinação – CGDE, Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis – DCCI, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Brasília, Brazil  
<sup>b</sup> Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Brazil  
<sup>c</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Brazil  
<sup>d</sup> Laboratório de Bacteriologia, Instituto Lauro de Souza Lima, Baurax, Brazil  
<sup>e</sup> Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Brazil

---

**ARTICLE INFO**

**Article history:**  
 Received 20 October 2020  
 Revised in revised form 11 December 2020  
 Accepted 20 January 2021  
 Available online 27 January 2021

**Keywords:**  
 Leprosy  
 Drug resistance  
 Bacterial  
 Diagnosis  
 Sequence analysis, DNA  
 Meta-analysis

**ABSTRACT**

Although multidrug therapy is considered an effective treatment for leprosy, antimicrobial resistance is a serious concern. We performed a systematic review of studies on the diagnostic accuracy and screening of tests for antimicrobial resistance in leprosy. This review was registered in PROSPERO (CRD42020177958). In April 2020, we searched for studies in the PubMed, EMBASE, Web of Science, Scopus, Scielo, and LILACS databases. A random effects regression model was used for the meta-analysis. We included 129 studies. Molecular tests for dapsone resistance had a sensitivity of 78.8% (95% confidence interval [CI] = 65.6–87.9) and a specificity of 97.0% (95% CI = 94.0–98.6). Molecular tests for rifampicin resistance had a sensitivity and specificity of 88.7% (95% CI = 80.0–93.9) and 97.3% (95% CI = 94.3–98.8), respectively. Molecular tests for ofloxacin resistance had a sensitivity and specificity of 80.9% (95% CI = 60.1–92.3) and 96.1% (95% CI = 90.2–98.5), respectively. In recent decades, no increase in the resistance proportion was detected. However, the growing number of resistant cases is still a clinical concern.

© 2021 Elsevier Inc. All rights reserved.

---

**1. Introduction**

Leprosy is caused by *Mycobacterium leprae* and *Mycobacterium lepromatosis*. It has been eradicated in developed countries through the improvement of social conditions (Gurung et al., 2019). World Health Organization (WHO) multidrug therapy (WHO-MDT) consists of 3 drugs, rifampicin, clofazimine, and dapsone, which are administered for 6 and 12 months in paucibacillary and multibacillary patients, respectively (World Health Organization, 2018). Although this is the standard treatment, antimicrobial resistance is a serious concern (Asia, 2017). In addition, some articles have described the possible spread of resistant *M. leprae* infections (Contreras Mejia et al., 2014). These reports justify the necessity of constant monitoring of *M. leprae* resistance to allow health care providers to make the best evidence-based decisions.

Until the first half of the 20th century, clinical criteria and serial skin smears were the only methods of monitoring antimicrobial resistance in leprosy. These criteria were useful for patients using dapsone monotherapy for long periods. The need for rapid therapeutic decisions justified the development of alternative methods. Although *M. leprae* is still not cultivable in artificial media, in 1960, Charles C. Shepard described a consistent and reliable procedure for the replication of this mycobacterium in mouse foot pads (MFPs) (Shepard, 1971). Infected mice can be treated with the same leprosy drugs as those used in people while bacilli growth is monitored. Limitations, such as the necessity of a long evaluation time, make the application of this method unfeasible on a large scale.

From 1993 onward, gene sequencing (GSEQ) has been evaluated against clinical criteria and the MFP test. Missense mutations clustered in specific genes identified as resistance-determining regions for dapsone, rifampicin, and quinolones have been described (World Health Organization, 2017). Clofazimine resistance is detected by the MFP test, but no specific mutation has been described (Beltrán-Alzate et al., 2016). Specifically for leprosy, the WHO

---

\* Corresponding author. Tel.: +55(61)99155-4039; fax: +55(61)3225-6799;  
 E-mail address: [cirogomes@unb.br](mailto:cirogomes@unb.br) (C.M. Gomes).

<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2021.115325>  
 0732-8893/© 2021 Elsevier Inc. All rights reserved.

## Apêndice B - Cópia da primeira página do Artigo 2 publicado



**AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY**

**Antimicrobial Agents and Chemotherapy®**

**EPIDEMIOLOGY AND SURVEILLANCE**



## Antimicrobial Resistance among Leprosy Patients in Brazil: Real-World Data Based on the National Surveillance Plan

 **Baine Silva Nascimento Andrade,<sup>a,b</sup>**
 **Jurema Guerrieri Brandão,<sup>a,c</sup>**
 **Juliana Souza da Silva,<sup>a</sup>**
 **Carmelita Ribeiro Filha Coriolano,<sup>a</sup>**  
 **Patricia Sammarco Rosa,<sup>d</sup>**
 **Milton Ozório Moraes,<sup>e</sup>**
 **Cynthia de Oliveira Ferreira,<sup>f,g</sup>**
 **Ciro Martins Gomes,<sup>h,b</sup>**  
 **Wildo Navegantes de Araújo<sup>h,\*,h,i,j</sup>**

<sup>a</sup>Coordenação Geral de Doenças em Eliminação – CGDE, Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis – DCC, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Brasília, Brazil

<sup>b</sup>Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Brazil

<sup>c</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Brazil

<sup>d</sup>Laboratório de Biologia Molecular, Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru, Brazil

<sup>e</sup>Laboratório Hanseníase, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>f</sup>Laboratório de Biologia Molecular, Fundação Alfredo da Matta, Manaus, Brazil

<sup>g</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brazil

<sup>h</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Brazil

<sup>i</sup>Faculdade UnB Ceilândia, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Brazil

<sup>j</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Avaliação de Tecnologia em Saúde, Porto Alegre, Brazil

**ABSTRACT** Brazil ranks second among countries for new cases and first for relapse cases of leprosy worldwide. The *Mycobacterium leprae* Resistance Surveillance Plan was established. We aimed to present the results of a 2-year follow-up of the National Surveillance Plan in Brazil. A cross-sectional study of leprosy cases was performed to investigate antimicrobial resistance (AMR) in Brazil from October 2018 to September 2020. Molecular screening targeting genes related to dapsone (*folP1*), rifampin (*rpoB*), and ofloxacin resistance (*gyrA*) was performed. During the referral period, 63,520 active leprosy patients were registered in Brazil, and 1,183 fulfilled the inclusion criteria for molecular AMR investigation. In total, only 16 (1.4%) patients had genetic polymorphisms associated with AMR. Of these, 8 (50%) had cases of leprosy relapse, 7 (43.8%) had cases of suspected therapeutic failure with standard treatment, and 1 (6.2%) was a case of new leprosy presentation. *M. leprae* strains with AMR-associated mutations were found for all three genes screened. Isolates from two patients showed simultaneous resistance to dapsone and rifampin, indicating multidrug resistance (MDR). No significant relationship between clinical variables and the presence of AMR was identified. Our study revealed a low frequency of AMR in Brazil. Isolates were resistant mainly to dapsone, and a very low number of isolates were resistant to rifampin, the main bactericidal agent for leprosy, or presented MDR, reinforcing the importance of the standard World Health Organization multidrug therapy. The greater frequency of AMR among relapsed patients supports the need to constantly monitor this group.

**KEYWORDS** Brazil, drug resistance, *M. leprae*, sequence analysis, DNA, surveillance, leprosy

**L**eprosy is a chronic infectious disease caused by *Mycobacterium leprae* and *Mycobacterium lepromatosis* (1). The average annual number of new cases over the last 10 years has remained stable worldwide. In 2019, 202,185 new cases and 3,897 relapse cases were reported in more than 120 countries, demonstrating the maintenance of the transmission chain (2). The monitoring of antimicrobial resistance (AMR) in *M. leprae* isolated from patients with new and relapsed cases has been recommended by the World

Copyright © 2022 American Society for Microbiology. All Rights Reserved.  
 Address correspondence to Baine Silva Nascimento Andrade, [bsnandrade33@gmail.com](mailto:bsnandrade33@gmail.com).  
 The authors declare no conflict of interest.  
 Received 29 November 2021  
 Returned for modification 19 January 2022  
 Accepted 24 March 2022

Month YYYY Volume XX Issue XX

10.1128/aac.02170-21 1

Downloaded from <https://journals.asm.org/journal/aac> on 18 April 2022 by 189.28.128.242.

**ANEXOS**

## Anexo I – Parecer do Comitê de Ética

UNB - FACULDADE DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE DA  
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Vigilância da resistência aos antimicrobianos da hanseníase no Brasil

**Pesquisador:** Elaine Silva Nascimento Andrade

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 32870920.8.0000.0030

**Instituição Proponente:** FUNDACAO UNIVERSIDADE DE BRASILIA

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

BRASILIA, 10 de Novembro de 2020

---

**Assinado por:**  
**Marie Togashi**  
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro  
**Bairro:** Asa Norte **CEP:** 70.910-900  
**UF:** DF **Município:** BRASILIA  
**Telefone:** (61)3107-1947 **E-mail:** ceptsunb@gmail.com

Anexo II – Termo de responsabilidade diante da cessão de base de dados nominais

TERMO DE RESPONSABILIDADE DIANTE DA CESSÃO DAS BASES DE DADOS DE SISTEMAS DE INFORMAÇÃO GERENCIADOS PELA SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE

Pelo presente instrumento, na qualidade de responsável pela guarda e uso da base de dados solicitada à Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, eu, pesquisadora principal, Elaine Silva Nascimento Andrade, assumo as seguintes responsabilidades:

- a) Utilizar esta base de dados única e exclusivamente para as finalidades descritas ao final deste documento;
- b) Guardar sigilo e zelar pela privacidade dos indivíduos relacionados/listados nesta base de dados;
- c) Não disponibilizar, emprestar ou permitir a pessoas ou instituições não autorizadas pela Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde o acesso a esta base de dados;
- d) Não divulgar, por qualquer meio de comunicação, dados ou informações contendo o nome dos indivíduos ou outras variáveis que permitam a identificação do indivíduo e que afetem, assim, a confidencialidade dos dados contidos nesta base de dados;
- e) Não praticar ou permitir qualquer ação que comprometa a integridade desta base de dados;
- f) Não utilizar isoladamente as informações contidas nesta base de dados para tomar decisões sobre a identidade de pessoas falecidas/nascidas, para fins de suspensão de benefícios ou outros tipos de atos punitivos, sem a devida certificação desta identidade em outras fontes.

Desta forma, a pesquisadora assume total responsabilidade pelas consequências legais da utilização indevida desta base de dados, por parte de servidores desta instituição ou por terceiros.

1- Sistema de Informação, Local e anos de abrangência.

Base	Local e anos de abrangência
<b>(X)</b> Formulário Eletrônico da Investigação Antimicrobiana em Hanseníase (FormSus)	Brasil – 2018 a 2020
<b>(X)</b> Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Hanseníase	Brasil – 2001 a 2020

2- Detalhamento dos dados que serão utilizados pela solicitante.

Todas as variáveis disponíveis no *linkage* das bases do Sinan-Hanseníase e do Formulário Eletrônico da Investigação Antimicrobiana em Hanseníase (FormSus), excluindo as informações de identificação do paciente.

3- Declaro que esta base de dados será utilizada única e exclusivamente para a realização da pesquisa “Vigilância da resistência aos antimicrobianos da hanseníase no Brasil” e com as seguintes finalidades:

Analisar os primeiros resultados da vigilância da resistência aos antimicrobianos da hanseníase no Brasil com intuito de subsidiar a gestão do Programa Nacional de Controle da Hanseníase na elaboração de estratégias que visem a melhorar a prevenção e o controle da resistência antimicrobiana.

Brasília, 29 de janeiro de 2021.

Pesquisadora responsável pelo uso e guarda das bases de dados solicitadas:

Nome: Elaine Silva Nascimento Andrade

RG: 001035876 SSP/RO e CPF: 074.884.427-92

Instituição: Universidade de Brasília – PPGSC

Assinatura: \_\_\_\_\_