

Resistência a dapsona e rifampicina em *Mycobacterium leprae* isolado de pacientes portadores de hanseníase no Estado de São Paulo

Resistance to dapsone and rifampin in *Mycobacterium leprae* isolated from leprosy patients of São Paulo State

Resumo

Os relatos de resistência a dapsona e rifampicina fizeram com que a Organização Mundial de Saúde preconizasse, em 1981, a poliquimioterapia para o tratamento da hanseníase. A prevenção da seleção de cepas mutantes resistentes às drogas é um de seus principais objetivos. A dapsona foi a primeira droga a ter comprovação experimental de resistência e isto só foi possível depois que a técnica de inoculação do bacilo em coxim plantar de camundongos foi padronizada em 1960. Critérios importantes a serem considerados para se suspeitar de resistência seriam recidivas em pacientes multibacilares já tratados, ou em tratamento, ou resposta clínica insatisfatória. Nosso estudo teve por objetivo detectar cepas resistentes à dapsona e rifampicina entre 40 pacientes tratados, com sinais clínicos de recidiva, procedentes de cidades do Estado de São Paulo e capital, utilizando a técnica de inoculação do bacilo em coxim plantar de camundongos. Foram observados bacilos resistentes à dapsona em 11 casos, sendo 05 de resistência total, 01 intermediária e 05 parcial. Bacilos resistentes à rifampicina foram observados em apenas 02 casos. Não se observou nenhum caso de resistência múltipla. O alto índice obtido de resistência à dapsona, provavelmente é decorrência de muitos anos de monoterapia sulfônica ou de seus derivados. No caso da rifampicina, provavelmente a droga foi utilizada de forma irregular, em monoterapia ou ainda, o paciente pode ter utilizado-a previamente para tratar outra moléstia. A detecção de bacilos resistentes entre pacientes que não melhoram clinicamente ou que recidivam após o tratamento, é uma questão importante a ser considerada na prevenção futura de novos casos de resistência. A emergência de cepas resistentes, especialmente à rifampicina, bem como a sua disseminação, pode trazer dificuldades ao tratamento do paciente e se constituir em ameaça aos programas de controle da hanseníase.

Palavras-chave: *Mycobacterium leprae*; resistência; dapsona; rifampicina

Recebido em 10/06/2005. Última correção em 19/07/05. Aceito em 02/09/2005

✉ Suzana Madeira Diório. Instituto Lauro de Souza Lima. Rod. Cmte. João R. Barros, km 226, Bauru/SP - Brasil. CEP 17034-971. micro@iisl.br

1 Trabalho realizado com apoio financeiro da Fundação Paulista contra a Hanseníase.

2 Bióloga, Pesquisadora Científica IV, chefe da Equipe Técnica de Microbiologia do Instituto Lauro de Souza Lima. Mestra em Doenças Tropicais. micro@iisl.br

3 Médica Dermatologista da Divisão de Hansenologia e Dermatologia Sanitária/SP. lmanini@terra.com.br

4 Biologista do Instituto Lauro de Souza Lima. lazaratrino@ig.com.br

5 Biologista do Instituto Lauro de Souza Lima. beatriz_sartori@yahoo.com.br

6 Médico Dermatologista, Hansenologista, Pesquisador Emérito do Instituto Lauro de Souza Lima.

Suzana Madeira Diório²
Marli Izabel Penteadó Manini³
Lazara Moreira Trino⁴
Beatriz Gomes Carreira Sartori⁵
Diltor Vladimir Araújo Opromolla⁶

Introdução

Os vários relatos de resistência secundária e primária a dapsona (DDS) e também a rifampicina (RFP) fizeram com que a Organização Mundial de Saúde (OMS) preconizasse, em 1981, um novo esquema terapêutico para o tratamento da hanseníase, - a poliquimioterapia (PQT). Além de curar o indivíduo e evitar o desenvolvimento de incapacidades, ela deveria atuar também na prevenção da seleção de cepas mutantes resistentes às drogas, especialmente entre pacientes multibacilares (MB)¹. Com um esquema parcialmente supervisionado e com doses fixas, a PQT tem contribuído de maneira notável para a cura da doença, reduzindo a taxa prevalência em cerca de 90%; no início de 2004 o número de pacientes sob tratamento no mundo era de 460.000². Apesar da comprovada eficácia do esquema, cepas resistentes a algumas das drogas que o compõem, têm emergido mesmo após vários anos de sua implantação.

Epidemiologicamente existem dois tipos de resistência: a secundária ou adquirida, resultante de um tratamento inadequado e geralmente acompanhada de melhora clínica inicial, com posterior piora, e o outro tipo, que é a primária, que se manifesta em indivíduos que ainda não receberam o tratamento. Neste caso, muito provavelmente, a infecção ocorreu a partir de bacilos provenientes de paciente com resistência secundária³.

As primeiras especulações sobre a questão da resistência começaram a surgir no final da década de 1940⁴. Nessa época, os derivados sulfônicos, como promim, diazona e DDS (4,4'-diaminodifenilsulfona), já estavam sendo utilizados, ainda que experimentalmente, no tratamento da doença.

A DDS foi a primeira droga a ter comprovação experimental de resistência e isto só foi possível depois que a técnica de inoculação do bacilo em coxim plantar de camundongos isogênicos foi padronizada por Shepard, em 1960⁵. Utilizando-se desta metodologia, Pettit *et al.*⁶ foram os primeiros a comprovar experimentalmente, em 1964, os primeiros casos de resistência do bacilo a DDS. Quando se fala em resistência, esta é a droga anti-hansênica mais importante, por ter

sido amplamente utilizada como monoterapia, durante mais de 30 anos. O padrão de resistência é definido como parcial (baixo), intermediário ou total (alto), dependendo da capacidade do bacilo de se multiplicar em camundongos tratados com 0,0001g%, 0,001g% ou 0,01g% de DDS respectivamente, na ração. A concentração de 0,01g% corresponde, no humano, a dose de 100mg.³

Muitos anos depois, mesmo com a implantação da PQT, vários relatos de resistência secundária e primária, não somente a DDS como também a RFP, clofazimina (CLO) e ofloxacina (OFLO), foram descritos em vários países⁷⁻¹².

O Instituto Lauro de Souza Lima tem realizado, desde 1986, estudos experimentais utilizando a técnica de inoculação em pata de camundongo técnica de Shepard. Costa *et al.*¹³ obtiveram um índice de 2,86% de resistência a DDS, ao avaliarem um grupo de 30 pacientes virchovianos provenientes do município de Bauru/SP e que constituíam grupo de risco para sulfono-resistência. Esse dado, embora significativo, não expressa a realidade epidemiológica da resistência em nosso meio e isso provavelmente porque as técnicas disponíveis para a detecção do bacilo resistente inoculação em coxim plantar de camundongos e biologia molecular - são dispendiosas e não estão disponíveis na grande maioria dos laboratórios.

Crítérios importantes a serem considerados para se suspeitar de resistência seriam recidivas em pacientes multibacilares já tratados, ou que estejam em tratamento, ou resposta clínica insatisfatória que mereça atenção por parte do clínico.

Nosso estudo teve por objetivo detectar cepas resistentes a DDS e RFP entre pacientes tratados, com sinais clínicos de recidiva, procedentes de cidades do Estado de São Paulo, utilizando a técnica de inoculação do bacilo em coxim plantar de camundongos.

Pacientes e Métodos

Pacientes: no período de 1994 a 2002, foram avaliados 40 pacientes (n = 40) com suspeita clínica de recidiva, de ambos os sexos, tratados e com diagnóstico clínico de hanseníase virchoviana (30) e dimorfo-virchoviana (10); todos apresentavam índice baciloscópico (IB) = 3+. Somente 29 pacientes tiveram o diagnóstico confirmado pela histopatologia. Em 22 casos o exame revelou quadro de doença em atividade ou progressão, em 01 reação de eritema nodoso, em 01 reação reversa, e em 05 doença em regressão. Os pacientes eram procedentes de cidades do interior do Estado de São Paulo e da capital e foram encaminhados pela rede pública do SUS; 09 foram atendidos na Divisão de Hansenologia e Dermatologia Sanitária/São Paulo e 31 no Instituto Lauro de Souza Lima/Bauru. Todos os pacientes relataram ter recebido algum tipo de tratamento (promin, diazona, dapsona, PQT-MB/OMS); dois pacientes não souberam informar quais medicamentos haviam utilizado. No momento da avaliação

clínica dermatológica, nenhum paciente estava recebendo tratamento para a doença. Foram incluídos no estudo somente os indivíduos que haviam concluído o tratamento há pelo menos 05 anos e que apresentavam novas lesões e IB positivo¹⁴. Todos foram examinados por um médico dermatologista para avaliação clínica dermatológica, coleta de biópsias e exame baciloscópico.

Biópsia: foram coletados dois fragmentos de lesão, sendo um encaminhado para exame histopatológico e, o outro, para inoculação no coxim plantar esquerdo de camundongos, para avaliar susceptibilidade às drogas. Processamento da biópsia para inoculação: o teste de susceptibilidade do bacilo a DDS e RFP foi realizado de acordo com a técnica de Shepard¹⁵. Brevemente, a biópsia foi triturada em um homogeneizador de tecidos contendo 2ml de solução salina balanceada de Hank's (HBSS 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. Todos os procedimentos foram realizados sob condições assépticas e em câmara de fluxo laminar.

Inoculação: 40 camundongos da linhagem BALB/c, jovens e de ambos os sexos, foram inoculados por via intradérmica, no coxim plantar traseiro esquerdo, com 104 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*.

Tempo de inoculação: os animais foram anestesiados e sacrificados por deslocamento cervical, 10 meses após a inoculação; o tecido do coxim plantar foi excisado e processado de acordo com o protocolo utilizado para a biópsia do paciente, com posterior contagem do número de bacilos.

Avaliação dos resultados: foi considerada multiplicação bacilar significativa o índice de = 105 bacilos/pata¹⁶. Os resultados foram interpretados como sensível somente quando ocorreu multiplicação bacilar no grupo controle; resistente, quando a multiplicação ocorreu no grupo controle e em qualquer animal que recebeu DDS ou RFP; e inconclusivo, quando não houve multiplicação bacilar em nenhum animal do grupo controle e tratados. A interpretação dos resultados para os casos de resistência a DDS está exposta no Quadro 1.

Quadro 1. Interpretação dos resultados de resistência do *Mycobacterium leprae* a dapsona (DDS)

Multiplicação bacilar em dieta com DDS			Tipos de resistência
0,01g%	0,001g%	0,0001g%	
+	+	+	Resistência total
- ^b	+	+	Resistência intermediária
-	-	+	Resistência parcial

^a $\geq 10^5$ bacilos/pata ^b $< 10^5$ bacilos/pata

Resultados

Entre dezembro de 1994 e maio de 2002, foram investigados 40 casos com suspeita clínica de recidiva que se constituíam em grupo de risco para resistência a drogas. Dos 40 casos investigados, 22 (22/40 = 55%) apresentaram resultados inconclusivos, ou seja, não houve multiplicação bacilar ($< 10^5$ bacilos/pata) no grupo controle (camundongos não tratados); 05 (05/40 = 12,5%) apresentaram bacilos sensíveis a DDS e RFP, com multiplicação bacilar somente no grupo controle (= 105 bacilos/pata). Resistência a DDS foi observada em 11 casos (11/40 = 27,5%), sendo 05 resistência total (5/11 = 45,4%), 01 intermediária (01/11 = 9,1%) e 05 parcial (5/11 = 45,4%). Bacilos resistentes a RFP foram observados em apenas 02 casos (02/40 = 5%). Não se observou nenhum caso de resistência múltipla (Tabela 1).

Tabela 1. Resultado do teste de susceptibilidade a DDS e RFP realizado mediante inoculação em coxim plantar de camundongos, entre 40 pacientes hansenianos do Estado de São Paulo, com suspeita clínica de recidiva

Susceptibilidade a drogas (n = 40)					
Resistente					
Dapsona					Rifampicina
Sensível ^a	Inconclusivo ^b	0,01g%	0,001g%	0,0001g%	10mg/kg
05	22	05	01	05	02

^a Multiplicação bacilar somente no grupo controle.

^b Ausência de multiplicação bacilar no grupo controle.

O perfil dos pacientes que apresentaram bacilos resistentes a DDS ou RFP está descrito na Tabela 2. As informações foram obtidas a partir de consulta em prontuários médicos. Algumas destas, como a terapêutica, não estavam bem claras porque a maioria dos pacientes foi encaminhada por diferentes unidades de saúde, para atendimento no Instituto Lauro de Souza Lima. Além disso, em alguns casos, o próprio paciente não soube informar ao médico, com segurança, o nome do(s) medicamento(s) utilizado(s). Apenas os casos de número 5, 11 e 12 já haviam utilizado o esquema PQT/MB/24 - OMS, sendo 02 irregularmente

e 01 regular; os demais utilizaram promin, diazona e DDS. Os casos 1,2,3,4,5,7, 8 e 11 tiveram diagnóstico histopatológico de doença em atividade ou progressão. O período de tempo decorrido entre o início da doença (relato do paciente) e o momento da recidiva variou de 07 a 59 anos; todos pacientes estavam em alta por cura ou "branqueados".

Tabela 2. Perfil dos pacientes com suspeita clínica de recidiva que apresentaram bacilos resistentes a DDS ou RFP me diante inoculação em coxim plantar de camundongos.

Nº	Sexo	Forma clínica	Início da doença (ano) ^a	Tempo de evolução (ano) ^b	Terapêutica	Resistência
1	F	V	1947	51	PR, DDS	DDS - P
02	F	V	1945	53	DI	DDS - P
03	M	V	NR	15*	NR	DDS - P
04	M	V	1969	32	DDS	DDS - T
05	M	V	1943	59	DDS, PQT/R	DDS - T
06	M	V	1972	23	NR	DDS - T
07	F	V	1941	54	NR	DDS - P
08	M	V	1947	48	PR, DI, DDS/IR	DDS - T
09	F	V	NR	7*	NR	DDS - P
10	F	V	1954	42	PR, DDS	DDS - T
11	M	V	1947	50	PR, DI, PQT/IR	DDS - I
12	M	V	1979	21	PQT/IR	RFP
13	F	V	1970	27	NR	RFP

^a Relato do paciente, ^b tempo de evolução da doença até a recidiva, *tempo aproximado, NR = não relatado, F = feminino, M = masculino, V= virchoviano, T= total, P= parcial, I= intermediária, PR= promin, DI= diazona, R= regular, IR= irregular.

Discussão

Um dos grandes problemas no tratamento de pacientes com doenças infecciosas crônicas, como tuberculose e hanseníase, é manter a regularidade na ingestão dos medicamentos. Em muitos casos, o tratamento é interrompido definitivamente, ou realizado com freqüentes interrupções e dosagens insuficientes. Opromolla *et al.*¹⁷, ao avaliarem quatro casos de resistência múltipla secundária, observaram que, em todos eles, os pacientes haviam recebido tratamento inadequado, resultando, muito provavelmente, na resistência do bacilo ao medicamento. A irregularidade no tratamento é um dos principais fatores que levam à resistência dos microrganismos às drogas utilizadas.

Em nível molecular a detecção 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 dessas 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). Na maioria dos casos, os organismos resistentes produzem a DHPS de forma alterada, a qual continua a catalisar a reação de condensação do ácido para-aminobenzóico (PABA) e do 7,8-dihidro-6-hidroximetilpterina-pirofosfato em dihidropteroato, mas é refratária à inibição pelas sulfonamidas¹⁸⁻²⁰.

O alto índice obtido, de 27,5% de resistência a DDS, provavelmente é decorrência de anos de monoterapia sulfônica ou de seus derivados. Observando a Tabela 2, podemos verificar que a grande maioria dos indivíduos foi diagnosticada antes da implantação da PQT; quando esta foi implantada, a taxa de prevalência da sulfono-resistência era de 40 a 45%³. Em 1986, quando a PQT começou a ser utilizada no Brasil, foi recomendado que aqueles pacientes com baciloscopia negativa e que tivessem sido tratados por mais de cinco anos com o antigo esquema da Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária (DNDS) (DDS 100mg/dia + RFP 600mg/dia por 3 meses e a continuação com a DDS isolada para os casos virchovianos e dimorfos), deveriam receber alta. Os outros, que haviam feito somente o tratamento com DDS em regime monoterápico, deveriam receber a PQT/OMS mesmo com a baciloscopia negativa. No entanto, muitos desses pacientes e alguns que ainda apresentavam lesões em atividade clínica e baciloscópica, negaram-se a seguir as novas recomendações¹⁷. Hoje, duas décadas após a implantação da PQT, não é muito surpreendente encontrar cepas de *M. leprae* resistentes, especialmente a DDS.

Em nosso estudo, 5/11 (45,4%) dos indivíduos apresentaram bacilos resistentes ao nível mais alto de concentração de DDS; 1/11 (9,1%), a concentração intermediária; e 5/11 (45,4%), a menor concentração da droga (Tabela 1). Os indivíduos que apresentaram bacilos com resistência em níveis intermediário e parcial, provavelmente receberam doses mais baixas da droga ou fizeram tratamento irregular. Antes da implantação da PQT, a experiência clínica mostrava que pacientes infectados com cepas de *M. leprae* resistentes às menores concentrações de DDS na ração respondiam ao tratamento monoterápico com a droga, o que sugere que os resultados de resistência poderiam ser decorrentes de limitações da técnica de inoculação em coxim plantar de camundongos, perdendo esta o seu valor clínico. Com os recentes avanços nos estudos moleculares que envolvem os mecanismos de resistência do bacilo a DDS, Gillis *et al.*⁹ chamaram a atenção para as cepas que apresentavam níveis baixos ou moderados de resistência, pois estas poderiam representar "mutantes" que rapidamente desenvolveriam resistência ao nível mais alto de DDS, a partir da seleção de mutações no gene *folP1*. Assim, qualquer cepa do *M. leprae* que tenha se multiplicado no coxim

plantar de camundongo tratado com DDS na concentração de 0,0001g%, deverá ser considerada resistente¹⁶.

No que se refere à RFP, seu uso no tratamento da hanseníase teve início na década de 1970. Após a experiência com anos de monoterapia sulfônica, esperava-se que a RFP fosse utilizada com mais critério. No entanto, isso não aconteceu e, em 1976, foram relatados os dois primeiros casos de resistência²¹. Posteriormente, outros trabalhos relataram novos casos em pacientes tratados em esquema de monoterapia²²⁻²⁴.

As bases genéticas de resistência do *M. leprae* a RFP têm sido estudadas desde a década de 1990. Uma mutação em um pequeno segmento do gene *rpob*, 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 camundongo²⁵.

Ao contrário da DDS, a RFP tem alto poder bactericida, podendo, em poucos dias, após a ingestão de uma única dose de 600mg, matar cerca de 99,9% dos bacilos em um indivíduo anteriormente não tratado. Porém, quando utilizada em monoterapia, o processo de resistência pode ocorrer mais rapidamente do que com a DDS³. Em nosso estudo, observamos bacilos resistentes a RFP em apenas 2/40 (5%) casos (Tabela 1). O primeiro deles relatou ter tomado, em 1990, RFP por três meses, e DDS, irregularmente (Tabela 2). Acredita-se que, com a irregularidade no tratamento, os bacilos que eram resistentes a RFP, porém sensíveis a DDS, não puderam ser eliminados, mantendo desta forma a doença em atividade. O segundo paciente relatou apenas que foi tratado durante quatro anos - início da década de 1970 - mas não soube informar com qual ou quais medicamento(s) fizera uso. Neste caso, a resistência poderia ser resultado de tratamento prévio com a droga, para algum outro tipo de infecção; nessa época, a RFP ainda estava sendo introduzida no tratamento da hanseníase.

Os resultados inconclusivos (22/40 - 55%) ausência de multiplicação bacilar no grupo controle podem ser decorrência de uma limitação da técnica de Shepard²⁶; a alta porcentagem de resultados inconclusivos também tem sido relatada por outros autores^{11,27-29}. Uma outra possibilidade poderia ser a ausência de bacilos viáveis no fragmento de biópsia coletado do paciente.

Quanto à existência de cepas sensíveis em pacientes com mais de cinco anos de tratamento, e ainda com índice bacilar = 3+, uma explicação possível poderia ser a persistência de bacilos vivos. O fenômeno da persistência bacilar ocorre tanto na hanseníase como na tuberculose e tem como consequência as recidivas, as quais comprometem o

sucesso do tratamento. Durante a terapêutica, a população bacteriana susceptível é morta, mas uma pequena parcela desta mesma população torna-se metabolicamente dormente e continua a sobreviver como organismos persistentes³⁰. Em 1976, Levy³¹ relatou que bacilos persistentes poderiam ser causa de falha terapêutica, principalmente nos casos tratados em regime de monoterapia, incluindo DDS, CLO e RFP. Em pacientes tratados com monoterapia sulfônica, esses bacilos, que não são resistentes às drogas, podem persistir por até 10 a 12 anos de tratamento contínuo.

É importante salientar que, embora resistência e persistência bacilar possam levar a falha terapêutica, elas são fenômenos bem distintos.

Conclusão

A detecção de bacilos resistentes entre pacientes que não melhoram clinicamente ou que recidivam após o tratamento, é uma questão importante a ser considerada na prevenção de novos casos de resistência, principalmente da primária. Além disso, um paciente multibacilar com doença ativa, mesmo após tratamento, torna-se novamente fonte de infecção para a doença. Embora não tenha ocorrido nenhum caso de resistência múltipla, essa é uma possibilidade que não pode ser desconsiderada, uma vez que já existem casos relatados. A emergência de cepas resistentes, especialmente à RFP, bem como a sua disseminação, pode trazer dificuldades ao tratamento e se constituir em uma séria ameaça aos programas de controle da hanseníase. A confirmação experimental dos casos suspeitos de resistência também é importante para auxiliar na escolha do tratamento alternativo a ser administrado e em último caso, descartar a possibilidade de bacilos persistentes.

Agradecimentos:

A toda equipe de Dermatologistas e Médicos Residentes do Instituto "Lauro de Souza Lima"/Bauru e Divisão de Hansenologia e Dermatologia Sanitária/SP pelas avaliações clínicas dos pacientes e coleta das biópsias, e aos funcionários do Laboratório de Hanseníase Experimental do Instituto "Lauro de Souza Lima" pelo apoio técnico.

Abstract

In 1981, reports of resistance to dapsona and rifampin led WHO to recommend multidrugtherapy in leprosy treatment. One of its main goals is preventing the selection of drug-resistant strains of mutant bacteria. Dapsona was the first drug which was experimentally proved to induce resistance; this

became possible only after the mouse foot pad inoculation technique was standardized, in 1960. There are some important criteria to suspect the existence of resistance, such as: relapses in multibacillary patients already treated or undergoing treatment or unsatisfactory clinical response. Our study aimed at detection of dapsona and rifampin resistant strains among 40 treated patients with clinical signs of relapse, from different cities of São Paulo State and its capital, employing the mouse footpad inoculation. We detected dapsona resistant *bacilli* in 11 cases. Among them, 5 showed total resistance, 1 intermediary resistance and 5 partial resistance. Rifampin resistant *bacilli* were detected in only two cases. We did not detect any case of multiple resistance. The high level of resistance to dapsona is probably a consequence of many years of sulfone and sulfone derivative monotherapy. As for the rifampin, the drug was probably irregularly used in monotherapy; or the patient may have used it previously to treat another disease. The detection of resistant *bacilli* in patients who do not show any clinical improvement, or relapse after treatment, is an important matter to be considered in the future prevention of new cases of resistance. The emergence of resistant strains, especially to rifampin, as well as its dissemination, may cause difficulties to the patients's treatment and jeopardize the leprosy control programs.

Key words: *Mycobacterium leprae*; drug resistance; dapsona; rifampin

Referências

- 1 World Health Organization Study Group. Chemotherapy of leprosy for control programs. Report. Geneva; 1982. (WHO - Technical Report Series. Geneva, 675).
- 2 World Health Organization. [homepage on the internet]: Elimination of Leprosy as a Public Health Problem [updated 2005 March]. Disponível em: <http://www.who.int/lepr/>
- 3 Ji B. Drug resistance in leprosy - a review. *Lepr rev* 1985; 56: 265-78.
- 4 Floch H. La sulfono-résistance du Bacille de Hansen. *Archives de L'Institut Pasteur de la Guyane Française et de L'Inini* 1957; 18: 1-9, publicação nº 429.
- 5 Shepard CC. The experimental disease that follows the injection of human leprosy bacilli into foot pads of mice. *J exp med* 1960; 112: 445-57.
- 6 Pettit JHS, Rees RJW. Sulfone resistance in leprosy. An experimental and clinical study. *Lancet* 1964; 2: 673-4.
- 7 Guinto RS, Cellona RV, Fajardo, TT, Cruz EC. Primary dapsona-resistant leprosy in Cebu, Philippines. *Int j lepr other mycobact dis* 1981; 49(4): 427-30.

- 8 Matsuoka M, Kashiwabara Y, Namisato M. A *Mycobacterium leprae* isolate resistant to dapsone, rifampin, ofloxacin and sparflaxacin. *Int j lepr other mycobact dis* 2000; 68 (4): 452-55.
- 9 Gillis TP, Williams DL. Dapsone resistance in *Mycobacterium leprae*. *Lepr rev*, Workshop Proceedings 2000; 71(1), Suppl S91-5.
- 10 Cambau E, Bonnafous P, Perani 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: 39-45.
- 11 Sekar B *et al.* Drug susceptibility of *Mycobacterium leprae*: a retrospective analysis of mouse foot pad inoculation results from 1983 to 1997. *Lepr rev* 2002; 73: 239-44.
- 12 Shetty VP, Wakade AV, Ghatge S, Pai VV, Ganapati R, Antia NH. 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): 210-17.
- 13 Costa HC, Opromolla DVA, Madeira S, Marques FB, Martelli ACC, Ura S. Prevalência de sulfono resistência em pacientes hansenianos do município de Bauru, Estado de São Paulo. *Hansen int* 1993; 18(1/2): 5-10.
- 14 World Health Organization - Dapsone-resistant leprosy - The THELEP Approach. *Int j lepr other mycobact dis* 1981; 49(4): 421-25.
- 15 World Health Organization. *Laboratory Techniques for Leprosy*. Geneva: WHO; 1987.
- 16 Ji B. Drug susceptibility testing of *Mycobacterium leprae*. *Int j lepr other mycobact dis* 1987; 55(4) Suppl 830-35.
- 17 Opromolla DVA, Costa HC, Oliveira PRD. Resistência medicamentosa múltipla secundária na hanseníase. *Hansen int* 1993; 18(1/2): 11-6.
- 18 Dallas WS, *et al.* Cloning, sequencing and enhanced expression of the dihydropteroate synthase gene of *Escherichia coli* MC 4100. *J bacteriol* 1992; 174(18): 5961-70.
- 19 Fermer C, Swedberg G. Adaptation to sulfonamide resistance in *Neisseria meningitidis* may have required compensatory changes to retain enzyme function: kinetic analysis of Dihydropteroate synthase from *Neisseria meningitidis* expressed in a knockout mutant of *Escherichia coli*. *J bacteriol* 1997; 179(3): 831-37.
- 20 Lopez P, Espinosa M, Greenberg B, Sacks, S A. Sulfonamide resistance in *Streptococcus pneumoniae*: DNA sequence of the gene encoding dihydropteroate synthase and characterization of the enzyme. *J bacteriol* 1987; 169(9): 4320-26.
- 21 Jacobson RR, Hastings RC. Rifampin resistant leprosy. (Letter) *Lancet* 1976; ii:1304-5.
- 22 Jacobson RR. Final report of the WHO regional working group on drug policy and operational research in the leprosy programme; Manila, Philippines; 1981; 10.
- 23 Guelpa-Lauras CC, Grosset JH, Constant- Deportes M, Brucker G. Nine cases of rifampicin resistant leprosy. *Int j lepr other mycobactdis* 1984; 52:101-2.
- 24 Grosset JH *et al.* Study of 39 documented relapses of multibacillary leprosy after treatment with rifampin. *Int j lepr other mycobact dis* 1989; 57: 607-14.
- 25 Honoré N, Cole ST. Molecular basis of rifampin resistance in *Mycobacterium leprae*. *Antimicrob agents chemother* 1993; 37: 414-18.
- 26 Levy L. Multiplication of *Mycobacterium leprae* in normal mice. *Int j lepr other mycobact dis* 1987; 55(4)Suppl 814-18.
- 27 Gupta UD, Katoch K, Singh HB. Assessment of viability by normal MFP and bacillary ATP bioluminescence assay in multibacillary cases treated with an MDT using conventional as well as newer drugs like minocycline and ofloxacin. *Indian j lepr* 2000; 72: 437- 42.
- 28 Subcommittee on clinical trials of the chemotherapy of leprosy (THELEP). Scientific working group of the UNDP/World Bank/WHO special programme for research and training in tropical disease. The THELEP controlled clinical drug trials. *Int j lepr other mycobact dis* 1987; 55: 864-71.
- 29 Almeida JG, Chacko CJG, Christian M. The significance of dapsone (DDS)- resistant *Mycobacterium leprae* in untreated patients. *Int j lepr other mycobact dis* 1983; 51: 374-77.
- 30 Gupta UD, Katoch VM. Understanding the phenomenon of persistence in mycobacterial infections. *Indian j lepr* 1997; 69(4):385-93.
- 31 Levy L. Treatment failures in leprosy. *Int j lepr other mycobact dis* 1976; 44:177-82.