

Instituto Lauro de Souza Lima,  
Coordenadoria de Controle de  
Doenças, Secretaria de Estado  
da Saúde

**Correspondência | Correspondence:**

Instituto Lauro de Souza Lima  
CP 3021  
17034-971 Bauru, SP, Brasil

Texto de difusão técnico-científica da  
Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.

# Recidiva e resistência em hanseníase

## Relapse and drug resistance in leprosy

Dentre as estratégias para o controle da hanseníase, são primordiais o diagnóstico precoce dos casos e seu tratamento adequado com os regimes de poliquimioterapia (PQT) recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Nesse sentido, o monitoramento de recidivas e resistência a drogas desses regimes assume relevância. O Instituto Lauro de Souza Lima (CCD-SES-SP) participa desse esforço como um dos centros internacionais de referências para o monitoramento clínico e laboratorial desses eventos.

A introdução dos regimes de poliquimioterapia no Brasil em 1990 levou a uma redução de até 75% na taxa de prevalências da hanseníase. Mesmo com os avanços no tratamento, a hanseníase ainda é um importante problema de saúde pública no País. De fato, a distribuição espacial da doença no País em 2009, mostrada pela Coordenação Geral do Programa de Controle da Hanseníase do Ministério da Saúde do Brasil, define dez *clusters* com taxas de prevalência acima de 1/10.000 habitantes, com detecção de 37.610 casos novos naquele ano;<sup>a</sup> dentre eles, 3,6% foram declarados como recidiva.<sup>b</sup>

O esquema PQT foi proposto pela OMS para evitar a seleção de cepas resistentes a drogas, após a monoterapia com dapsona (DDS) ter sido utilizada por muitas décadas e de terem sido identificados vários casos de resistência à dapsona na fase pós-tratamento.

Dentre os fatores que podem contribuir para a ocorrência de recidivas, estão as características inerentes ao *M. leprae* – micobactéria causadora da doença –, como tornar-se pouco ativas e voltar a se multiplicar após o término do tratamento (bacilos persistentes). Fatores relacionados à cinética das drogas – e.g. irregularidade de tratamento pelo paciente ou alterações que possam levar a menor absorção – podem resultar em recidivas ou mesmo manutenção da doença ativa, sendo necessário estender o tempo de tratamento em pacientes nessas condições. A reexposição do paciente a altas

cargas bacilares (reinfecção) não pode ser descartada, principalmente em áreas endêmicas da doença. Além desses fatores, alterações genéticas (mutações de base única) em genes relacionados à resistência a drogas podem levar os bacilos a se tornar resistentes.

As recidivas associadas à resistência medicamentosa têm sido relatadas desde o início da década de 1960, principalmente relacionadas ao uso prolongado de dapsona. Relatos de resistência à rifampicina (RFP) são menos comuns, embora não menos importantes, uma vez que a RFP é a principal droga do esquema PQT, com elevado efeito bactericida.

Dessa forma, entre outras ações, um componente fundamental para o controle da doença é o tratamento adequado, pelo uso correto dos medicamentos, que inclui o número de doses e do tempo determinado, conforme protocolos validados internacionalmente. Nesse contexto, o monitoramento da resistência medicamentosa tem papel importante, devendo-se lançar mão de exames laboratoriais complementares, tais como baciloscopia, histopatologia e inoculação experimental de camundongos. Esses exames testam a viabilidade bacilar e a sensibilidade a drogas (dapsona e RFP) utilizadas no esquema PQT. Recentemente, técnicas moleculares são utilizadas na detecção de mutações em genes relacionados à resistência a drogas.

### AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA

#### Inoculação em camundongos (técnica de Shepard)

Esse procedimento é realizado a partir de uma biópsia de lesão de paciente com suspeita clínica de recidiva, em suspensão de bacilos processada de acordo com o protocolo descrito no manual *Laboratory Techniques for Leprosy*.<sup>c</sup> A concentração de bacilos é ajustada para 10<sup>4</sup> bacilos/0,03 ml. Esses bacilos são inoculados por via intradérmica nos coxins plantares traseiros (0,03

<sup>a</sup> Penna MAF, Oliviera MLW, Penna GO. The epidemiological behaviour of leprosy in Brazil. *Lep Rev.* 2009;80(3):332-4.

<sup>b</sup> Penna GO. Hanseníase: da eliminação ao controle: avanços e desafios [aula]. Ministério da Saúde; 2010 [citado 2011 mar 30]. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/hanseníase\\_desafios\\_br\\_gerson\\_penna.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/hanseníase_desafios_br_gerson_penna.pdf)

<sup>c</sup> World Health Organization. *Laboratory techniques for leprosy*. Geneva; 1987.

ml/pata) de 30 camundongos da linhagem BALB/c. Os animais são divididos em três grupos: controle (dieta sem droga), DDS 0,01% (droga adicionada à ração) e RFP 10 mg/kg (droga administrada semanalmente por gavagem durante seis meses). Os animais são mantidos em salas climatizadas, recebendo água e ração *ad libitum*, e então são sacrificados após dez meses de inoculação e os coxins plantares serão processados para avaliar se houve ou não multiplicação bacilar. O material restante do inóculo é utilizado para extração de DNA genômico.

### Biologia molecular

Para verificar a presença de mutações em genes relacionados à resistência, o DNA genômico extraído de suspensões de bacilos é amplificado utilizando a técnica de *nested*-PCR e seqüenciado por eletroforese capilar. Mutações relacionadas à resistência à dapsona podem ser encontradas no gene *folP1*, que codifica a enzima dihidropteroate sintase, nos codons 53 e 55. Para RFP a mutação pode ser encontrada no gene *rpoβ*, que codifica a subunidade β do DNA dependente de RNA polimerase. Mutações foram descritas nos codons 407, 410, 420, 425 e 427. A resistência às quinolonas tem sido descrita no gene *gyrA*, relacionado à DNA girase, nos codons 89, 91, 92 e 95.

### RESISTÊNCIA EM HANSENÍASE NO BRASIL

A maioria dos relatos de casos de resistência medicamentosa em hanseníase referem-se a estudos pontuais realizados por iniciativa dos serviços especializados em hanseníase, confirmados por inoculação experimental em camundongos. No Instituto Lauro de Souza Lima (ILSL), em Bauru, SP, são estudados casos de recidiva com suspeita de resistência em pacientes tratados com esquema PQT/OMS-24 doses, pacientes tratados com dapsona (monoterapia) e alguns poucos pacientes tratados pelo esquema Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária. Pacientes tratados com PQT/OMS-12 doses têm sido avaliados com suspeita de reativação da doença, mas não necessariamente são suspeitos de resistência.

Como resultado de anos de trabalho com inoculação experimental, pesquisadores do ILSL mostraram resistência a dapsona em 5/40 casos de recidiva e a rifampicina em 2/40 casos testados em camundongos, em amostras do estado de São Paulo.<sup>d</sup> Outro relato mostrou presença de bacilos resistentes à dapsona em 3/28 pacientes de várias regiões do Brasil que recidivaram.<sup>e</sup> Os resultados de estudo para avaliação de recidivas do estado do

Pará mostrou resistência a dapsona e rifampicina em 2/7 amostras testadas e resistência somente a dapsona em 1/7 amostras.<sup>f</sup>

Amostras de cinco estados brasileiros (AM, CE, RJ, ES, PA) foram coletadas em um projeto multicêntrico financiado pelo Departamento de Ciência e Tecnologia do Ministério da Saúde e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (DECIT/CNPq-2006-2008) e avaliadas por seqüenciamento direto. Nos pacientes com recidiva foram detectadas resistência a dapsona em 1/230 amostras e resistência múltipla em 3/230 amostras.

Além desses poucos estudos, têm sido detectados casos de resistência, alguns com resistência múltipla, o que pode no futuro ter impacto na eficácia da PQT.

### REDE DE VIGILÂNCIA DE RESISTÊNCIA EM HANSENÍASE

Apesar da resistência às drogas da PQT não ser um problema de grande magnitude em nenhum país, desde o ano de 2007 o Comitê Técnico Assessor da OMS tem discutido a necessidade de estabelecer um programa de vigilância de resistência em hanseníase. Essa rede tem como principal objetivo monitorar a resistência, principalmente em áreas mais vulneráveis, e combater o problema em áreas emergentes.

Em 2009 foi criada pela OMS a rede sentinela de vigilância da resistência medicamentosa em hanseníase. Para atingir os objetivos, a rede tem apoio dos programas nacionais de controle da hanseníase e participação dos principais institutos de pesquisa em hanseníase no mundo. O Brasil implantou projeto piloto em 2010, visando inseri-lo gradualmente no Programa Nacional de Controle da Hanseníase do Ministério da Saúde, respeitando as atribuições de cada esfera do Sistema Único de Saúde.

Cada região do País enviará suas amostras com suspeita de recidiva para um dos centros processadores: Fiocruz, RJ (Rio de Janeiro, Espírito Santo, Ceará); ILSL, SP (São Paulo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Pernambuco, Piauí); Centro de Referência Nacional em Dermatologia Sanitária/Hanseníase, Hospital de Clínicas, Universidade Federal de Uberlândia, MG (Minas Gerais, Maranhão); Fundação Alfredo da Mata, AM (Amazonas, Acre, Rondônia); Centro de Referência Marcelo Cândia, PA (Pará, Amapá).

<sup>d</sup> Diório SM, Manini MIP, Trino LM, Sartori BGC, Opromolla DVA. Resistance to dapsone and rifampicin in *Mycobacterium Leprae* isolated from patients of São Paulo State. *Hansen Int.* 2005;30(1):15-9.

<sup>e</sup> Diório SM, Rosa PS, Belone AFF, Sartori BGC, Trino LM, Baptista IMFD et al. Recidivas associadas à resistência a drogas na hanseníase. *Hansen Int.* 2009;34(1):37-42.

<sup>f</sup> Belone FF, Rosa OS, Diório SM, Sartori BGC, Trino LM, Weckwerth AC et al. Avaliação de recidivas na colônia de Santo Antônio do Prata, Igarapé-Açu-PA, em pacientes multibacilares tratados entre 1994 e 2004 [resumo]. *Hansen Int.* 2010;35(2 Supl.1):7.

A proposta da rede é monitorar a resistência utilizando técnicas de biologia molecular estabelecidas nos centros processadores e validar resultados em laboratórios de referência dos centros colaboradores.

O ILSL, como centro de referência nacional e centro colaborador da Organização Pan-americana de Saúde/OMS, recebe apoio da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, do Ministério da Saúde, com financiamento de projetos de pesquisa pelo DECIT/CNPq, da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, da Fundação Paulista contra a Hanseníase e Associação Alemã de Assistência aos Hansenianos e Tuberculosos. A detecção de resistência se dará em duas linhas, no modelo animal e por seqüenciamento.

As desvantagens do modelo animal, custo e longo período para obtenção de resultados se justificam pela

necessidade de manutenção de cepas no Brasil para estudos posteriores, já que o *M. leprae* não cresce *in vitro*. O ILSL é o único centro no Brasil que mantém animais (camundongos BALB/c e camundongos *nude*) inoculados com esse propósito.

O seqüenciamento seguirá o “Guidelines for Global Surveillance of Drug Resistance in Leprosy”,<sup>8</sup> com detecção de mutações em amostras de raspado dérmico, comparadas ao material de biópsia proveniente da rotina de inoculação experimental do instituto.

O ILSL continuará aperfeiçoando seu trabalho para dar respostas rápidas que possam direcionar o tratamento mais adequado para os pacientes de hanseníase e fornecer subsídios ao programa de controle da doença que auxiliem nas tomadas de decisão.

---

<sup>8</sup> World Health Organization. Guidelines for global surveillance of drug resistance in leprosy. New Delhi: Regional Office of South-East Asia; 2009.