

Suzana Madeira Diório<sup>1</sup>Patrícia Sammarco Rosa<sup>2</sup>Andréa de Faria Fernandes Belone<sup>3</sup>Beatriz Gomes Carreira Sartori<sup>4</sup>Lazara Moreira Trino<sup>5</sup>Ida Maria Foschiani Dias Baptista<sup>6</sup>Elaine Valim Camarinha Marcos<sup>7</sup>Jaison Antonio Barreto<sup>8</sup>Somei Ura<sup>9</sup>

## RECIDIVAS ASSOCIADAS À RESISTÊNCIA A DROGAS NA HANSENÍASE

### RESUMO

A poliquimioterapia/Organização Mundial da Saúde foi implantada efetivamente no Brasil em 1991, contribuindo drasticamente para redução da taxa de prevalência e cura da hanseníase. No entanto, a sua comprovada eficácia não tem impedido a ocorrência de recidiva da doença. Falha no tratamento, persistência bacilar ou resistência a drogas são fatores que podem ou não estarem associados a ela. O objetivo deste estudo foi verificar a ocorrência de recidiva e associá-la com a presença de cepas resistentes do *Mycobacterium leprae* entre 28 indivíduos que apresentaram suspeita clínica de recidiva após tratamento por monoterapia sulfônica, esquema da Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária ou poliquimioterapia. Biópsias das lesões de pacientes multibacilares, com diagnóstico clínico de recidiva, atendidos por demanda espontânea, foram coletadas para avaliar resistência a drogas por meio da técnica de inoculação em pata de camundongo. Dentre as amostras avalia-

Diório SM; Rosa PS, Belone AFF, Sartori BGC, Trino LM, Baptista IMFD; Marcos EVC; Barreto JA, Ura S. Recidivas associadas à resistência a drogas na hanseníase. *Hansen Int* 2009; 34(1): 37-42.

das 42,8% apresentaram bacilos sensíveis à dapsona e rifampicina e 10,7% apresentaram resistência à dapsona; não foram isolados bacilos resistentes à rifampicina. A emergência de bacilos resistentes, especialmente à rifampicina, é um alerta para os programas de controle da hanseníase. Monitorar a disseminação destas cepas é importante, pois elas apresentam um sério obstáculo para a eliminação da doença, principalmente em países onde a hanseníase ainda é endêmica.

**Palavras-chave:** *Mycobacterium leprae*; hanseníase; recidiva; resistência a drogas.

Recebido em 08/06/2008.

Última correção em 12/11/2009.

Aceito em: 01/12/2009.

1 Pesquisadora Científica. Mestre em Doenças Tropicais. Chefe da Equipe Técnica de Microbiologia do Instituto Lauro de Souza Lima/Bauru – SP. [micro@iisl.br](mailto:micro@iisl.br)

2 Pesquisadora Científica. Doutora em Doenças Tropicais. Equipe Técnica de Biologia do Instituto Lauro de Souza Lima/Bauru – SP – [prosa@iisl.br](mailto:prosa@iisl.br)

3 Pesquisadora Científica. Doutora em Patologia. Chefe da Equipe Técnica de Patologia do Instituto Lauro de Souza Lima/Bauru – SP – [abelone@iisl.br](mailto:abelone@iisl.br)

4 Biologista. Equipe Técnica de Microbiologia do Instituto Lauro de Souza Lima/Bauru – SP – [beatriz\\_sartori@yahoo.com.br](mailto:beatriz_sartori@yahoo.com.br)

5 Biologista. Equipe Técnica de Microbiologia do Instituto Lauro de Souza Lima/Bauru – SP – [lazaratrino@ig.com.br](mailto:lazaratrino@ig.com.br)

6 Pesquisadora Científica. Doutora em Biologia Celular e Molecular. Equipe Técnica de Microbiologia do Instituto Lauro de Souza Lima/Bauru – SP – [ifoschiani@gmail.com](mailto:ifoschiani@gmail.com)

7 Pesquisadora Científica. Mestre em Doenças Tropicais. Equipe Técnica de Farmacologia e Bioquímica do Instituto Lauro de Souza Lima/Bauru – SP – [emarcos@iisl.br](mailto:emarcos@iisl.br)

8 Médico Dermatologista. Mestre em Ciências/Saúde Pública – [jaisonbarreto@gmail.com](mailto:jaisonbarreto@gmail.com)

9 Pesquisador Científico. Médico Dermatologista. Mestre em Doenças Tropicais. Diretor da Divisão de Pesquisa e Ensino do Instituto Lauro de Souza Lima/Bauru – SP – [pesquisa@iisl.br](mailto:pesquisa@iisl.br)

Apoio financeiro: Fundação Paulista contra a Hanseníase, São Paulo, Brasil.

## ABSTRACT

The multidrugtherapy proposed by the World Health Organization has been effectively implemented in Brazil in 1991. It helped reduce the prevalence and achieve the cure of leprosy. However, its proven efficacy has not prevented the occurrence of relapses in some leprosy patients. Irregular treatment, bacillary persistence or resistance of *Mycobacterium leprae* to drugs are factors that may be associated with relapse. The objective of this study was assess the occurrence of relapse and associate it with the presence of *Mycobacterium leprae* resistant strains. In order to do that, 28 individuals who were clinically diagnosed as relapse after treatment with sulphone monotherapy, the National Division of Sanitary Dermatology scheme or multidrugtherapy. Biopsies from lesions of multibacillary patients attended by spontaneous demand were collected to verify resistance to drugs through the mouse foot pad inoculation technique. Among the samples evaluated 42.8% had bacilli susceptible to dapsona and rifampicin and 10.7% showed resistance to dapsona. No rifampicin resistant bacilli were isolated. The emergence of resistant strains, especially to rifampicin, is a threat to leprosy control programs, therefore, monitoring the spread of these strains is important because resistance pose a serious obstacle to the elimination of disease, particularly in countries where the disease is endemic.

**Keywords:** *Mycobacterium leprae*, leprosy, relapse, drugs resistance.

## INTRODUÇÃO

O esquema de poliquimioterapia (PQT) foi implantado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) a partir de 1981, contribuindo drasticamente para redução da taxa de prevalência da hanseníase<sup>1</sup>. Os freqüentes relatos de resistência a dapsona (DDS) e rifampicina (RFP), após tratamento em regime de monoterapia, fizeram com que a OMS preconizasse o esquema PQT, com objetivo principal de atuar na prevenção da seleção de cepas resistentes.

No Brasil, a PQT foi avaliada por alguns anos em algumas regiões, tendo sido efetivamente implantada em 1991<sup>2</sup>. Após duas décadas de sua implantação e da ampliação dos serviços de saúde, é possível comprovar, por meio de dados epidemiológicos, a desaceleração na detecção de novos casos da doença. Em 2007, o coeficiente de detecção de casos novos alcançou o valor de 21,08/100.000 habitantes e o de prevalência, 21,94/100.000. Embora o país registre um importante decréscimo nos índices que avaliam a magnitude da hanseníase, ela ainda constitui um problema de saúde pública, o que exige dos programas de vigilância atuarem de maneira resolutiva e contínua<sup>3,4</sup>.

Apesar de não existirem dúvidas quanto à eficácia da PQT, ela não têm impedido que alguns casos de

recidiva ocorram após a alta medicamentosa. Embora seja considerado um evento raro, a recidiva é um indicador importante de eficiência terapêutica. De acordo com dados do Sistema Nacional de Agravos de Notificação – Secretaria de Vigilância em Saúde/MS (SINAN/SVS), o Brasil registrou no ano de 2007 uma taxa de 3,8% de recidiva<sup>5</sup> contra 1% da média geral mundial<sup>6</sup>. Observando-se os índices registrados aqui no país a partir de 2001 (2,7%), podemos observar uma pequena variação, porém crescente, desses valores com 3,8% em 2007<sup>5</sup>. Acredita-se que esses índices não representem a real magnitude das recidivas e em muitos casos os surtos reacionais, que podem ocorrer por até alguns anos após término do tratamento, são diagnosticados como recidiva<sup>7,8,9</sup>. Esses casos são reintroduzidos no tratamento, voltando a fazer parte do registro ativo, com impacto sobre a prevalência da doença.

Casos de recidiva associados a resistência as drogas da PQT representam um problema emergente, porém desde a década de 60 vários relatos de sua ocorrência tem sido descritos. A DDS foi a primeira a ter comprovação experimental de resistência e isto só foi possível depois que a técnica de inoculação do *Mycobacterium leprae* em coxim plantar de camundongos foi padronizada por Shepard, em 1960<sup>10</sup>. Utilizando-se esta metodologia, em 1964, foi descrito o primeiro caso de resistência do bacilo a DDS<sup>11</sup>. Por ter sido utilizada durante muitos anos em regime de monoterapia, ela é a droga mais frequentemente associada a resistência. Relatos de resistência a RFP são menos freqüentes, porém eles têm despertado preocupação, uma vez que ela é a droga mais importante do esquema multidrogas, devido ao seu alto poder bactericida<sup>12,13,14</sup>.

Atualmente, além da técnica de inoculação em coxim plantar de camundongos, é possível detectar bacilos resistentes a drogas também por diferentes métodos moleculares. Reação de polimerase em cadeia (PCR), análise de polimorfismo, heteroduplex e sequenciamento têm sido os métodos moleculares mais utilizados<sup>15</sup>. Neste sentido, a detecção molecular de resistência em micobactérias tem se baseado na observação de mutações em genes que codificam regiões envolvidas no alvo de ação das drogas ou de sua ativação.

As aplicações das técnicas moleculares têm demonstrado que o mecanismo de resistência do *M. leprae* a DDS está associado a mutações no gene *folP1*, que codifica a produção da enzima dihidropteroato sintetase (DHPS). Algumas cepas mutantes são decorrentes de mutações espontâneas que ocorrem na cópia cromossomal do *folP*, enquanto outras parecem ser resultado de translocação. Na maioria dos casos, os organismos resistentes produzem a DHPS de forma alterada, as quais continuam a catalisar a reação de condensação em dihidropteroato, mas são refratárias à inibição pelas sulfonamidas<sup>16,17</sup>.

As bases genéticas de resistência a RFP têm sido estudadas desde a década de 1990. Uma mutação em um pequeno segmento do gene *rpoβ*, que codifica a subunidade-β do DNA dependente da RNA polimerase, foi identificada entre isolados do bacilo que se mostraram resistentes após inoculação em pata de camundongo<sup>18</sup>.

O objetivo deste estudo foi verificar a ocorrência de recidivas em hanseníase associadas à resistência a drogas, após término de tratamento com monoterapia sulfônica, esquema Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária (DNDS) ou PQT/multibacilar (MB), utilizando-se a técnica de inoculação em coxim plantar de camundongos.

## PACIENTES E MÉTODOS

**Pacientes:** entre janeiro de 2003 e março de 2005 foram avaliados 28 (n=28) pacientes multibacilares (MB), de ambos os sexos, com diagnóstico clínico de hanseníase virchoviana (HV) ou dimorfo-virchoviana (HDV), tratados e com suspeita clínica de recidiva. Os pacientes foram atendidos por demanda espontânea no serviço de Dermatologia do Instituto “Lauro de Souza Lima” – Bauru/SP, onde foram submetidos à avaliação clínica-dermatológica. Todos os pacientes avaliados haviam concluído o tratamento há pelo menos cinco anos.

**Biópsia:** foram coletados dois fragmentos de biópsia do local da lesão, sendo um encaminhado para exame histopatológico e o outro para inoculação no coxim plantar de camundongos, com o objetivo de avaliar a susceptibilidade às drogas DDS e RFP.

### Inoculação em coxim plantar de camundongo – Técnica de Shepard:

para avaliar a susceptibilidade do bacilo as drogas seguiu-se o protocolo descrito no manual *Laboratory Techniques for Leprosy*<sup>19</sup>. Brevemente, a biópsia foi triturada em um homogeneizador de tecidos contendo 2ml de solução salina balanceada de Hank's (Gibco BRL®), para obtenção da suspensão bacilar. Em seguida, 30 µl da suspensão foram depositados em lâminas de microscopia, fixadas e coradas pela técnica de Ziehl-Neelsen a frio. Após a contagem do número de bacilos, 50 camundongos, por amostra, da linhagem BALB/c, jovens e de ambos os sexos, foram inoculados por via intradérmica, no coxim plantar traseiro esquerdo, com 10.000 bacilos/0,03ml. Os animais foram divididos em 05 grupos: controle (dieta sem drogas), DDS 0,01g%, DDS 0,001g%, DDS 0,0001g% e RFP 10mg/kg. A DDS (Sigma®) foi adicionada à ração, e a RFP (Merck®), administrada via gavagem, uma vez por semana, durante 06 meses. Os animais foram mantidos em salas climatizadas, com temperatura média de 22°C, recebendo água e ração *ad libitum*. Após 10 meses de inoculação, os animais foram sacrificados e o tecido do coxim plantar excisado

e processado de acordo com o protocolo utilizado para a biópsia do paciente, com posterior contagem do número de bacilos. Foi considerada multiplicação bacilar significativa o índice de ≥ 100.000 bacilos/pata.

## RESULTADOS

Foram avaliados 28 casos com suspeita clínica de recidiva que se constituíram grupo de risco para resistência a drogas. Em 12/28 (42,8%) das amostras foi observada multiplicação bacilar no coxim plantar, indicando a presença de bacilos viáveis na biópsia inicial. Dentre estas 12 (n=12) amostras, 09/12 (75%) apresentaram bacilos sensíveis a DDS e RFP e 03/12 (25%) resistentes a DDS. Resultados inconclusivos, ou seja, aqueles nos quais não se observou multiplicação bacilar, ocorreram em 16/28 (57,1%) casos.

Considerando-se o número total de casos avaliados (n=28), 32,1% (09/28) apresentaram bacilos sensíveis, 10,7% (3/28) foram resistentes a DDS e 57,1% (16/28) apresentaram resultados inconclusivos. Nenhum caso de resistência a RFP foi observado (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resultado do teste de susceptibilidade a dapsona e rifampicina realizado por meio de inoculação em coxim plantar de camundongos, entre 28 pacientes com suspeita clínica de recidiva.

Susceptibilidade a drogas (n=28)			
Sensível <sup>1</sup>	DDS resistente	RFP resistente	Inconclusivo <sup>2</sup>
09 (32,1%)	03 (10,7%)	0 (0%)	16 (57,1%)

<sup>1</sup> Multiplicação bacilar somente no grupo controle

<sup>2</sup> Ausência de multiplicação bacilar

O exame histopatológico no momento da suspeita clínica de recidiva foi realizado em 20/28 (71,4%) dos casos avaliados. No grupo de pacientes em que houve multiplicação bacilar na pata do camundongo, o exame histopatológico foi realizado em 10/12 (83,3%); todos eles (100%) apresentaram resultado compatível com doença em atividade, evidenciando a presença de bacilos típicos. No grupo de pacientes em que não houve multiplicação bacilar (resultado inconclusivo), o exame histopatológico foi realizado em 10/16 (62,5%); 05 (50%) apresentaram resultado compatível com doença em atividade evidenciando a presença de bacilos típicos e 05 (50%) apresentaram resultado compatível com doença em regressão, sem presença de bacilos típicos. Dos pacientes que tinham a doença ativa, três haviam realizado PQT/MB/24 regular e dois eram de monoterapia sulfônica.

No total, dos 28 pacientes que apresentaram quadro clínico com suspeita de recidiva, os resultados de ino-

culação e/ou exame histopatológico foram compatíveis com doença ativa em 17 (60,7 %) dos casos avaliados.

Em relação ao tratamento prévio, 05/28 (17,8%) dos pacientes haviam feito monoterapia com DDS, 01/28 (3,5%) fez DNDS + PQT/MB/24, 15/28 (53,5%) haviam feito o esquema PQT/MB/24 completo, 04/28 (14,3%) fizeram PQT/MB com número de doses variadas, sendo que um não fez 24 doses, e 03/28 (10,7%) haviam tomado PQT irregularmente.

O tempo decorrido entre o diagnóstico da doença e a suspeita clínica de recidiva foi variou de 09 anos a 50 anos.

O perfil clínico dos pacientes que apresentaram multiplicação bacilar no coxim plantar dos camundongos e o resultado do teste de susceptibilidade a DDS e RFP estão descritos na Tabela 2.

## DISCUSSÃO

As definições de "cura" e "recidiva" em hanseníase tornam-na uma doença bastante peculiar. O conceito de "cura" está intimamente ligado ao esquema proposto para tratamento dos casos em paucibacilares (PB) ou MB. De acordo com o Guia de Vigilância Epidemiológica do Ministério da Saúde/Brasil, a alta por cura é dada após a administração do número de doses preconizadas pela PQT. Em relação a recidiva, é considerado como um caso, aquele indivíduo que após completar com êxito o tratamento PQT venha eventualmente apresentar novos sinais e sintomas clínicos da doença<sup>20</sup>.

Embora os critérios para o diagnóstico de recidiva não estejam bem definidos, podendo variar de acordo com o autor ou lugar, a ocorrência de sinais de atividade clínica da doença, após alta por cura, é condição fundamental para que ocorra a suspeição. Do ponto de vista laboratorial, a baciloscopia de raspado intradérmico, exame histopatológico e inoculação em coxim plantar de camundongos, são métodos que podem contribuir para a confirmação do diagnóstico clínico.

Os fatores que predisõem às recidivas podem ser variados. Bacilos persistentes, índice bacilar alto no momento do diagnóstico, tratamento inadequado ou irregular, monoterapia, especialmente com DDS, frequentemente estão associados aos casos confirmados de recidiva<sup>21</sup>.

Relatos de recidiva associados à resistência a drogas estão se tornando cada vez mais frequentes, principalmente depois que os mecanismos moleculares e os genes envolvidos no processo, tornaram-se conhecidos. Shetty et al<sup>22</sup>, ao estudarem 37 casos de recidiva, obtiveram um índice de 21% de resistência a DDS e/ou RFP entre as 28 amostras que apresentaram multiplicação bacilar no coxim plantar de camundongos. Utilizando as técnicas de inoculação e biologia molecular, Maeda et al<sup>23</sup> encontraram um índice significativo de cepas resistentes a DDS e RFP em pacientes que recidivaram após PQT/MB. Dos 252 isolados obtidos de pacientes não tratados, Matsuoka et al<sup>24</sup> encontraram 3% de resistência a DDS e 2% a RFP, o que demonstra a circulação de cepas resistentes; em rela-

**Tabela 2.** Perfil clínico dos pacientes com suspeita clínica de recidiva que apresentaram multiplicação bacilar no coxim plantar dos camundongos e o resultado do teste de susceptibilidade a dapsona e rifampicina.

Forma clínica	Diagnóstico	Recidiva	Tratamento	Histopatologia	Resultado de inoculação
V	1985	2003	Mono DDS PQT/14	Doença ativa	Resistente DDS
V	1982	2003	Mono DDS PQT/24	_____	Sensível
V	1990	2003	PQT/24	_____	Sensível
V	1991	2003	PQT/24	Doença ativa	Sensível
DV	1986	2004	Mono DDS	Doença ativa	Sensível
V	1959	2004	Mono DDS	Doença ativa	Resistente DDS
DV	_____	2004	DNDS PQT/24	Doença ativa	Sensível
V	1954	2004	PQT/24 irregular	Doença ativa	Resistente DDS
V	1984	2004	RFP + DDS	Doença ativa	Sensível
V	1990	2004	PQT/24	Doença ativa	Sensível
DV	1964	2004	Mono DDS	Doença ativa	Sensível
V	1994	2005	PQT/24	Doença ativa	sensível

ção aos pacientes que recidivaram o índice de resistência foi maior, com 15% resistentes a DDS e 8% a RFP.

Em nosso estudo verificamos que 12/28 (42,8%) das amostras resultaram em multiplicação bacilar no coxim plantar, indicando a presença de bacilos viáveis na biópsia utilizada para confirmação da recidiva. Dentre estas 12 amostras, 3/12 (25%) apresentaram resistência a DDS e nenhuma a RFP. O primeiro caso de resistência relata monoterapia/DDS durante 16 anos e 14 doses de PQT; o segundo fez apenas monoterapia/DDS por 19 anos; no terceiro há relato de PQT/MB 24 regular e outros irregulares, e não há registro de monoterapia embora o diagnóstico da doença tenha sido realizado antes da implantação da PQT. A recidiva foi associada à resistência medicamentosa em 10,7% (3/28) das amostras avaliadas.

Apesar de não terem sido detectadas cepas com resistência a rifampicina, droga com alto poder bactericida, os achados de resistência a DDS não podem ser desprezados. A emergência de organismos resistentes a drogas sempre é motivo de preocupação e ameaça para qualquer programa de controle de doenças infecciosas, e em hanseníase não é diferente. Por tratar-se de uma doença crônica, a detecção de bacilos resistentes apresenta-se como um risco em potencial para o controle da hanseníase.

Decorridos mais de 20 anos de implantação da PQT, relatos de recidiva associados a resistência a DDS entre pacientes de monoterapia, ainda tem sido descritos na literatura. Matsuoka et al<sup>25</sup> isolaram bacilos com resistência a DDS, RFP e ofloxacina de um paciente que fez monoterapia com drogas variadas, mas que não tratou com esquema padrão PQT/MB. Zhang et al<sup>26</sup> verificaram a ocorrência de resistência múltipla a DDS e RFP em um paciente que havia sido tratado com monoterapia de DDS e RFP; Madeira-Diório et al<sup>27</sup> 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.

Outro resultado importante é em relação às amostras que foram sensíveis às drogas (9/12). Nesses casos, outro(s) fator(es), que não a resistência, contribuíram para que os pacientes apresentassem novamente sinais clínicos da doença. Tratamento irregular ou inadequado parecem não ter sido fator de risco, pois a maioria dos pacientes relata tratamento regular com PQT/24. No entanto, nos dois casos que receberam monoterapia com DDS, o tratamento pode ter se constituído risco para a recidiva, pois a DDS tem ação bacteriostática. Nesses casos, chama atenção o fato das cepas não apresentarem resistência a DDS, o que seria mais comum de acontecer. Como o teste de susceptibilidade foi realiza-

do por meio da técnica de inoculação, é possível que a detecção da resistência não tenha ocorrido, em razão desta metodologia ser menos sensível quando comparada às de biologia molecular. Bacilos persistentes também podem estar associados a recidiva. Eles têm sido identificados em locais imunologicamente favoráveis, como nervos dérmicos, músculo liso, linfonodos, medula óssea e fígado. Esses organismos estão presentes em cerca de 10% dos pacientes MB, e sua proporção pode ser mais elevada naqueles casos com IB mais altos<sup>21</sup>.

Segundo a OMS, estudo realizado entre um grande número de pacientes, após término de tratamento, revelou que as taxas de recidivas são muito baixas, com risco cumulativo menor que 1% durante follow-up de nove anos<sup>28</sup>; esse percentual, porém, não tem sido relatado em outros estudos<sup>29</sup>. Atualmente, o Brasil possui o índice mais alto (4% em 2008), notificado no mundo, de recidiva. No entanto, sabemos que esses valores não indicam a real magnitude das recidivas, uma vez que são poucos os estudos realizados em nosso país.

Não se pode desprezar o alto número de casos de recidivas diagnosticado neste estudo. Apesar da confirmação pela técnica de Shepard ter ocorrido em 42,8% dos casos avaliados, levando-se em consideração os resultados de inoculação juntamente com os do exame histopatológico (n=5) compatível com recidiva, o índice sobe para 60,7%. Nos casos em que a inoculação não mostrou multiplicação bacilar, o resultado do exame histopatológico foi muito importante para o diagnóstico da recidiva, ressaltando a importância de se efetuar exames complementares em casos suspeitos de reativação da hanseníase.

Outro aspecto a ser considerado é que, com a diminuição do tempo de tratamento dos pacientes MB submetidos à PQT de 24 para 12 doses, ou até seis, futuramente poderá haver um aumento no número de casos de recidiva, inclusive com bacilos resistentes às drogas. Nosso achado de recidiva confirmada em pacientes que fizeram tratamento irregular ou monoterapia e menos de 24 doses de PQT corroboram esta afirmação. O seguimento de pacientes por períodos prolongados é necessário para detecção precoce das recidivas, pois eles se constituem em fonte de novas infecções. Particularmente, é imprescindível o acompanhamento de pacientes em áreas de alta endemicidade, pois não podemos descartar a possibilidade dos pacientes no presente estudo terem sido re-infectados, já que os contatos destes pacientes não foram avaliados.

Uma perspectiva importante para novos estudos é o desenvolvimento e validação de métodos rápidos para detecção de cepas de *M. leprae* viáveis e resistentes às drogas do esquema PQT.

## REFERÊNCIAS

1. World Health Organization Study Group. Chemotherapy of leprosy for control programs. Report. Geneva; 1982. (WHO – Technical Report Series. Geneva, 675).
2. Andrade V. Implementação da PQT/OMS no Brasil. *Hansen Int* 2006; 31(1): 23-31.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância em saúde: situação epidemiológica da hanseníase no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2008.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Plano nacional de eliminação da hanseníase em nível municipal 2006-2010. Brasília: Ministério da Saúde; 2006.
5. Brasil. Ministério da Saúde. SINAN/SVS/MS. Disponível em: <http://www.tabnet.datasus.gov.br>
6. World Health Organization. Disponível em: <http://www.who.int/lep/research/en/>
7. Reddy PK, Cherian A. Relapse in Hansen's disease after multidrug therapy and its differential diagnosis with reversal reaction. *The Star*. 1991. 8-12.
8. Scollard DM, Smith T, Bhoopat L, Theetranont C, Rangdaeng S, Morens DM. Epidemiologic characteristics of leprosy reactions. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1994; 62(4): 559-67.
9. Waters MFR. Distinguishing between relapse and late reversal reaction in multidrug (MDT) treated BT leprosy. *Lep Rev*. 2001; 72(3): 250-3.
10. Shepard CC. The experimental disease that follows the injection of human leprosy bacilli into foot-pads of mice. *J. Exper. Med*. 1960; 112: 445-54.
11. Pettit JHS, Rees RJW. Sulfone resistance in leprosy. An experimental and clinical study. *Lancet* 1964; 2: 673.
12. Matsuoka M, Kashiwabara Y, Namisato M. A *Mycobacterium leprae* isolate resistant to dapsone, rifampin, ofloxacin and sparfloxacin. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 2000; 68 (4): 452-5.
13. Baohong J. Drug resistance in leprosy – a review. *Lep. Rev*. 1985; 56: 265-78.
14. Grosset JH. Study of 39 documented relapses of multibacillary leprosy after treatment with rifampin. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1989; 57: 607-14.
15. 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.
16. Kai M, Matsuoka M, Nakata N, Maeda S, Gidoh M, Maeda Y. Diaminodiphenylsulfone resistance of *Mycobacterium leprae* to mutation in the dihydropteroate synthase gene. *FEMS Microbiol Lett*. 199; 177(2): 231-5.
17. Honoré N, Cole ST. Molecular basis of rifampin resistance in *Mycobacterium leprae*. *Antimicrob agents chemother* 1993; 37: 414-8.
18. Williams DL, Gillis TP. Molecular detection of drug resistance in *Mycobacterium leprae*. *Lep Rev*. 2004; 75: 118-30.
19. WHO 1987. Laboratory Techniques for leprosy. World Health Organization, Geneva.
20. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica. 6 ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2005.
21. Kaimal S, Thappa DM. Relapse in leprosy. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2009; 75(2): 126-35.
22. Shetty VP, Wakade AV, Ghati S, Pai VV, Ganapati R, Antia N.H. Viability and drug susceptibility testing of *Mycobacterium leprae* using mouse foot pad in 37 relapse cases of leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 2002; 71 (3): 210-7.
23. Maeda S, Matsuoka M, Nakata N, Kai M, Maeda Y, Hashimoto K, et al. Multidrug resistant *Mycobacterium leprae* from patients with leprosy. *Antimicrob agents Chemother* 2001; 45(12): 3635-9.
24. Matsuoka M, Budiawan T, Aye KS, Kyaw K, Tan EV, Dela Cruz E, et al. *Lep Rev* 2007. 78: 343-52.
25. Matsuoka M, Kashiwabara Y, Liangfen Z, Goto M, Kitajima S. A second case of multidrug-resistant *Mycobacterium leprae* isolated from a Japanese patient with relapsed lepromatous leprosy. *Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis*. 2003; 71 (3): 240-3.
26. Zhang L, Namisato M, Matsuoka M. A mutation at codon 516 in the rpoB gene of *Mycobacterium leprae* confers resistance to rifampin. *Int J Lepr Other Mycobact Dis. Other Mycobact. Dis* 2004; 72(4): 468-72.
27. Diorio-Madeira S, Manini MIP, Trino LM, Sartori BGC, Opromolla DVA. Resistência a dapsona e rifampicina em *Mycobacterium leprae* isolado de pacientes portadores de hanseníase no Estado de São Paulo. *Hansen int* 2005; 30(1): 09-14.
28. World Health Organization. Leprosy Elimination: Research. Disponível em: <http://www.who.int/lep/research/en/>
29. Gelber RH, Balagon MVF, Cellona RV. The relapse rate in MB leprosy patients treated with 2-years of WHO-MDT is not low. *Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis* 2004; 72(4): 493-500.