

Ministério da Saúde

FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular**

*Yrneh Yadamis Prado Palácios*

**Detecção e variabilidade genética de *Mycobacterium leprae* numa região altamente endêmica para hanseníase e avaliação de fatores associados a transmissão recente.**

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Celular e Molecular.

**Orientador (es):** Prof. Dr. Philip Noel Suffys  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sidra E. G. Vasconcellos

**RIO DE JANEIRO**

2022

Prado Palacios, Yrneh Yadamis.

Detecção e variabilidade genética de *Mycobacterium leprae* numa região altamente endêmica para hanseníase e avaliação de fatores associados a transmissão recente. / Yrneh Yadamis Prado Palacios. - Rio de Janeiro, 2022. 228 f.; il.

Dissertação (Mestrado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, 2022.

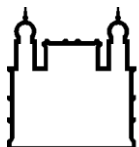
Orientador: Philip Noel Suffys.

Orientadora: Sidra E. G. Vasconcellos.

Bibliografia: f. 164-199

1. Hanseníase . 2. *Mycobacterium leprae* . 3. Variabilidade genética. 4. Fatores associados a transmissão recente. 5. Região altamente endêmica do Brasil . I. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da Biblioteca de Manguinhos/Icict/Fiocruz com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Igor Falce Dias de Lima - CRB-7/6930.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular**

***Yrneh Yadamis Prado Palacios***

**Detecção e variabilidade genética de *Mycobacterium leprae* numa região altamente endêmica para hanseníase e avaliação de fatores associados a transmissão recente**

**ORIENTADOR (ES): Prof. Dr. Philip Noel Suffys**

**Profª. Dra. Sidra E. G. Vasconcellos**

**Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_**

**EXAMINADORES:**

**Prof. Dr. Milton Ozório Moraes – Presidente – IOC/Fiocruz/RJ.**

**Profª. Drª. Mácia de Berrêdo Pinho Moreira – Revisor - IOC/Fiocruz/RJ.**

**Profª. Drª. Maria Cristina Vidal Pessolani – Membro - IOC/Fiocruz/RJ.**

**Profª. Drª. Ida Maria Foschiani Dias Baptista – Membro – Instituto Lauro de Sousa Lima/Bauru/SP.**

**Profª. Drª. Michelle Christiane da Silva Rabello – Suplente – Instituto Aggeu Magalhães/IAM/Fiocruz/Pernambuco.**

**Profª. Drª. Mácia de Berrêdo Pinho Moreira- Suplente - IOC/Fiocruz/RJ.**

Rio de Janeiro, 27 de abril de 2022

## **Dedicatória**

Gracias Mami, Papi, Hermanito, Titi e Mimi los amo;

Este trabalho e todo este esforço é dedicado principalmente a Deus, meus pais e família por estarem presentes em todas as etapas da minha vida;

Ao meu namorado Jose G. Viña Martin que, com amor, compreensão e às vezes bronca, me incentivou a seguir em frente com minha vida, apesar de meus medos e ansiedade;

Ao meu grande amigo o Dr. Jacobus, por confiar em mim e me permitir vir a este país maravilhoso que só me trouxe oportunidades;

Ao Laboratório de Biologia Molecular Aplicada a Micobactérias – LABMAM, do Instituto Oswaldo Cruz e meus orientadores: o Dr. Philip e a Dr. Sidra, por confiarem em mim, me desafiarem e me apoiarem no desenvolvimento deste complexo trabalho;

Ao Dr. Harrison por suas conversas agradáveis, conselhos e recomendações sábias desde que cheguei ao LABMAM;

À Dra. Amanda Nogueira Brum Fontes, por iniciar este interessante e maravilhoso projeto de grande impacto para os pacientes de hanseníase que fizeram parte deste estudo;

Aos pacientes que fizeram parte deste estudo, que com sua colaboração tornaram possível os resultados deste estudo e com as quais espero ter contribuído para o início do entendimento desta complexa doença na cidade de Recife-Pernambuco;

À minha atual chefe do Laboratório de Bacteriologia e Bioensaios, Dra. Cristina Lourenço, que me apoiou e me compreendeu durante a finalização deste projeto, bem como aos meus maravilhosos colegas de trabalho;

À Dra. Emilyn Costa por suas amáveis palavras, compreensão, conhecimento e ajuda inestimável;

À minha amiga a Dra. Cristina Arizaleta e minha parceira de laboratório Rebecca Nicacio, que me ouviram sempre que precisei e me apoiaram e incentivaram durante a realização deste trabalho;

E a todos que de uma forma ou de outra me apoiaram nesse processo para finalizar essa etapa da minha vida.

## **Agradecimentos**

Ao programa de Pós-graduação *stricto sensu* em Biologia Celular e Molecular da Fundação Oswaldo Cruz;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq);

Ao laboratório de Biologia Molecular Aplicado a Micobactérias (LABMAM);

À Dra. Amanda Nogueira Brum Fontes por iniciar este maravilhoso trabalho;

Aos integrantes do Laboratório de Hanseníase do Instituto Oswaldo Cruz (LAHAN);

Aos integrantes do laboratório de Imunogenética – Departamento de Imunologia – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – FIOCRUZ/PE e o LAHAN;

Aos integrantes do laboratório de Geoprocessamento do Instituto Evandro Chagas.

À Dra. Ismari Perini Furlaneto pelas análises estatísticas.

À Dra. Márcia Berredo Pinho pela grande disponibilidade de ser a revisora deste trabalho;

E a todos os doutores que conformam minha banca de arguição.

## Índice

Lista de Símbolos e Abreviaturas	VIII
Lista de Quadros e Tabelas	IX
Lista de Figuras e Anexos	X
RESUMO	XII
ABSTRACT	XIII
<i>CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO</i>	14
1. A hanseníase	14
1.1. Aspectos clínicos da doença	14
1.2. Estados reacionais na hanseníase	17
1.3. A transmissão da hanseníase	17
1.4. O diagnóstico da doença	18
1.5. Recidiva e reinfeção na hanseníase	19
1.6. Tratamento da hanseníase	20
1.6.1. Profilaxia	22
1.6.2. Resistência medicamentosa	23
2. Epidemiologia da hanseníase	28
2.1. Epidemiologia da hanseníase no mundo	28
2.2. A hanseníase no Brasil	29
2.3. A hanseníase no estado do Pernambuco	34
2.4. A hanseníase no Recife	42
3. Agentes etiológicos da hanseníase	48
3.1. Epidemiologia molecular, filogenia e genotipagem	49
3.2. Variabilidade genética de <i>M. leprae</i> no Brasil	54
4. Geoprocessamento e análise espacial	56
<i>CAPÍTULO II – JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS</i>	60
2.1. Justificativa do trabalho	60
2.2. Objetivo geral	61
2.3. Objetivos específicos	61
<i>CAPÍTULO III – MATERIAIS E MÉTODOS</i>	62
3.1. Delineamento do estudo	62
3.2. Tipo de Estudo	63
3.3. Considerações éticas	63
3.4. Amostragem	63
3.5. Extração de DNA	64
3.6. PCR quantitativo em Tempo Real (qPCR)	65
3.7. MLVA ( <i>Multiple-locus Variable Number Tandem Repeat Analysis</i> )	65
3.7.1. PCR multiplex	65
3.7.2. Eletroforese em gel de agarose	67
3.7.3. Análise de fragmentos	67
3.7.4. Análise dos resultados de MLVA	67
3.8. Análises estatísticas	68
3.9. Geoprocessamento e análise espacial	68
<i>CAPÍTULO IV – RESULTADOS</i>	70
4.1. Caracterização clínico-epidemiológico da população de hansenianos do estudo	70
4.2. qPCR	84
4.2.1. Detecção e confirmação do diagnóstico	84
4.3. MLVA	86
4.3.1. Amplificação e diversidade alélica	86
4.3.2. Análise de grupos ( <i>clusters</i> ) genéticos relacionados	89
4.3.2.1. Características clínico-epidemiológicas dos pacientes considerando 16/17 loci	89
4.3.2.2. Definição dos <i>clusters</i> para as análises com 16/17 VNTRs	91

<b>4.3.3. Análise considerando 13 VNTRs</b>	<b>101</b>
<b>4.3.3.1. Características clínico-epidemiológicas considerando 13 VNTRs</b>	<b>101</b>
<b>4.3.3.2. Análises de geolocalização considerando o estudo de 13 VNTRs</b>	<b>139</b>
<i>CAPÍTULO V – DISCUSSÃO</i>	<b>148</b>
<i>CAPÍTULO VI – CONCLUSÕES</i>	<b>161</b>
<i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	<b>164</b>
<i>ANEXOS</i>	<b>200</b>

## Lista de Símbolos e Abreviaturas

- BAAR** – Bacilos álcool ácido resistente
- BB** – Borderline borderline
- BL** – Bordeline lepromatoso
- BT** – Bordeline tuberculóide
- CFZ** – Clofazimina
- DDS** – Dapsona
- DS** – Distritos de Saúde
- DNA** – Ácido desoxirribonucleico
- EI** – Esfregações Intradérmicos
- GERES** – Gerências regionais de saúde
- HGDI** – Índice discriminatório de Hunter-Gaston
- IB** – Índice baciloscópico
- IFN** – Interferon
- kDa** – Quilodalton
- LL** – Lepromatoso lepromatoso
- MB** – Multibacilar
- MIRU** – Unidades repetitivas intercaladas de micobactérias
- MLVA** – Análise de múltiplos-lócus variáveis
- MST** – Árvore geradora mínima
- OMS** – Organização Mundial da Saúde
- PB** - Paucibacilar
- PCR** – Reação da polimerase em cadeia
- PQT** – Poliquimioterapia
- qPCR** - Reação da polimerase em cadeia em tempo real
- RIF** – Rifampicina
- R/R** – Recidiva/Reinfecção
- Rr** – Reação reversa
- SDS** – Dodecil sulfato de sódio
- SNP** – Polimorfismo de base única
- STR** – Repetições pequenas em *tandem*
- TB** – Tuberculose
- T CD4+** – Linfócitos T auxiliar
- TE** – Tris-EDTA
- TCLE** – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- TNF** – Fator de necrose tumoral
- TT** – Tuberculóide tuberculóide
- VNTR** – Repetição em *tandem* de número variável



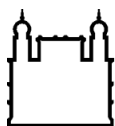
## Lista de Quadros e Tabelas

Quadro 1.1. Índice Bacilosκόpio (IB) projetado para 100 campos microscópicos (adaptado de Redley e Joplin, 1962).	16
Quadro 1.2. Poliquimioterapia preconizada pelo Ministério da Saúde para o tratamento da hanseníase (CONITEC, 2020).	21
Quadro 1.3. Possíveis combinações de tratamentos para hanseníase resistente a medicamentos (CONITEC, 2020).	22
Quadro 1.4. Comparação com os casos brasileiros e casos globais de acordo com os resultados da vigilância para resistência a rifampicina, dapsona e ofloxacina para o período de estudo 2009-2015 (OMS, 2019).	25
Quadro 1.5. Distribuição de municípios que compõem cada uma das gerências regionais de saúde (BRASIL- Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco, 2016).	58
Quadro 3.1. Iniciadores utilizados, tamanho dos fragmentos e cor dos fluoróforos associados, esperados após amplificação para a referência <i>M. leprae</i> - NHDP	66
Quadro 4.1. Características e genótipos dos isolados em cluster e isolados com variações de um, dois ou três loci em análises com 16/17 VNTR.	93
Quadro 4.2. Número de cópias observados nos quatro <i>loci</i> principais que separam os dois ramos.	96
Tabela 4.1. Distribuição dos pacientes de acordo com a Gerência Regional de Saúde do estado de Pernambuco.	73
Tabela 4.2. Perfil epidemiológico dos 709 pacientes do estudo.	74
Tabela 4.3. Perfil epidemiológico dos 709 pacientes segundo o Índice Bacilosκόpio.	76
Tabela 4.4. Estratificação dos pacientes de acordo a classificação terapêutica.	79
Tabela 4.5. Fatores epidemiológicos dos 709 pacientes de acordo com a classificação terapêutica para os casos de falha terapêutica.	82
Tabela 4.6. Fatores epidemiológicos dos 709 pacientes de acordo com a classificação terapêutica para os casos de recidiva/reinfecção.	83
Tabela 4.7. Positividade da qPCR em esfregaços intradérmico, estratificados de acordo com a classificação bacteriológica.	84
Tabela 4.8. Positividade da qPCR em esfregaços intradérmico, estratificados em pacientes com $IB \leq 2$ e pacientes com $IB > 2$ .	85
Tabela 4.9. Positividade da qPCR em esfregaços intradérmico, estratificados de acordo com intervalos dos valores IB.	85
Tabela 4.10. Análises de Kappa para os resultados de IB vs. qPCR.	85
Tabela 4.11. Diversidade alélica dos 16/17 VNTRs empregados no MLVA.	87
Tabela 4.12. Relação entre o número de <i>loci</i> amplificados e o IB.	88
Tabela 4.13. Distribuição dos pacientes com 16/17 VNTRS segundo a classificação pelo IB da hanseníase e as variáveis epidemiológicas.	90
Tabela 4.14. Distribuição dos pacientes com resultados para 13 VNTR segundo a classificação operacional da hanseníase e as variáveis epidemiológicas.	104
Tabela 4.15. Frequências de algumas características dos Genótipos para os <i>Cluster</i> obtidos com 13 VNTR.	105
Tabela 4.16. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram em <i>cluster</i> e não <i>cluster</i> a partir das análises com 13 VNTR.	106
Tabela 4.17. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram no <i>cluster</i> 01 e os pacientes que não estão em <i>cluster</i> , a partir das análises com 13 VNTR.	109
Tabela 4.18. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram no <i>cluster</i> 01 e os pacientes restantes que estão ou não em <i>cluster</i> , a partir das análises com 13 VNTR.	110
Tabela 4.19. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram no <i>cluster</i> 09 e os pacientes que não estão em <i>cluster</i> , a partir das análises com 13 VNTR.	113
Tabela 4.20. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram no <i>cluster</i> 09 e os pacientes restantes que estão ou não em <i>cluster</i> , a partir das análises com 13 VNTR.	114
Tabela 4.21. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram no <i>cluster</i> 10 e os pacientes que não estão em <i>cluster</i> , a partir das análises com 13 VNTR.	117
Tabela 4.22. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram no <i>cluster</i> 10 e os pacientes restantes que estão ou não em <i>cluster</i> , a partir das análises com 13 VNTR.	118
Tabela 4.23. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram no <i>cluster</i> 11 e os pacientes que não estão em <i>cluster</i> , a partir das análises com 13 VNTR.	121
Tabela 4.24. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram no <i>cluster</i> 11 e os pacientes restantes que estão ou não em <i>cluster</i> , a partir das análises com 13 VNTR.	122
Tabela 4.25. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram nos <i>clusters</i> 10 e 11 e os pacientes que não estão em <i>cluster</i> , a partir das análises com 13 VNTR.	125
Tabela 4.26. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram nos <i>clusters</i> 10 e 11 e os pacientes restantes que estão ou não em <i>cluster</i> , a partir das análises com 13 VNTR.	126

## Lista de Figuras e Anexos

Figura 1.1. Filogenia de <i>M. leprae</i> . Árvore de máxima parcimônia de 154 genomas de <i>M. leprae</i> (Benjak e col., 2018).	27
Figura 1.2. Prevalência global de Hanseníase de 2014 a 2019 (dados OMS, 2019).	28
Figura 1.3. Distribuição dos casos novos de Hanseníase em 2019.	29
Figura 1.4. Taxa de detecção geral de casos novos de Hanseníase por 100.000 habitantes segundo região de residência. Brasil, 2010 a 2019. (Boletim Epidemiológico, 2021).	30
Figura 1.5. Taxa de detecção geral de casos novos de Hanseníase por 100.000 habitantes segundo Unidade da Federação e capital de residência. Brasil 2019. (Boletim Epidemiológico, 2021).	31
Figura 1.6. Proporção de casos novos multibacilares entre o total de casos novos segundo região de residência. Brasil, 2010 a 2019. (Boletim epidemiológico, 2021).	31
Figura 1.7. Proporção de casos novos de Hanseníase segundo sexo e faixa etária. Brasil, 2015 a 2019. (Boletim Epidemiológico, 2021).	32
Figura 1.8. Taxa de detecção de casos novos de Hanseníase em menores de 15 anos por 100.000 habitantes segundo região de residência. Brasil, 2010 a 2019. (Boletim epidemiológico, 2021).	33
Figura 1.9. Número total de casos novos de Hanseníase e em menores de 15 anos segundo Unidade de Federação de residência. Brasil, 2020. (Boletim epidemiológico, 2021).	34
Figura 1.10. Distribuição territorial, indicando com cores as proporções de população dos municípios do estado de Pernambuco (IBGE, 2020).	35
Figura 1.11. Número e proporção de casos novos de Hanseníase segundo raça/cor no estado de Pernambuco (Brasil, 2013).	36
Figura 1.12. Número e proporção de casos novos de Hanseníase segundo escolaridade no estado de Pernambuco (Brasil, 2013).	37
Figura 1.13. Número e taxa de detecção geral no estado de Pernambuco e taxa de detecção geral segundo capital Recife, de casos novos de Hanseníase por 100.000 habitantes (Brasil, 2013).	38
Figura 1.14. Número e taxa de detecção de casos novos de Hanseníase em menores de 15 anos por 100.000 habitantes no estado de Pernambuco (Brasil, 2020).	39
Figura 1.15. Número e taxa de casos novos de Hanseníase com grau 2 de incapacidade física por 1 milhão de habitantes no estado de Pernambuco (Brasil, 2013; Brasil, 2020).	39
Figura 1.16. Proporção de casos novos de Hanseníase com grau 2 de incapacidade física no momento do diagnóstico para o estado de Pernambuco (Brasil, 2013; Brasil, 2020).	40
Figura 1.17. Número e proporção de casos novos de Hanseníase multibacilares entre todos os casos novos no estado de Pernambuco (Brasil, 2013; Brasil, 2020).	40
Figura 1.18. Número e proporção de casos de Hanseníase segundo modo de entrada no estado de Pernambuco entre os anos 2012 até 2019 (Brasil, 2013; Brasil, 2020).	41
Figura 1.19. Percentual de cura nas coortes de casos novos de Hanseníase no estado de Pernambuco (Brasil, 2013; Brasil, 2020).	42
Figura 1.20. Divisão territorial de saúde. Distritos Sanitários, Recife, 2018.	43
Figura 1.21. Taxa de detecção na população geral e em menores 15 anos, por 100.000 habitantes de casos de Hanseníase. Recife 2007- 2017 (Plano Municipal de Saúde, 2018).	44
Figura 1.22. Número total de casos novos de Hanseníase por 100.000 habitantes, reportados em Recife entre 2017 a 2020 (Dados compilados do Boletim Epidemiológico 2018; 2019; 2020).	45
Figura 1.23. Número de casos de Hanseníase segundo modo de entrada e faixa etária. Recife entre 2018 a 2020 (Dados compilados do Boletim Epidemiológico 2018; 2019; 2020).	46
Figura 1.24. Número de casos novos de Hanseníase segundo classificação operacional e faixa etária em Recife, entre 2018 a 2020 (Dados compilados do Boletim Epidemiológico 2018; 2019; 2020).	46
Figura 1.25. Casos novos de Hanseníase avaliados quanto à incapacidade física no diagnóstico, na cura e com grau 2, em Recife, entre 2018 a 2020 (Dados compilados do Boletim Epidemiológico 2018; 2019; 2020).	47
Figura 1.26. Número de casos novos de Hanseníase segundo encerramento em Recife, entre 2018 a 2020 (Dados compilados do Boletim Epidemiológico 2018; 2019; 2020).	48
Figura 1.27. Distribuição dos subtipos SNP do <i>M. leprae</i> no Brasil, Índia e China (Avanzi e col., 2020).	53
Figura 1.28. Árvore filogenética baseada em genomas de 263 isolados de <i>M. leprae</i> (Avanzi e col., 2020).	54
Figura 3.1. Fluxograma de trabalho para as amostras avaliadas neste estudo.	63
Figura 4.1. Distribuição de casos de Hanseníase no estado de Pernambuco.	71
Figura 4.2. Distribuição de casos de Hanseníase correspondente ao local de residência, de acordo com Gerência Regional de Saúde (GERES) de Pernambuco.	72
Figura 4.3. Distribuição de casos de Hanseníase Paucibacilar e Multibacilar (de acordo com IB) de acordo com Gerência Regional de Saúde (GERES) de Pernambuco.	78
Figura 4.4. Distribuição dos casos de Hanseníase de acordo com a classificação terapêutica no Pernambuco com a delimitação pelas Gerências Regionais de Saúde (GERES).	81
Figura 4.5. Pacientes em <i>cluster</i> com 16/17 VNTRs localizados espacialmente nos municípios com maior proporção de casos no estado de Pernambuco aplicando a estimação de densidade de Kernel (KDE: <i>kernel density estimation</i> ).	91
Figura 4.6. Imagem a partir do dendrograma com 16/17 VNTRs, isolados com variações em um, dois ou três VNTR para o cluster único.	93
Figura 4.7. <i>Clusters</i> obtidos pela MLVA com 16/17 VNTRs.	95
Figura 4.8. Árvore MST da localização pelos GERES dos pacientes com 16/17 VNTRs.	96
Figura 4.9. Árvores MST da Classificação terapêutica e IB dos pacientes com 16/17 VNTRs.	98
Figura 4.10. Árvore MST da Classificação pela idade dos pacientes com 16/17 VNTRs.	99
Figura 4.11. Árvore MST da Classificação pelo ano do diagnóstico no estudo e com relato de tratamento anterior dos pacientes com 16/17 VNTRs.	100
Figura 4.12. Pacientes com 13 VNTR localizados espacialmente no estado de Pernambuco pelas gerências regionais de saúde (GERES).	103

Figura 4.13. Árvore MST utilizando 16/17 VNTRs com base em os <i>clusters</i> formados com 13 VNTRs.	127
Figura 4.14. Árvore MST utilizando 13 VNTRs apresentando os <i>clusters</i> formados.	129
Figura 4.15. Árvore MST com base nos <i>clusters</i> formados utilizando 13 VNTRs correlacionado com à classificação de IB para pacientes paucibacilares (PB), multibacilares (MB) e negativos (NEG).	131
Figura 4.16. Árvore MST com base nos <i>clusters</i> formados utilizando 13 VNTRs correlacionado com o intervalo de idade.	132
Figura 4.17. Árvore MST com base nos <i>clusters</i> formados utilizando 13 VNTRs correlacionado com sua classificação terapêutica (FT: falha terapêutica; R/R: recidiva ou reinfeção; AB: abandono; CN: casos novos).	133
Figura 4.18. Árvore MST com base nos <i>clusters</i> formados utilizando 13 VNTRs correlacionado com os pacientes que relataram ou não presença de lesões.	134
Figura 4.19. Árvore MST com base nos <i>clusters</i> formados utilizando 13 VNTRs mostrando o tempo de residência no endereço informado na entrevista dos pacientes do estudo.	136
Figura 4.20. Árvores MST com base nos <i>clusters</i> formados utilizando 13 VNTRs mostrando: (A) pacientes com relato de residência no Recife e outros estados do Pernambuco, (B) localização pelas gerências regionais de saúde - GERES.	138
Figura 4.21. Pacientes em <i>cluster</i> e não <i>cluster</i> com 13 VNTR localizados espacialmente no estado de Pernambuco pelas GERES.	139
Figura 4.22. Mapa de área de estudo por Distrito e bairros do Recife.	140
Figura 4.23. Análises dos pacientes avaliados neste estudo concentrados no Recife;	141
Figura 4.24. Análises de Kernel para os pacientes deste estudo localizados no Recife segundo classificação pelo IB e presença de lesões: A; MB, B; PB e C; com presença de lesões.	142
Figura 4.25. Análise espacial dos isolados em <i>cluster</i> mediante avaliação de 13 o mais VNTRs, A; mapa de distância com imagem de satélite, B; análises de Kernel apresentando aglomerados de alta densidade, C; mapa de distância com delimitação de distritos do Recife.	144
Figura 4.26. Distribuição espacial dos <i>clusters</i> obtidos mediante análise com 13 o mais VNTRs: todos os <i>clusters</i> e os quatro maiores <i>clusters</i> ; C01, C09, C10 e C11.	145
Figura 4.27. Análise de Kernel de formação de aglomerados dos <i>clusters</i> obtidos mediante análise com 13 o mais VNTRs: todos os <i>clusters</i> e os quatro maiores <i>clusters</i> ; C01, C09, C10 e C11.	147
Anexo 1. UPGMA gerado usando os 16/17 VNTRs	200
Anexo 2. UPGMA gerado usando os 13 VNTRs	204
Anexo 3. Tabela com informações dos pacientes incluídos nas análises de 16/17 VNTRs.	209
Anexo 4. Genótipos apresentados pelos isolados com IB=0 na análise por MLVA	220
Anexo 5. Parecer 07/2012 Comitê de Ética em Pesquisa.	225
Anexo 6. Questionário aplicado no momento da entrevista aos pacientes.	226
Anexo 7. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – Adulto	227
Anexo 8. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – Menor de idade	228



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

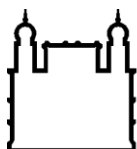
### Detecção e variabilidade genética de *Mycobacterium leprae* numa região altamente endêmica para hanseníase e avaliação de fatores associados a transmissão recente

#### RESUMO

#### DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Yrneh Yadamis Prado Palacios

A hanseníase é geralmente causada pelo *Mycobacterium leprae* e é um problema de saúde pública no Brasil, país que relatou 20.684 novos pacientes entre 2010 e 2019. Recife, a região metropolitana do Pernambuco, é altamente endêmica para esta doença, sendo que 4,9% dos casos ocorrem em menores de 15 anos, indicando um nível considerável de transmissão. Os fatores de risco para transmissão precisam ser melhor investigados, assim métodos moleculares foram empregados para definição dos genótipos do microrganismo circulante em pacientes supostamente recém-diagnosticados de janeiro-2012 a janeiro-2017. Esfregaços cutâneos provenientes de lâminas de 709 pacientes com diagnóstico de hanseníase confirmados foram submetidos à extração de DNA e avaliados por qPCR para a região *16S* e elementos repetitivos-RLEP. A carga bacteriana negativa foi observada em 204 (8,7%) pacientes, sendo 105 (14,8%) paucibacilares ( $IB < 2$ ) e 399 (56,3%) multibacilares ( $IB \geq 2$ ). A reanálise dos dados dos pacientes mostrou que 75 (10,6%) tinham diagnóstico prévio de hanseníase; destes, 31 (41,3%) apresentaram recidiva/reinfecção, 40 (53,3%) tiveram falha terapêutica e quatro (5,3%) abandonaram o tratamento. A maioria dos pacientes era do sexo masculino (73,3%), entre 15-59 anos (74,3%), pardos (59,8%), com ensino fundamental II incompleto (26,7%), apresentavam lesões (99,4%) e 74,4% residiam no Recife. Das 709 amostras, 622 (87,7%) apresentaram resultado positivo para qPCR (para um ou dois dos alvos avaliados), atendendo aos critérios estabelecidos para tipagem por MLVA; desta forma, propomos a qPCR como ferramenta para selecionar amostras para genotipagem. Dos 17VNTRs analisados, quatro apresentaram alto poder discriminatório ( $HGDI > 0,8$ ) e não foram empregados na definição de agrupamentos de genótipos. Os genótipos definidos por meio de 13VNTRs revelaram a existência de 31 *clusters* incluindo 179 (52,2%) amostras de um total de 343 isolados, sugerindo alto nível de transmissão (recente) durante o período de estudo. Observamos dois grandes *clusters*, compostos por 36 (10,5%) e 39 (11,4%), todavia, a razão disso é discutida. Ao associar os *clusters* com dados clínicos-demográficos, observamos que: idade, carga bacilar, ano de coleta e tempo de residência na região, como possíveis fatores de risco; não foi vista associação entre *clusters* e pacientes MB, raça, idade < 15 anos e outros. Diferentemente dos pacientes com recidiva/reinfecção, falha no tratamento ou abandono, não foi observada concentração espacial na hanseníase infantil; os aglomerados espaciais não parecem estar espalhados aleatoriamente, aparentemente pertencem a um dos maiores *clusters*. Nossos dados demonstraram variabilidade de genótipos de *M. leprae* com existência de dois grandes *clusters* compostos por 22% dos isolados genotipados. É tentador concluir que pode ser pela existência de um ou mais fatores de risco para transmissão recente, mas uma maior virulência de cepas em *cluster* poderia ter papel importante nesse cenário e precisa ser investigada. Como a hanseníase é uma doença de desenvolvimento lento, a associação de *clusters* com determinados fatores ambientais ou humanos não é fácil e genótipos específicos podem estar presentes na população ao longo de décadas. Um novo estudo incluindo contato domiciliar, análise de redes sociais, técnicas de genotipagem mais sensível e participação não humana na transmissão pode responder a algumas das muitas perguntas que permanecem após este estudo.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

### **Detecção e variabilidade genética de *Mycobacterium leprae* numa região altamente endêmica para hanseníase e avaliação de fatores associados a transmissão recente**

#### ABSTRACT

#### DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Yrneh Yadamis Prado Palacios**

Leprosy is generally caused by *Mycobacterium leprae* and a public health problem in Brazil, reporting 20,684 new patients between 2010 and 2019. The metropolitan region of Recife in Pernambuco is highly endemic for the disease and 4.9% are children under 15 years indicate considerable level of active transmission. Risk factors for transmission needs to be better investigated so we characterize by molecular methods the circulating genotypes in supposedly newly diagnosed patients from January 2012 to January 2017. Slit skin smears (SSS) from 709 confirmed leprosy patients DNA samples investigated for bacillary load (BI) were submitted to DNA extraction submitted to qPCR for *I6S* and repetitive element (RLEP). A negative bacterial load was observed in 204 (8.7%) patients while 105 (14.8%) were paucibacillary ( $IB < 2$ ) and 399 (56.3%) multibacillary ( $IB \geq 2$ ). Reanalysis of the patient data showed us that 75/ (10.6%) had been previously diagnosed with leprosy; among the latter, 31 (41,3%) presented relapse/reinfection, 40 (53.3%) suffered from therapeutic failure and four (5.3%) had abandoned treatment. Most of the patients were male (73.3%), between 15 and 59 years old (74.3%), colored (59.8%), incomplete elementary school-II (26.7%), presented lesions (99.4%) and, 74.4% resided in Recife.

Among the 709 samples, 622 (87.7%) presented a positive qPCR for one or two of the evaluated targets and met our established criteria for MLVA typing so we propose that qPCR as a tool to select samples for genotyping. Among the 17 VNTRs, four were highly discriminatory ( $HGDI > 0.8$ ) and excluded for definition of genotype clusters. Based on genotypes including 13 VNTRs, 179 (52.2%) of 343 isolates belonged to one of the 31 clusters, suggesting high level of (recent) transmission during the study period. Two large clusters, including respectively 36 (10.5%) and 39 (11.4%) isolates were observed and the reason for this is discussed. When associating clustering with clinical and demographic data, we observed age, bacillary load, year of collection and length of residence in the region as possible risk factors; no association was observed between clustering and being patients-MB, having less < 15 years, race, level of schooling and others. Unlike patients with disease recurrence/reinfection, treatment failure or abandonment, no spatial concentration was observed in childhood leprosy; the spatial clusters do not appear to be scattered randomly, they apparently belong to one of the larger clusters.

Our data demonstrated both considerable variability of *M. leprae* genotypes and the existence of two large clusters that together include 22% of the genotyped isolates. It is tempting to conclude that these might be due to existence of one or more risk factors for recent transmission but higher virulence of strains in cluster could participate and needs better investigation. In addition, because leprosy is a slowly developing disease, association of clusters with particular environmental or human factors is not easy and particular genotyped might be present in the population over decades. A new study including household contact, social network analysis, more sensitive genotyping techniques and non-human participation in transmission might respond some of the many questions that remain after this study.

### I. A hanseníase

#### 1.1. Aspectos clínicos da doença

A hanseníase é uma doença infecciosa que aflige a humanidade há milênios e tem como agentes etiológicos *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) e *Mycobacterium lepromatosis* (*M. lepromatosis*) (Han e col., 2008 e 2010). As duas espécies apresentam 90,9% de similaridade genômica (Sharma e col., 2020) e causam condições patológicas semelhantes (Deps e Collin, 2021). São parasitas intracelulares de crescimento lento que infectam principalmente macrófagos e as células de Schwann do sistema nervoso periférico. No entanto, articulações, olhos, testículos, gânglios e outros órgãos também podem ser acometidos (BRASIL, 2008). A doença é considerada uma das mais antigas do mundo, com registros de casos na literatura há mais de dois mil anos, em países como China, Egito e Índia (Sharma e col., 2020; Sociedade Brasileira de Dermatologia, 2017).

As manifestações clínicas estão associadas à resposta imunológica do paciente no momento da infecção e sua consequente evolução influenciada por fatores genéticos e ambientais, como o estado nutricional, vacinação com o Bacilo Calmette-Guérin (*Mycobacterium bovis* por BCG) e tempo de exposição a *M. leprae* ou outras micobactérias (Eichelmann e col., 2013). O indivíduo com hanseníase pode desenvolver um quadro clínico de inflamação crônica, podendo apresentar evolução lenta e progressiva e, quando não tratada, pode causar deformidades e incapacidades físicas. Essas são muitas vezes irreversíveis e mutilantes, consequência de acidentes pela diminuição ou perda da sensibilidade protetora nos membros, comprometendo os mecanismos de defesa, como a capacidade de sentir dor, a visão e o tato, tornando-as mais vulneráveis aos riscos de acidentes, queimaduras, feridas, infecções, amputações, entre outros (BRASIL, 2008). Os primeiros sinais e sintomas da doença são: o surgimento de manchas de coloração esbranquiçadas (hipocrômicas), pardas ou eritematosas, pouco visíveis e com contorno impreciso; pápulas, infiltrações, tubérculos e nódulos; diminuição ou queda de pelos localizada ou difusa e ausência de sudorese no local, além de alterações na sensibilidade térmica e tátil. Também podem ser observados e/ou relatados pelo paciente a presença de dor e/ou espessamento de nervos periféricos, com redução e/ou perda de força nos músculos por eles inervados; edema de mãos e pés; febre,

ressecamento dos olhos e nariz, artralgia, entre outros (BRASIL, 2008; Sociedade Brasileira de Dermatologia, 2017). Além disso, quando o nervo de uma área é afetado, surgem dormência, perda de tônus muscular e retrações dos dedos, com desenvolvimento de incapacidades físicas. Quando os pacientes não apresentam comprometimento neural são classificados como grau 0 de incapacidade física, o grau 1 de incapacidade ocorre quando há diminuição ou perda de sensibilidade nos olhos, mãos e pés e grau 2 de incapacidade física refere-se a presença de lesões mais graves nos olhos, mãos e pés (BRASIL, 2008). Nas fases agudas, podem aparecer caroços e/ou inchaços nas partes mais frias do corpo, como orelhas, mãos, cotovelos e pés (Sociedade Brasileira de Dermatologia, 2017). Essas manifestações clínicas geralmente são precedidas por um período de incubação longo, com uma média de dois a sete anos entre o tempo da infecção pelo microrganismo e o aparecimento dos primeiros sinais e sintomas. Todavia, *M. leprae* tem como característica uma alta infectividade combinada com baixa patogenicidade, o que significa dizer que muitas pessoas são infectadas, porém poucas adoecem (BRASIL, 2008).

Segundo a classificação de Madri (1953) adota-se critérios de polaridade, baseados nas características clínicas da doença, que foram acrescidos pelos aspectos bacteriológicos, imunológicos e histológicos da hanseníase, definindo os grupos polares, tuberculóide (T) e virchoviano (V) ou lepromatoso (L); o grupo transitório e inicial da doença, a forma indeterminada (I); e o instável e intermediário, a forma borderline (B) ou dimorfa (D) (Langillon e Carayon, 1986).

As formas clínicas da hanseníase, segundo a classificação de Ridley e Jopling (1966), são definidas com base nos aspectos clínicos, imunológicos, histopatológicos e bacteriológicos, agrupando-se em dois polos: hanseníase tuberculóide (HT) e hanseníase lepromatosa (HL) e em três subgrupos: borderline-tuberculóide (BT), borderline-borderline (BB) e borderline-lepromatoso (BL) (Souza, 1997 e Araújo, 2003; Redley & Joplin, 1962). Outro sistema de classificação foi o proposto pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 1982, que classificou a hanseníase conforme o índice baciloscópico (IB) em paucibacilar (PB; pacientes com  $IB < 2$ ) e em multibacilar (MB; pacientes com  $IB \geq 2$ ). O IB é uma escala logarítmica proposta por Ridley em 1962 (Quadro 1.1), que classifica de 0 a 6 com base no número médio de bacilos observados nos esfregaços de linfa de lóbulos auriculares, cotovelos e lesões do paciente (Lastória e col., 2014<sup>a</sup> e 2014<sup>b</sup>). Posteriormente, com a intenção de operacionalizar o diagnóstico e controle da doença, especialmente em áreas endêmicas, foi adotada a classificação segundo o número

de lesões, sendo considerados PB os pacientes que apresentarem até cinco lesões e um tronco nervoso acometido, e multibacilares, aqueles com mais de cinco lesões (BRASIL, 1994).

**Quadro 1.1. Índice Baciloscópico (IB) projetado para 100 campos microscópicos (adaptado de Redley e Joplin, 1962).**

IB	Leitura
0	Não foram observados bacilos em nenhum dos 100 campos examinados
1+	1-10 bacilos, em 100 campos examinados
2+	1-10 bacilos, em cada 10 campos examinados (11-99 bacilos em 100 campos)
3+	10 bacilos, em média, em cada campo examinado
4+	100 bacilos, em média, em cada campo examinado
5+	1000 bacilos, em média, em cada campo examinado
6+	Mais de 1000 bacilos, em média, em cada campo examinado

A hanseníase, quando não tratada, pode acarretar graves sequelas para o indivíduo, seja por meio do comprometimento do tato, olfato, visão e, até mesmo, da locomoção. A incapacidade física ocasionada pela doença pode apresentar-se em diferentes níveis e evoluir para deformidades, as quais resultam em estigma e preconceito que envolve a doença (Lopes e Rangel, 2014). A neuropatia periférica é a principal causa de morbidade na hanseníase, sendo responsável pelas deformidades e deficiências apresentadas por muitos portadores da doença. O dano neural afeta as fibras do sistema nervoso periférico sensitivo, motor e autônomo. Essas lesões nervosas são caracterizadas por infiltrado crônico ou subagudo, contendo células epitelióides ou macrófagos repletos de bacilos (Chimelli e col., 1997). As lesões nervosas estão relacionadas com a resposta imune do indivíduo, sendo que as limitadas evidências indicam que os mecanismos imunológicos ocorridos nos nervos são similares aos já descritos na pele (Scollard e col., 2006). As células de Schwann, principais células de suporte do sistema nervoso periférico, parecem ser os maiores alvos de *M. leprae*. Em pacientes com hanseníase avançada, as células de Schwann mielinizadas e não mielinizadas são infectadas pelo bacilo, embora alguns estudos sugiram maior preferência pelas não mielinizadas (Rambukkana e col., 2002). Já foi observado, em culturas isoladas de células de Schwann humanas, que essas são capazes de processar e apresentar antígenos do bacilo para as células T CD4+ (Rambukkana e col., 2000). Por outro lado, as células de Schwann infectadas pelo bacilo são altamente suscetíveis à morte por clones de células T CD4+ citotóxicas. Como consequência, a longo prazo, as células de Schwann são danificadas ou destruídas nos nervos infectados, tendo como resultado final uma neuropatia desmielinizante (Jacobs e col., 1987).



## 1.2. Estados reacionais na hanseníase

A evolução crônica e insidiosa da doença pode ser sobreposta por fenômenos inflamatórios agudos, as reações hansênicas. Os episódios reacionais podem incidir em qualquer uma das formas clínicas, sendo rara sua detecção na hanseníase indeterminada. Esses episódios reacionais podem ocorrer antes, durante ou após a instituição do tratamento específico (Pfaltzgraff e Ramu, 1994; Becx-Bleumink e Berhe, 1992) e são potencialmente responsáveis pela perda funcional de nervos periféricos, com comprometimento neurológico, cutâneo e sistêmico, que podem ocorrer de forma isolada ou simultaneamente, e variam de acordo com cada caso e com o tipo de reação (Harboe, 1994; Modlin e Rea, 1994). São classificados como: (i) reação tipo 1 ou reação reversa (RR), (ii) reação tipo 2 ou eritema nodoso hansênico (ENL - ENH) e (iii) a neurite isolada. Decorrem do processo inflamatório e resposta imunológica, medida por antígenos de *M. leprae*, e estabelecem relação com a carga bacilar e a resposta imune do hospedeiro, com fisiopatologias e fatores desencadeantes ainda não completamente elucidados (Harboe, 1994; Modlin e Rea, 1994).

## 1.3. A transmissão da hanseníase

Acredita-se que a transmissão dos bacilos (*M. leprae* e *M. lepromatosis*) ocorra principalmente de pessoa para pessoa, por meio das vias aéreas superiores, devido ao contato direto e prolongado de indivíduos suscetíveis com pacientes multibacilares não tratados (Schneider e Freitas, 2018). É sabido que o risco maior de contágio ocorre via contatos domiciliares e pessoas próximas aos casos ativos. Além da transmissão antroponótica, a transmissão zoonótica foi corroborada com base nos dados que mostraram cepas idênticas de *M. leprae* compartilhadas entre humanos e tatus (*Dasypus novemcinctus*), (Romero-Montoya e col., 2017; Kirchheimer e col., 1972; Ploemacher e col., 2020) e esquilos-vermelhos (*Sciurus vulgaris*) das Ilhas Britânicas, nos quais foram identificadas cepas de *M. leprae* pertencentes à mesma linhagem de *M. leprae* recuperada de humanos europeus medievais (Avanzi e col, 2016b). Em 2018, Honap e colaboradores mostraram a presença de uma cepa de *M. leprae* em um macaco *cynomolgus* relacionada a uma cepa humana de *M. leprae* da Nova Caledônia. Chimpanzé selvagens e de cativeiro (*Pan troglodytes verus*), macaco-cinomoigo (*Macaca fascicularis*) e mangabé fuliginoso (*Cecocebus atys*) são conhecidos por desenvolverem hanseníase sem qualquer fonte

infecciosa óbvia (Hockings e col., 2021) e albergarem linhagem (ou linhagens) que (é) ou são encontradas em humanos (Honap e col., 2018). Além disso a existência de reservatórios animais (Oliveira e col., 2019), a presença de *M. leprae* viável em amostras ambientais (Chakrabarty e Dastidar, 2001) e pacientes recém-detectados sem fonte direta tangível de infecção (Cusini e col., 2017; Fern e col., 2019; Musso e col., 2019; Truman e Fine, 2010) contribuem para a ideia de que podem existir reservatórios adicionais de *M. leprae* não humanos. Com isso, várias hipóteses têm sido lançadas na última década, Hockings e cols (2021), por exemplo, sugeriram que *M. leprae* pode estar circulando em outros animais selvagens, como decorrência da exposição a humanos ou outras fontes ambientais desconhecidas.

Apesar de *M. lepromatosis* ter sido descrito em pacientes brasileiros, real magnitude da infecção por *M. lepromatosis* e da coinfeção com *M. lepromatosis* e *M. leprae* em nossa população é desconhecida, já que o diagnóstico na maioria dos casos é baseado na clínica do paciente e a diferenciação entre as duas espécies só é possível através de testes moleculares (Han e col., 2009).

#### **1.4. O diagnóstico da doença**

O diagnóstico da hanseníase deve ser baseado no histórico de evolução da lesão, na epidemiologia, no exame físico e, em algumas situações, em exames como baciloscopia, sorologia, análises histopatológicas e diagnóstico molecular (Lastória e col., 2014; Benjak e col., 2018). No entanto, o diagnóstico é laborioso, principalmente em casos PB, por apresentarem baixa carga bacilar e ausência de sinais clínicos claros (Marques e col., 2018). A baciloscopia continua sendo considerada como “padrão-ouro” (atual técnica de referência) para o auxílio no diagnóstico e no acompanhamento do tratamento por ser de baixo custo e menos invasivo em comparação com biópsias de pele (Marques e col., 2018). O resultado negativo, não exclui o diagnóstico clínico da hanseníase e nem classifica o doente obrigatoriamente como PB. O resultado positivo em uma baciloscopia não descarta a possibilidade de tuberculose cutânea ou outras micobacterioses, principalmente em países onde há alta incidência de infecção por HIV, pelo que nestes casos seriam necessários teste moleculares para a detecção adequada (Silva e Jarbas, 2004).

Para o exame histopatológico, biópsia cutânea ou do ramo sensitivo dos nervos periféricos são utilizadas e a coloração feita é pela técnica de Wade, que detecta a

presença de Bacilos ácido álcool resistentes (BAAR), tornando-se possível a visualização do bacilo. O índice logarítmico da biópsia (ILB) segue os mesmos critérios do índice baciloscópico (IB), exceto pelo fato de se levar em consideração o tamanho da área ocupada pelos granulomas. O IB está sujeito a numerosas variáveis, como: a profundidade do corte, a quantidade de tecido removido, o tamanho e a espessura do esfregaço, entre outros. Entretanto, se tais variáveis forem reduzidas, os resultados poderão apresentar grande similaridade quando diferentes indivíduos examinarem a mesma lâmina (Souza, 1997 e Araújo, 2003; Barbieri e col., 2019).

O diagnóstico molecular permite a rápida detecção e identificação da hanseníase, visto que, as técnicas moleculares apresentam maior sensibilidade e especificidade em comparação com os métodos clássicos. A implementação da PCR em tempo real (qPCR) melhorou as taxas de detecção e possibilitou a análise direta do DNA bacteriano em amostras clínicas, o que aumentou a confiabilidade dos resultados (Barbieri e col., 2019 e Manta e col., 2019; Braet e col., 2021; Manta e col., 2022).

A principal base da qPCR é o uso de sondas fluorescentes que, quando expostas a um feixe de luz, emitem um sinal para o equipamento tornando possível acompanhar os resultados em tempo real. Além disso, por meio do monitoramento da taxa de aumento da fluorescência na reação de qPCR, é possível determinar com precisão a quantidade de DNA-alvo presente na amostra original (Barbieri e col., 2019 e Beissner e col., 2019). Desde 2012, a qPCR vem sendo utilizada como suporte diagnóstico nos casos em que os resultados da baciloscopia e da histopatologia foram inconclusivos (Barbieri e col., 2019 e Beissner e col., 2019). Desde a descrição do uso da técnica em biópsias de pele de pacientes com hanseníase por Kramme e col., em 2004, vários grupos realizaram PCR em tempo real para quantificação de bacilos, tendo como alvo *RLEP* ou usando uma combinação de diferentes alvos como *RLEP*, *Ag85B*, *16S rRNA* e *sodA* (Martinez e col., 2011 e 2014; Mohanty e col., 2020). A abordagem mais sensível para a detecção e avaliação da viabilidade das amostras de *M. leprae* é a qPCR tendo como alvo os elementos *RLEP* e *16S* (Braet e col., 2018 e Beissner e col., 2019).

### **1.5. Recidiva e reinfecção na hanseníase**

A recorrência de uma doença infecciosa pode ocorrer a partir da reinfecção com uma cepa diferente do patógeno ou de uma reparação da mesma cepa a partir do episódio inicial após o tratamento, também conhecido como recidiva. A diferenciação entre

recidiva e reinfecção é de particular importância para áreas endêmicas onde casos convalescentes podem continuar a ser expostos ao patógeno (Oskam e col., 2008). Além disso, ambos são eventos epidemiológicos com significados diferentes e podem estar relacionados à persistência ou resistência do bacilo, imunossupressão, gravidez, formas multibacilares, endemicidade do meio (reinfecção), diagnóstico tardio, terapêutica inadequada ou irregular e erro de classificação (Oliveira, 1997; MS, 2000; Klioze e Ramos-Caro, 2000).

De acordo com o Ministério de Saúde (MS), é considerado um caso de hanseníase recidiva o paciente que após completar com êxito o tratamento, venha desenvolver novos sinais e sintomas da doença. Embora a taxa de recidiva seja um indicador da eficácia do tratamento diretamente ligada à resistência aos medicamentos; a reinfecção é um indicador de transmissão ativa (da Silva Rocha e col., 2011). Independentemente disso, qualquer caso recorrente é geralmente caracterizado por padrão como recidiva, porque os métodos bacteriológicos convencionais não podem diferenciar a recidiva de reinfecção (Regional Office for South-East Asia, 2017). A recidiva da hanseníase é observada em muitas partes do mundo e com taxas variáveis, (Guerrero-Guerrero e col., 2012; Maghanoy e col., 2011; Shen e col., 2015; WHO, 2019).

A reinfecção é difícil de ser estimada, embora seja provável que desempenhe um papel maior em áreas altamente endêmicas do que outras (da Silva Rocha e col., 2011). Em 2018, foram registrados 1.840 casos de recidiva no Brasil, número que equivale a 5,1% do total de casos de hanseníase registrados no país para esse ano.

## **1.6. Tratamento da hanseníase**

O tratamento da hanseníase compreende uma quimioterapia específica, supressão dos surtos reacionais, prevenção de incapacidades físicas e reabilitação física e psicossocial. Esse conjunto de medidas é desenvolvido em serviços de saúde da rede pública ou particular, mediante notificação de casos à autoridade sanitária competente (Brasil, 2000). A indicação do esquema terapêutico deve-se levar em conta toda a história clínica do paciente, com especial atenção para alergias a medicamentos, interação de drogas e doenças associadas; a definição do esquema depende da classificação final do caso. No Brasil, adota-se a classificação de Madri e o MS sugere classificação operacional da OMS com os seguintes critérios: PB - casos com até cinco lesões de pele e ou apenas um tronco nervoso comprometido e MB - casos com mais de cinco lesões de pele e ou

mais de um tronco nervoso acometido. Entretanto, como já foi mencionado, a baciloscopia positiva classifica o caso como MB, independentemente do número de lesões (Brasil, 2000).

A hanseníase também afeta os indivíduos de acordo com sua resposta imunológica. Assim, os pacientes com alto nível de imunidade possuem um baixo número de bacilos e se enquadram na classificação de pacientes com hanseníase PB. Além disso, alguns pacientes podem desenvolver resistência aos medicamentos utilizados na Poliquimioterapia (PTQ) (Quadro 1.2), especialmente a rifampicina e ofloxacina (CONITEC, 2020).

**Quadro 1.2. Poliquimioterapia preconizada pelo Ministério da Saúde para o tratamento da hanseníase (CONITEC, 2020).**

	Adulto		Criança	
	Hanseníase PB – até 9 meses	Hanseníase MB – até 18 meses	Hanseníase PB – até 9 meses	Hanseníase MB – até 18 meses
<b>Rifampicina</b>	Dose mensal de 600 mg, com administração supervisionada		Dose mensal de 450 mg, com administração supervisionada	
<b>Dapsona</b>	Dose mensal de 100 mg supervisionada e dose diária de 100 mg autoadministrada		Dose mensal de 50 mg supervisionada e dose diária de 50 mg autoadministrada	
<b>Clofazimina</b>	-	Dose mensal de 300 mg, com administração supervisionada e 1 dose diária de 50 mg autoadministrada	-	Dose mensal de 150 mg, com administração supervisionada e uma dose de 50 mg autoadministrada em dias alternados

As drogas usadas nos esquemas poliquimioterápicos padronizados pela OMS e MS são a rifampicina (única bactericida), dapsona e clofazimina. O fornecimento da medicação é gratuito em todo o país (Brasil, 2000 e 2018).

Os casos MB avançados, com infiltração exuberante da pele e que apresentem pouca melhora com as 12 doses, deverão receber 24 doses em até 36 meses. Existem também tratamentos alternativos, disponíveis nos centros de referência, para pacientes com impossibilidade de usar os esquemas padronizados, incluindo o esquema ROM (rifampicina, ofloxacina e minociclina) para tratamento de lesão única de pele em pacientes PB (Brasil, 2000).

Na falta de evidências sobre a eficácia e segurança de esquemas terapêuticos para a hanseníase resistente a medicamentos, a OMS recomenda esquemas alternativos de tratamento para as seguintes situações: (i) pacientes com hanseníase resistente à

rifampicina: tratamento com pelo menos dois dos seguintes medicamentos de segunda linha: claritromicina, minociclina ou uma quinolona (ofloxacina, levofloxacina ou moxifloxacina), além da clofazimina diariamente por seis meses, seguidos por clofazimina mais um dos medicamentos de segunda linha diariamente por mais 18 meses; (ii) pacientes com hanseníase resistente à rifampicina e ofloxacina: esquema terapêutico com claritromicina, minociclina e clofazimina por seis meses, seguido por claritromicina ou minociclina mais clofazimina por mais 18 meses. Os possíveis esquemas terapêuticos podem ser observados no Quadro 1.3 (CONITEC, 2020).

Recentemente a secretaria de Vigilância em Saúde, do MS (SVS/MS) demandou à Secretaria-Executiva da Conitec a análise da proposta de ampliação de uso da claritromicina para o tratamento de pacientes com hanseníase resistente a rifampicina, com ou sem resistência associada a ofloxacina, no Sistema Único de Saúde (SUS), (CONITEC, 2020).

**Quadro 1.3. Possíveis combinações de tratamentos para hanseníase resistente a medicamentos (CONITEC, 2020).**

Tipo de resistência	Tratamento	
	Primeiros 6 meses (diariamente)	Próximos 18 meses (diariamente)
Resistência à rifampicina	Ofloxacina 400 mg * + minociclina 100 mg + clofazimina 50 mg	Ofloxacina 400 mg * OU minociclina 100 mg + clofazimina 50 mg
	Ofloxacina 400 mg * + claritromicina 500 mg + clofazimina 50 mg	Ofloxacina 400 mg * + clofazimina 50 mg
Resistência à rifampicina e ofloxacina	Claritromicina 500 mg + minociclina 100 mg + clofazimina 50 mg	Claritromicina 500 mg OU minociclina 100 mg + clofazimina 50 mg

\* Ofloxacina 400 mg pode ser substituído por 500 mg de levofloxacina ou 400 mg de moxifloxacina (OMS, 2019).

### 1.6.1 Profilaxia

A profilaxia da hanseníase consiste no diagnóstico (exame dermatoneurológico) de casos novos entre os contatos intradomiciliares, no tratamento dos doentes e do controle dos contatos não doentes, além de medidas de educação sanitária. Nesse sentido,

pacientes e os contatos devem ser orientados quanto ao período de incubação, transmissão, sinais e sintomas precoces da doença. Considera-se contatos intradomiciliares, indivíduos que convivem ou conviveram, residem ou residiram no mesmo domicílio dos doentes nos últimos cinco anos.

A vacina BCG (Bacille Calmette-Guérin) é composta por bactérias da estirpe *Mycobacterium bovis* e é utilizada para a proteção das formas mais graves da tuberculose, tais como a meningite tuberculosa e tuberculose miliar. Estudos mostraram um efeito protetor significativo contra a hanseníase (Barreto e col., 2006; Eisenhut e col., 2009, Yamazaki-Nakashimada e col., 2020). O Protocolo atual para contatos intradomiciliares de pacientes com hanseníase é, depois do exame clínico, o encaminhamento do mesmo para aplicação da vacina por via intradérmica. Para os contatos sem cicatrizes prévias, o indicado é que sejam administradas duas doses da BCG, com intervalo de seis meses entre elas (Brasil, 2000).

Outra forma de proteção proposta é a quimioprofilaxia, que pode ser usada como uma intervenção adicional para a redução da transmissão da hanseníase. A evidência científica mais robusta da eficácia da quimioprofilaxia com rifampicina veio de estudo randomizado, controlado e duplo cego em área de alta endemicidade em Bangladesh. O estudo foi denominado “Contact Leprosy Patient - COLEP” (Moet e col., 2008; Richardus e Oskan, 2015). Este estudo mostrou que a dose única de rifampicina na quimioprofilaxia reduz a incidência de hanseníase nos primeiros dois anos em 60%. Embora o benefício da profilaxia não tenha aumentado após dois anos, o efeito foi mantido após 4 e 6 anos. Em metanálise também foi verificada que a quimioprofilaxia com dose única de rifampicina reduz o risco de hanseníase em contatos de pacientes diagnosticados com a doença em 57% após dois anos (Revez, e col., 2009), o efeito protetor foi de aproximadamente 55%–60%, com maior eficácia quando combinada com a vacinação BCG ao nascimento. Consequentemente, as diretrizes da OMS para o diagnóstico, o tratamento e a prevenção da hanseníase recomendam como profilaxia pós-exposição, o tratamento com rifampicina em dose única para todos os contatos (OMS, 2019).

### **1.6.2. Resistência medicamentosa**

A evolução da resistência aos medicamentos é uma preocupação importante para qualquer doença infecciosa. Como os bacilos da hanseníase não podem ser cultivados em meios artificiais em laboratório, o perfil de suscetibilidade aos medicamentos de casos

individuais (resistência antimicrobiana) exigia um ano ou mais para ser concluído, envolvendo a inoculação experimental de animais e o monitoramento do crescimento de bacilos sob vários regimes de antibióticos.

Os primeiros casos de *M. leprae* com resistência primária e secundária à dapsona foram relatados em 1964 e 1977, respectivamente; o primeiro caso de resistência à rifampicina foi descrito em 1976, mas somente em 1981, a OMS recomendou a PQT contra a hanseníase. Em 1996, o primeiro caso de resistência primária a múltiplas drogas (MDR; do inglês *multidrug resistance*) foi relatado (Matrat e col., 2008; Williams and Gillis, 2012; Yokoyama e col., 2012<sup>a</sup> e 2012<sup>b</sup>). Na década de 90, o mecanismo de resistência para essas drogas foi atribuído às mutações de sentido trocados nas regiões determinantes da resistência a drogas (DRDR; do inglês *determining regions of drug resistance*) dos genes *folP1* (codifica a enzima dihidropteroato sintase), *rpoB* (codifica a subunidade  $\beta$  da RNA polimerase dependente de DNA) e *gyrA/gyrB* (DNA girase), que conferem resistência a dapsona, rifampicina e a ofloxacina, respectivamente (Matrat e col., 2008; Williams and Gillis, 2012; Yokoyama e col., 2012<sup>a</sup> e 2012<sup>b</sup>).

A resistência aos medicamentos de segunda linha, como a minociclina e claritromicina, é raramente relatada. Para a clofazimina, polimorfismos genômicos associados à resistência foram identificados em outras espécies de Micobactérias (Chen e col., 2018; Williams e Gillis, 2012; Yew e col., 2017). Todavia, os mecanismos de ação e o alvo molecular para algumas dessas drogas precisam ser confirmados para os bacilos da hanseníase.

A resistência às drogas (DR; do inglês *drug resistance*) e a MDR são cada vez mais relatadas, entretanto, somente em 2018 foi publicado o primeiro estudo que reporta dados globais sobre resistência antimicrobiana em hanseníase (Cambau e col., 2018).

De acordo com o OMS, a taxa global de resistência (n=1.932) é de 8% (2009-2015). Recentemente foram relatadas mutações em pelo menos um dos genes comumente associados à resistência medicamentosa (*rpoB*, *folP1* e *gyrA*) tanto em casos novos quanto em recidivos de hanseníase MB (Benjak. E col., 2018). A taxa de resistência a rifampicina no Brasil foi 9,1% maior do que a taxa global que foi de 3,8%; quando estratificados de entre casos novos e recidivos, uma maior taxa de resistência foi observada nos casos novos (15,6% *versus* 8,4%), o que indica que a resistência primária está superando a secundária (Quadro 1.4, OMS, 2019). Todavia, esses dados podem estar relacionados, parcialmente, com os resultados obtidos por meio da avaliação de indivíduos oriundos da colônia da Prata (Rosa e col., 2020). A circulação e transmissão de cepas resistentes à



rifampicina é preocupante e poderia dificultar ainda mais o tratamento e controle da hanseníase no país (Maltempe e col., 2017). Não se pode descartar a possibilidade de que o uso prévio de rifampicina, utilizada também para o tratamento de TB, poderia favorecer o surgimento a resistência à primária à essa droga em momento seguinte (Maltempe e col., 2017; OMS, 2019).

A taxa de resistência à dapsona no Brasil também foi maior quando comparada com a taxa global (12,7% *versus* 5,3%); entretanto, a resistência foi maior nos casos recidivos (13,4 % x 7,7%) (Quadro 1.4). Para a ofloxacina, as taxas de resistência no Brasil foram próximas as taxas mundiais. Casos de resistência a mais de uma droga (rifampicina + dapsona e dapsona + ofloxacina) foram identificados no Brasil (Cambau e col., 2018; OMS, 2019).

**Quadro 1.4. Casos brasileiros e casos globais de resistência a rifampicina, dapsona e ofloxacina entre 2009-2015 (OMS, 2019).**

	<b>Todos os casos</b>	<b>Casos novos</b>	<b>Casos recidivos</b>
<b>Rifampicina (<i>rpoB</i>)</b>			
Casos Globais (n=1.939)	74/1.939 (3,8%)	16/789 (2,0 %)	58/1.143 (5,1%)
Casos Brasileiros (n=353)	32/353 (9,1 %)	5/35 (15,6%)	27/321 (8,4%)
<b>Dapsona (<i>folP</i>)</b>			
Casos Globais (n=1.639)	87/1.639 (5,3%)	35/877 (4%)	52/726 (7,2%)
Casos Brasileiros (n=213)	27/213 (12,7%)	2/26 (7,7%)	25/187 (13,4%)
<b>Ofloxacina (<i>gyrA</i>)</b>			
Casos Globais (n=1.939)	21/1.581 (1,3%)	8/833 (1%)	13/748 (1,7%)
Casos Brasileiros (n=353)	3/177 (1,7%)	0/23 (0%)	3/154 (1,9)

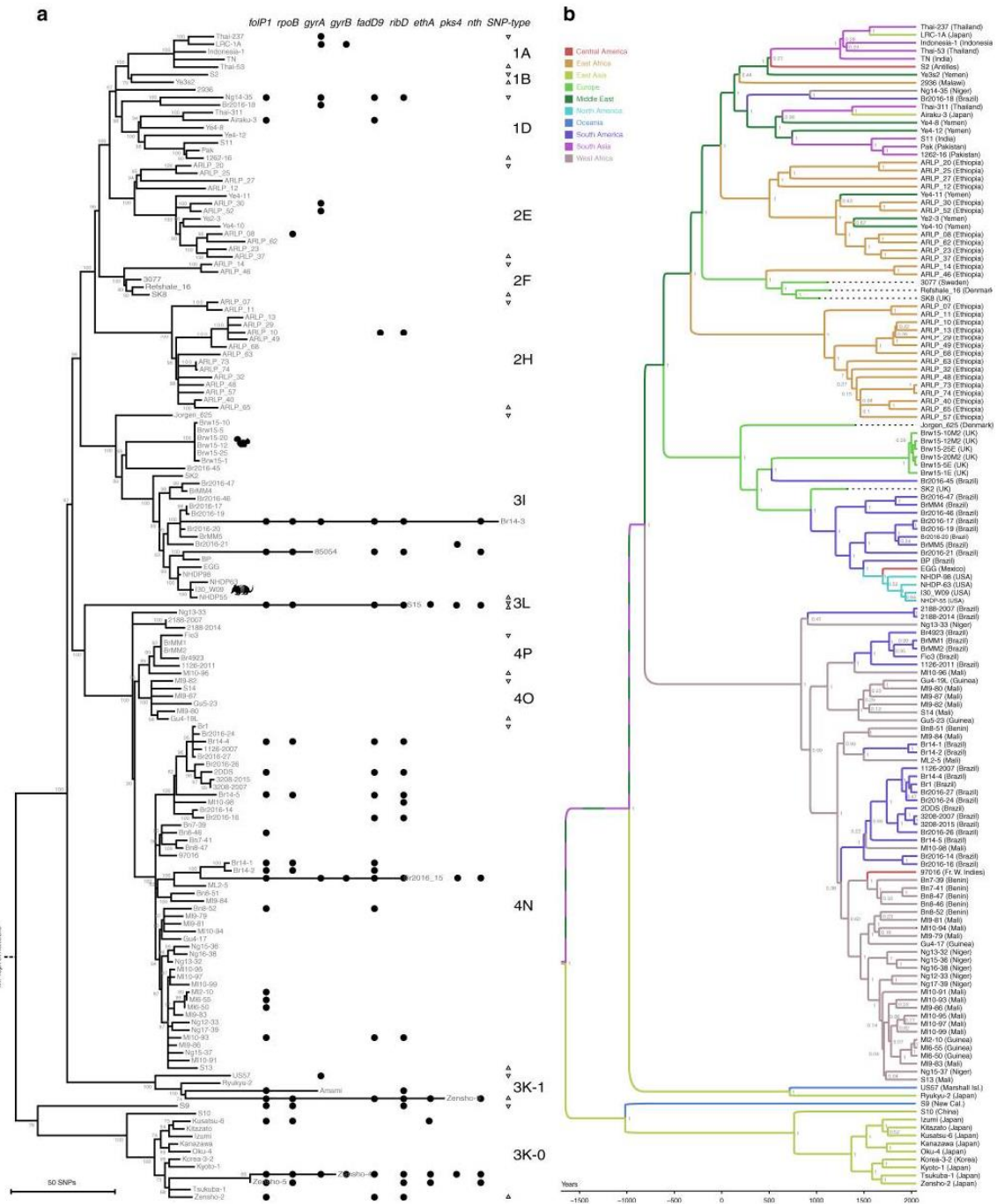
A investigação de novos mecanismos de resistência ou da influência da diversidade genética na transmissão e patogenicidade de doenças é geralmente conduzida pela classificação clínica, características fenotípicas e diferenças epidemiológicas. Assim, a predominância de uma determinada cepa ou linhagem do agente causador em surtos inesperados são importantes componentes para estabelecer a rota de transmissão em uma localidade ou população (Bryant e col., 2016; Folkvarlsen e col., 2018). As investigações genômicas de outras micobactérias patogênicas, como surtos de *M. tuberculosis* ou *M. abscessus*, apontam para a existência de mutações relacionadas com

os episódios (Bryant e col., 2016; Folkvarlsen e col., 2018). Essas variações são validadas mediante ensaios laboratoriais (Hicks e col., 2018).

Para a infecção por *M. leprae*, relacionar a doença com o genótipo do microrganismo é algo ainda complexo, pois a enfermidade possui extenso período de incubação, com amplo espectro clínico e a, com período extenso de incubação da doença e impossibilidade de cultivo *in vitro* prejudica a obtenção de DNA em concentrações e integridade satisfatórias para abordagens moleculares de alta resolução (Hicks e col., 2018).

A partir do sequenciamento do genoma de *M. leprae* muitos loci foram identificados com segmentos contendo repetições de 2 ou mais pares de bases (chamados micro e minissatélites) (Jensen e col., 2011). Cepas clínicas de *M. leprae* podem variar no número de segmentos repetidos em tandem (STR do inglês *short tandem repeats*) em muitos desses loci. A análise de repetição em tandem de número variável (VNTR) tem sido usada para distinguir diferentes cepas do bacilo da hanseníase. Alguns dos loci parecem ser mais estáveis que outros, apresentando menor variação no número de repetições, enquanto outros parecem mudar mais rapidamente, às vezes no mesmo paciente (REF). Embora a variabilidade de certos VNTRs tenha levantado questões sobre sua adequação para tipagem de cepas, os dados já têm sugerido que essa abordagem incluindo a análise de vários loci, pode ser usada como uma ferramenta epidemiológica valiosa. A análise de múltiplos locus VNTR (MLVA) tem sido usada para estudar a evolução e transmissão da hanseníase em vários países, incluindo China, Malawi, Filipinas e Brasil (Jensen e col., 2011).

Benjak e colaboradores (2018) realizaram uma análise de genômica comparativa de 154 genomas de *M. leprae* de amostras de pacientes provenientes de diferentes áreas geográficas, incluindo na sua maioria pacientes que apresentavam recidiva ou suspeita de resistência para a doença de hanseníase (Figura 1.1). Apesar de que os resultados dos testes de sensibilidade aos medicamentos *in vivo* não estavam disponíveis para todas as cepas investigadas, foi observado entre os genomas analisados que 20,8% possuíam ao menos uma mutação associada a resistências a um dos fármacos usados no tratamento da hanseníase. Mutações na DRDR de *rpoB*, *folP1* e *gyrA*, sabidamente associadas a resistência foram observadas, além de mutações ainda não descritas nestes ou outros genes.



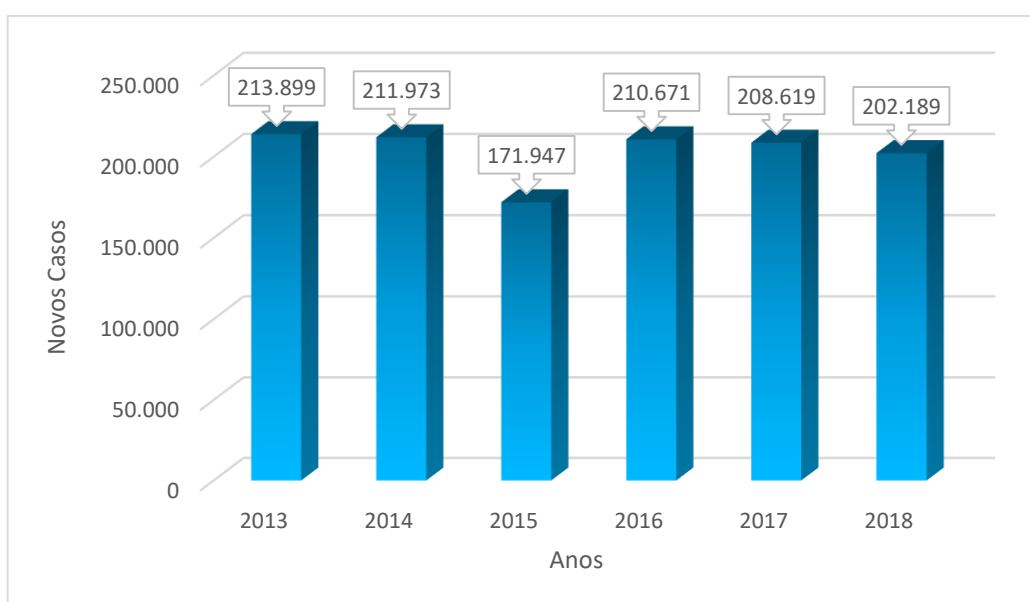
**Figura 1.1. Filogenia de *M. leprae*. Árvore de máxima parcimônia de 154 genomas de *M. leprae* (Benjak e col., 2018).**

## 2. Epidemiologia da hanseníase

### 2.1. Epidemiologia da hanseníase no mundo

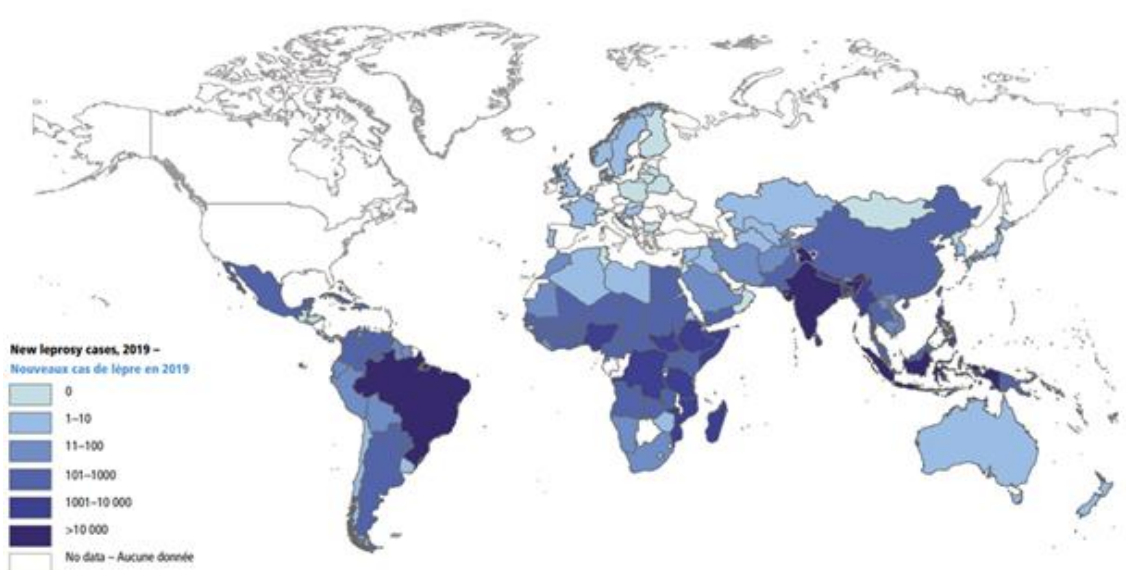
Segundo dados da OMS, em 2019, a prevalência global da hanseníase foi de 202.189 novos casos em 133 países. Não houve redução significativa da prevalência desde 2014, conforme mostrado na Figura 1.2, o que indica um grau de transmissão contínua, principalmente na Índia, no Brasil e na Indonésia, por concentrar os maiores números de casos novos detectados (82,4%) (OMS, 2020).

O Brasil se enquadra nos países com maior notificação de casos em 2019, permanecendo dentro dos focos de alta endemicidade (OMS, 2017a; MS, 2017b; OMS, 2019).



**Figura 1.2. Prevalência global de hanseníase de 2014 a 2019 (dados OMS, 2019).**

A distribuição geográfica dos casos novos detectados em 2019 é mostrada na Figura 1.3, com uma faixa de tons de azul, ressaltando o maior número de novos casos para os anos 2013, 2014 e 2016, enquanto 13 outros países (Bangladesh, República Democrática do Congo, Etiópia, Madagascar, Moçambique, Myanmar, Nepal, Nigéria, Filipinas, Somália, Sudão do Sul, Sri Lanka e República Unida do Tanzânia) relataram de 1000 a 10.000 novos casos.



**Figura 1.3. Distribuição dos casos novos hanseníase em 2019.** Destacados em azul escuro os países com maior registro de casos novos de hanseníase como Brasil, Índia e países de Asia e Oceania (OMS, 2019).

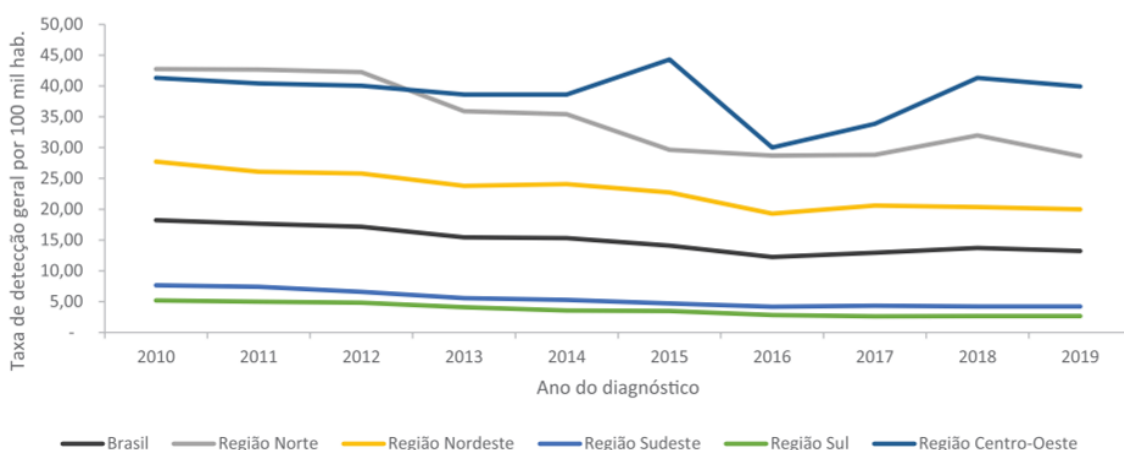
Nos últimos dez anos, as análises sobre a distribuição da hanseníase foram conduzidas em nível nacional, principalmente na Índia, Brasil e China. Índia e Brasil relataram o maior número de novos casos de hanseníase em 2018. Embora a Índia tenha alcançado a meta de eliminação da OMS em nível nacional em 2005, focos de alta endemicidade permanecem. Na última década na Índia foram detectados mais de 127.000 novos casos anuais, representando cerca de 60% do total de casos globais (Rao e Suneetha, 2018). A China atingiu a meta de eliminação em nível nacional na década de 1980, mas também continua a ter focos de alta endemicidade, especialmente no Sul, aonde as incidências de hanseníase são maiores do que a média nacional (Sun e col., 2019; OMS, 2019).

## 2.2. A hanseníase no Brasil

Da prevalência de hanseníase registrada mundialmente em 2019, 27.863 casos novos pertenciam ao Brasil, o que representa 93% e 13,8% de todos os casos novos detectados entre os países endêmicos na região das Américas e no mundo, respectivamente (WHO, 2020). Entre os anos de 2010 e 2019 foram diagnosticados 301.638 casos novos de hanseníase, sendo que a taxa de detecção geral de casos novos, nesse período, apresentou uma redução de 37,7%, passando de 18,2 em 2010 para 13,2

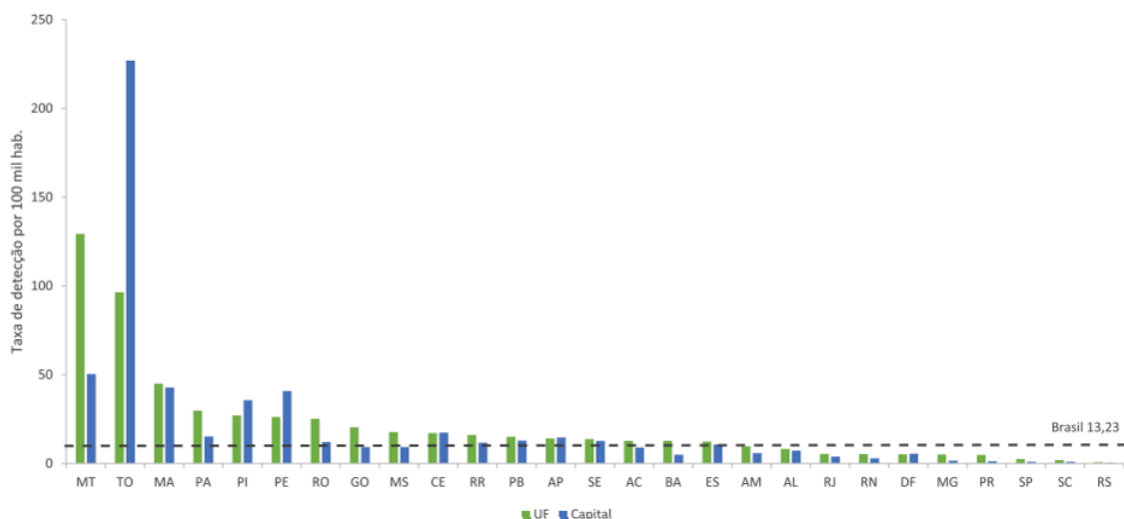
por 100.000 habitantes em 2019. O país se manteve no parâmetro de alta endemicidade entre os anos de 2010 e 2019, exceto nas regiões Norte e Sudeste (Brasil, 2021), que apresentaram maiores taxas de detecção geral de casos novos de hanseníase, seguidas da região Nordeste (Figura 1.4). Quanto à taxa de prevalência, o Brasil apresentou uma pequena redução (4%), passando de 15,6 por 100.000 habitantes em 2009 para 15,0 por 100.000 habitantes em 2019, permanecendo na taxa de prevalência média no período (Brasil, 2021).

O Brasil também apresenta diferentes taxas anuais de prevalências da doença variando de 1,4 a 15,52/100.000 habitantes, respectivamente nos estados do Rio Grande do Sul (Sul) e Mato Grosso (na região amazônica) (Ministério da Saúde, 2019). Portanto, é importante entender a dinâmica da transmissão de *M. leprae*, identificando os locais com maior endemicidade para distinguir focos de transmissão ativa para conseguir, por meio de estratégias de controle eficazes, a redução da taxa de detecção de casos.



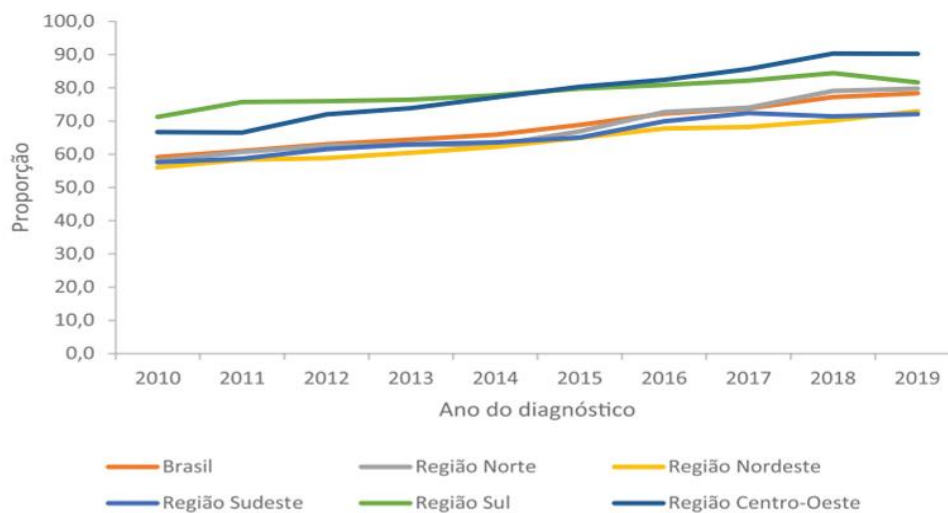
**Figura 1.4. Taxa de detecção geral de casos novos de hanseníase por 100.000 habitantes segundo região de residência. Brasil, 2010 a 2019. (Boletim Epidemiológico, 2021).**

Em 2019, o Mato Grosso foi a Unidade da Federação (UF), segundo classificação do boletim epidemiológico, que apresentou a maior taxa de detecção geral, 129,38 casos novos por 100.000 habitantes; sua capital, Cuiabá, registrou a taxa de 50,45 casos por 100.000 habitantes. O Tocantins ocupou a segunda posição entre as UF, com 96,44 casos novos por 100.000 habitantes, e sua capital, Palmas, registrou uma taxa de 226,99 casos por 100.000 habitantes, a maior entre as capitais do país. O Rio Grande do Sul e Santa Catarina, assim como suas capitais, apresentam baixa endemicidade (Figura 1.5) (Brasil, 2021).



**Figura 1.5. Taxa de detecção geral de casos novos de hanseníase por 100.000 habitantes segundo Unidade da Federação e capital de residência. Brasil 2019. (Boletim Epidemiológico, 2021).**

Na Figura 1.6 observa-se um aumento na proporção de casos novos MB no país e regiões durante o período analisado. No Brasil, a proporção de casos novos MB foi de 59,1% em 2010 e de 78,4% em 2019, apresentando aumento de 32,6%. No período da análise, foi evidenciado incremento em todas as regiões, com maior proporção nas regiões Norte e Centro-Oeste, com 37,3% e 35,2%, respectivamente (Figura 1.6) (Brasil, 2021).

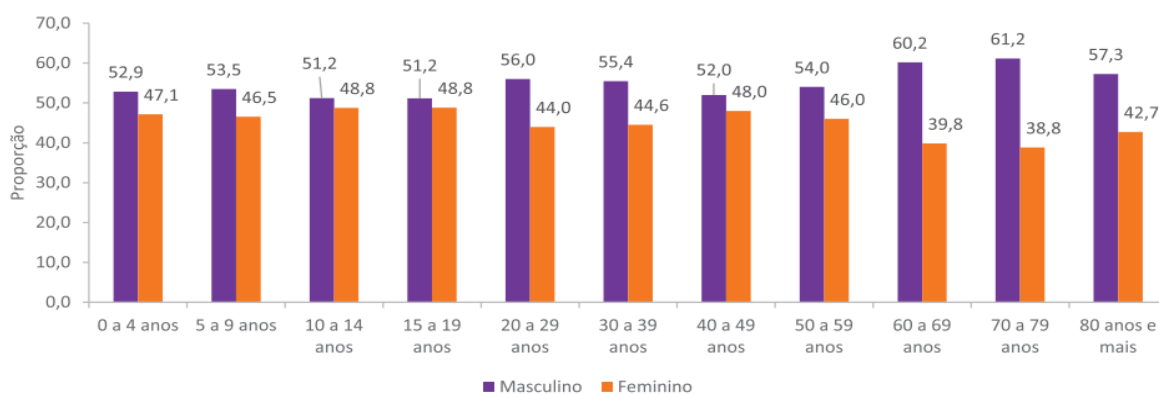


**Figura 1.6. Proporção de casos novos multibacilares entre o total de casos novos segundo região de residência. Brasil, 2010 a 2019. (Boletim epidemiológico, 2021).**

Entre os anos de 2015 e 2019, foram diagnosticados no Brasil 137.385 casos novos de hanseníase. Destes, 75.987 ocorreram no sexo masculino, o que corresponde a 55,3% do total. Essa predominância foi observada na maioria das faixas etárias e anos da

avaliação, com maior frequência nos indivíduos entre 50 e 59 anos, totalizando 26.156 casos novos

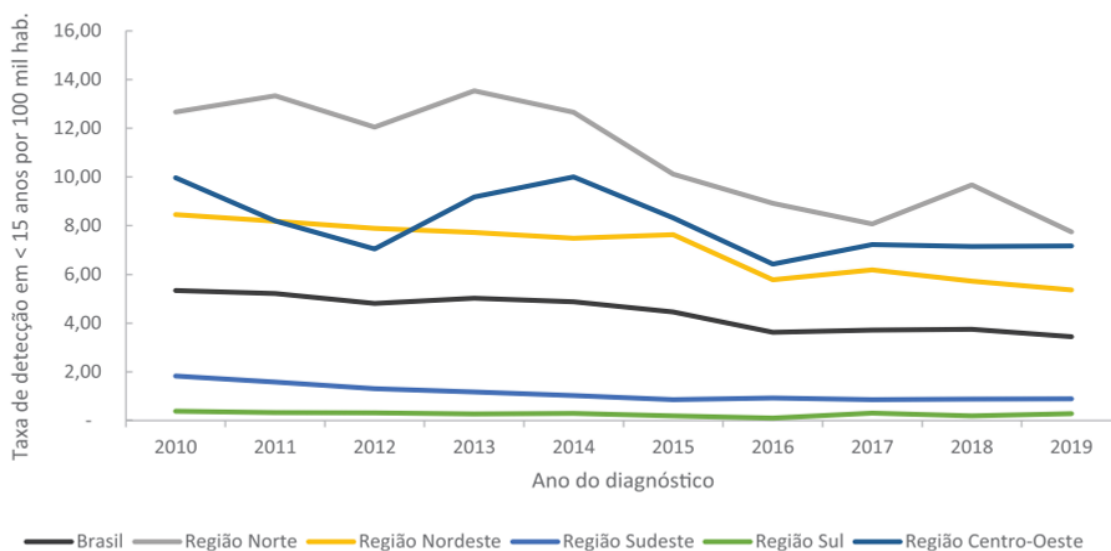
A figura 1.7 apresenta a proporção de casos novos de hanseníase diagnosticados nos últimos cinco anos (2015 a 2019), de acordo com os dados apresentados pelo boletim epidemiológico, segundo sexo e faixa etária. No acumulado desse período, identificou-se que em todas as faixas etárias o sexo masculino possui a maior proporção de casos. Vale ressaltar uma variação maior da proporção entre os sexos, de aproximadamente 20% após 60 anos (Figura 1.7) (Boletim Epidemiológico, 2021).



**Figura 1.7. Proporção de casos novos de hanseníase segundo sexo e faixa etária. Brasil, 2015 a 2019. (Boletim Epidemiológico, 2021).**

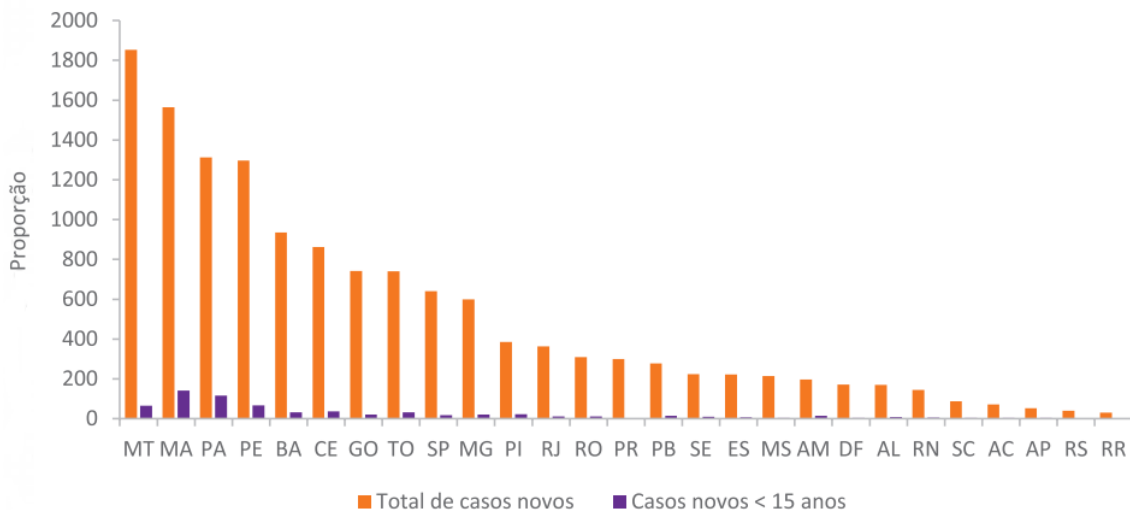
Com relação a incidência de hanseníases em menores de 15 anos, foram notificados, no período entre 2010-2019 no Brasil, 20 684 casos novos. Em relação à taxa de detecção de casos novos em menores de 15 anos, o país apresentou uma redução de 55,2%, passando de 5,34 em 2010 para 3,44 em 2019, com mudança dos parâmetros de “muito alto” para “alto” (Brasil, 2021). Também se observa redução desse indicador em todas as cinco regiões do país; entretanto, é notável uma flutuação nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste (Figura 1.8). A ocorrência de casos nessa faixa etária indica focos de transmissão ativa, importante sinalizador para o monitoramento da endemia (Brasil, 2002).





**Figura 1.8. Taxa de detecção de casos novos de hanseníase em menores de 15 anos por 100.000 habitantes segundo região de residência. Brasil, 2010 a 2019. (Boletim epidemiológico, 2021).**

O cenário frente à emergência em saúde pública ocasionada pela pandemia de covid-19 exigiu estratégias voltadas para a reorganização do processo de trabalho no território brasileiro, visando principalmente a manutenção do diagnóstico e do tratamento da hanseníase. A epidemia de Covid-19 influenciou o diagnóstico e o acompanhamento dos casos de hanseníase no Brasil (Cambau, Saunderson e Gillini, 2019). Dados preliminares de 2020 mostram que o Brasil diagnosticou 13.807 casos novos de hanseníase, sendo 672 (4,9%) em menores de 15 anos. O Mato Grosso é a UF que apresenta o maior número de casos novos na população geral, 1.853, seguido do Maranhão, Pará e Pernambuco, com mais de mil casos cada um. O Rio Grande do Sul e Roraima diagnosticaram menos de 50 casos novos da doença. O Maranhão ocupa a primeira posição em número de casos novos em menores de 15 anos (142), seguido do Pará e Pernambuco (Figura 1.9). A existência de menores de 15 anos com a doença indica comumente a ocorrência de transmissão de pacientes das formas multibacilares que não estão sendo devidamente tratados (Cambau, Saunderson e Gillini, 2019).



**Figura 1.9. Número total de casos novos de hanseníase e em menores de 15 anos segundo Unidade de Federação de residência. Brasil, 2020. (Boletim epidemiológico, 2021).**

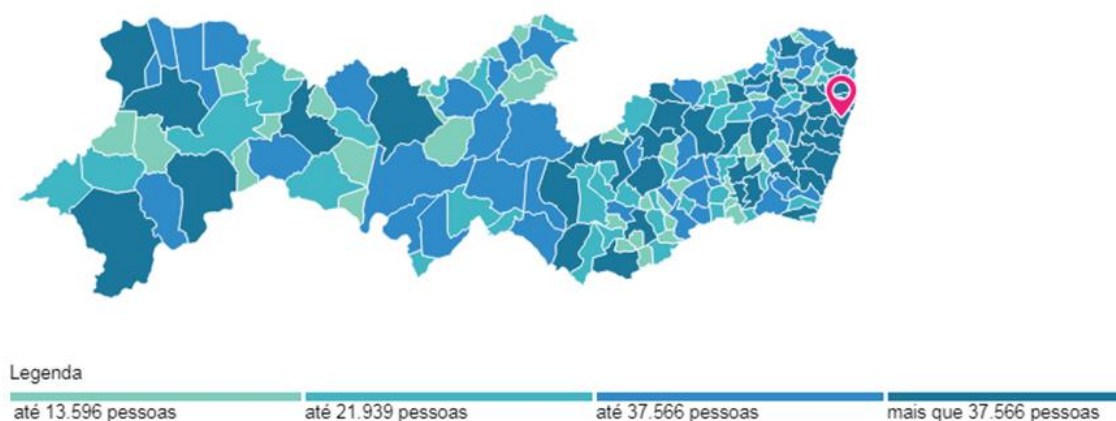
A detecção precoce de novos casos depende da apresentação espontânea dos pacientes ao sistema de saúde, busca ativa de casos e rastreamento de contatos (incluindo exame clínico e vacinação de contatos com BCG (Brasil 2016). Porém, devido às dificuldades operacionais no SUS, ainda existem deficiências quanto à cobertura e à qualidade das medidas de controle e prevenção (Souza, e col., 2018; Romanholo, e col., 2018). Apesar do coeficiente de detecção da hanseníase no Brasil ser de 12,23 por 100.000 habitantes em 2016, regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste apresentam altos índices de casos, 28,70; 19,30 e 30,02 respectivamente (Brasil, 2017a). Em 2016, no que diz respeito à taxa de detecção anual de casos novos de hanseníase em menores de 15 anos, a realidade nacional foi de 3,63 por 100.000 habitantes, com parâmetros de 8,92 na Região Norte, 5,78 no Nordeste e 6,42 no Centro-Oeste do Brasil. Tal resultado apresenta focos da doença e seu acompanhamento epidemiológico é relevante para o controle da hanseníase (BRASIL, 2017b).

### 2.3 A hanseníase no estado de Pernambuco

A distribuição de casos de hanseníase ocorre de forma desigual no território brasileiro, caracterizando-se por grande concentração urbana. Na porção centro-leste da Região Nordeste do Brasil, localiza-se o estado de Pernambuco, sua extensão territorial é de 98.067 km<sup>2</sup>, e conforme contagem populacional realizada em 2020 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), totaliza 9.616.621 habitantes, correspondendo a aproximadamente 4,6% da população brasileira (IBGE, 2020).

A população pernambucana está distribuída em 185 municípios. O crescimento demográfico é de 1,1% ao ano e a densidade demográfica é de aproximadamente 89,6 hab/km<sup>2</sup>. Cerca de 80% da população reside em áreas urbanas e 20% em zonas rurais e com os centros urbanos localizados próximos ao litoral que concentram um elevado percentual da população pernambucana, enquanto o sertão é pouco povoado. O Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) do estado é 0,67, sendo o 19º colocado no ranking nacional (IBGE, 2020).

A expectativa de vida é de aproximadamente 74,3 anos e a taxa de mortalidade infantil é de 12,12 óbitos a cada mil nascidos vivos; aproximadamente 11,9% dos habitantes são analfabetos. A cidade de Recife é a capital de Pernambuco e abriga uma população de 1.653.461 habitantes e uma extensão territorial de 218,843 km<sup>2</sup>, como se mostra na Figura 1.10. Outras cidades populosas do estado são: Jaboatão dos Guararapes (706.867), Olinda (393.115), Caruaru (365.278), Paulista (334.376), Petrolina (354.317) (IBGE, 2020).

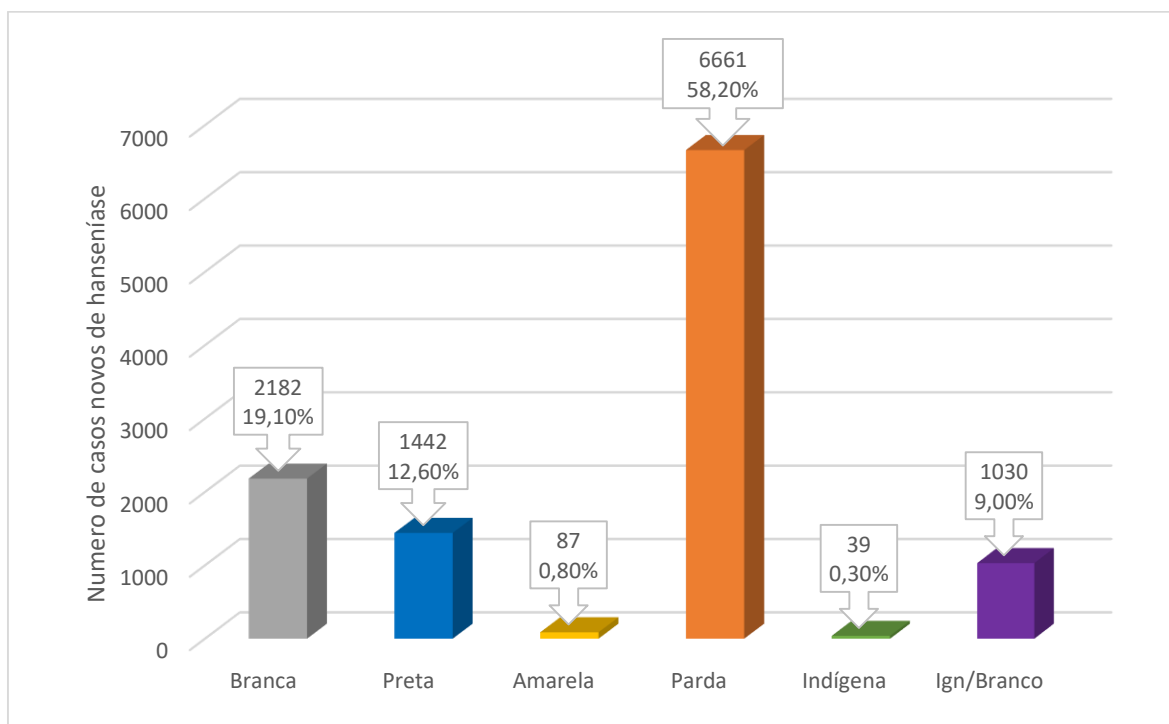


**Figura 1.10. Distribuição territorial, indicando com cores as proporções de população dos municípios do estado de Pernambuco (IBGE, 2020).**

Em Pernambuco, a hanseníase assume proporções preocupantes. Desde a última década, vêm sendo detectados mais de 2.000 casos novos da doença a cada ano, o que caracteriza um estado de alta endemicidade e de franca expansão da doença. Em 2018, foram registrados 2.263, novos casos de hanseníase no Estado, e para 2019, foram mais de 2.300 novos casos da doença, posicionando-se como o terceiro da região Nordeste (Brasil, 2020).

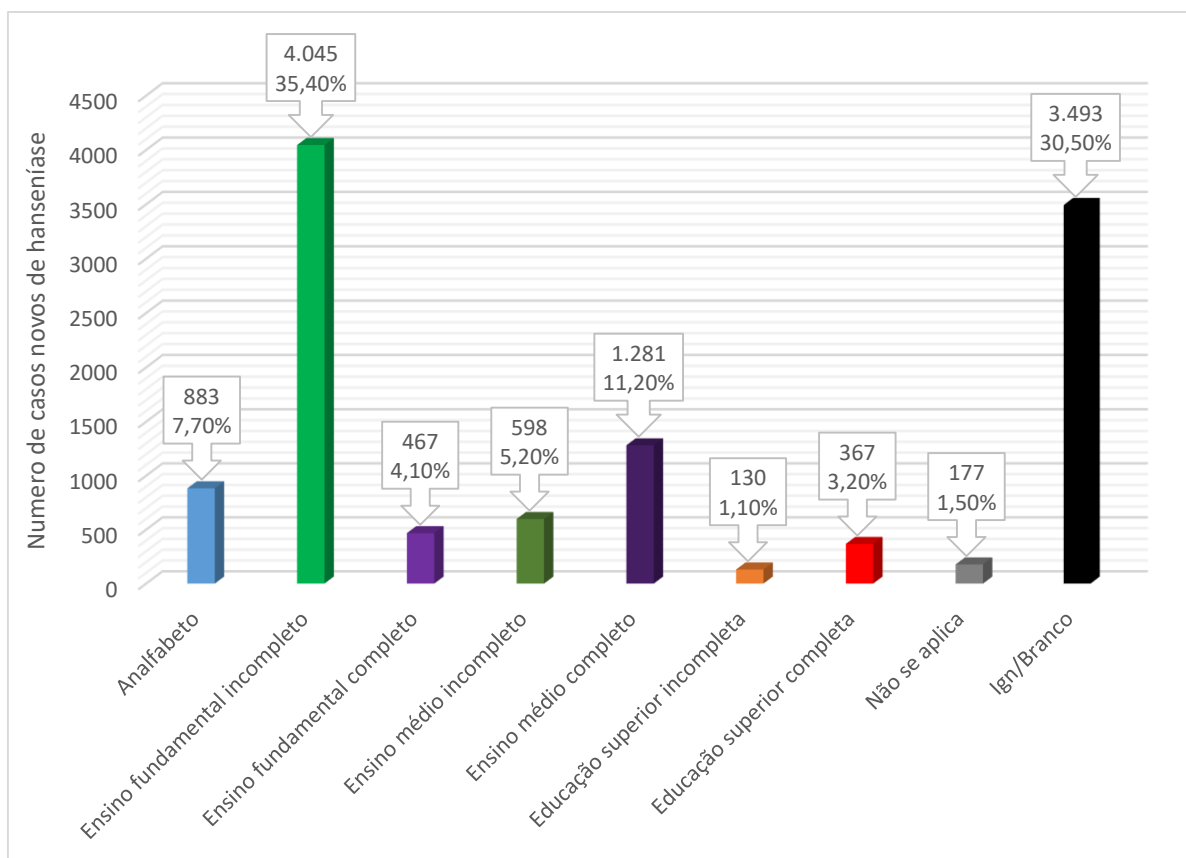
Para a cidade de Recife, capital de Pernambuco, o Boletim de epidemiologia registrou em 2018, uma taxa de detecção geral de casos novos de hanseníase por 100.000 habitantes, posicionando-se como terceiro município com maior taxa de detecção da Região Nordeste, depois de São Luís com 43,1 e Teresina com 41,4 (Brasil, 2020).

A distribuição da endemia no estado, a exemplo do que ocorre no país, também não se apresenta de forma homogênea. A maior concentração ocorre nos grandes centros urbanos, mais especificamente em suas periferias. Nas próximas figuras, pode-se observar os principais indicadores epidemiológicos referente ao estado de Pernambuco; na Figura 1.11 apresenta-se o número e proporção de casos novos de hanseníase classificados por raça/cor, autodeclararam-se pardos 58,2%, sendo este o maior valor registrado, como se mostra nos percentuais dos rótulos de dados da figura (Brasil, 2013).



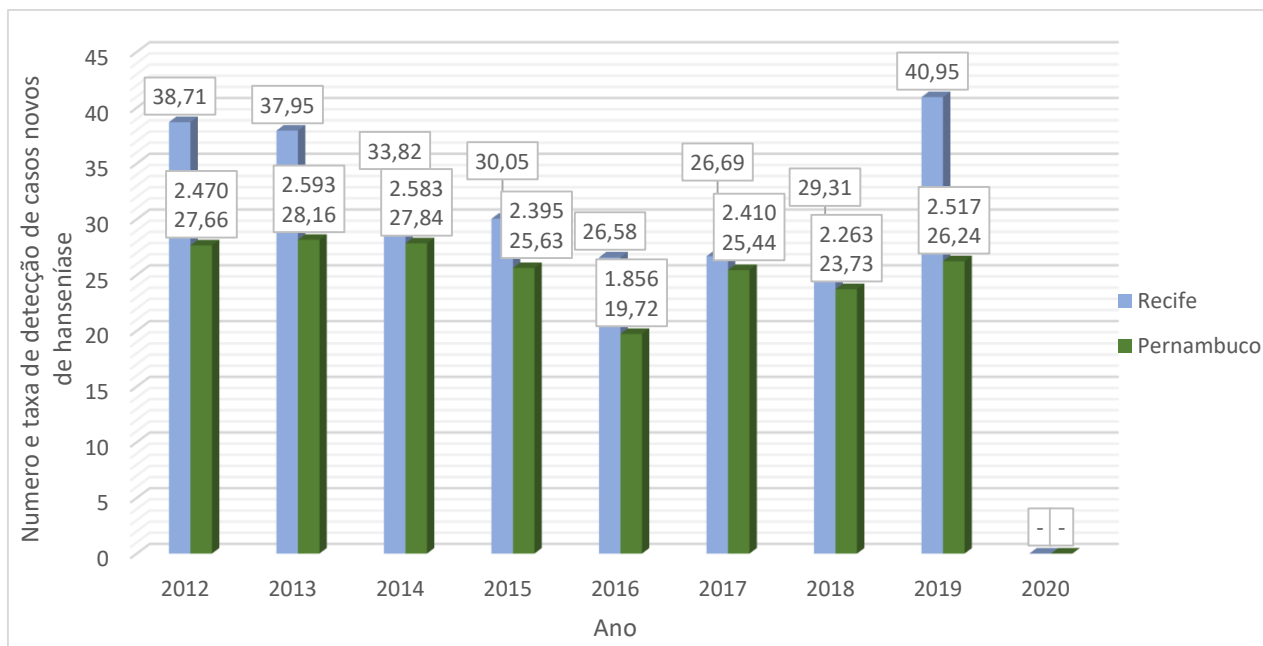
**Figura 1.11. Número e proporção de casos novos de hanseníase segundo raça/cor no estado de Pernambuco (Brasil, 2013).**

No indicador epidemiológico de escolaridade no estado de Pernambuco, 35,4% dos casos novos de hanseníase declararam ter ensino fundamental incompleto, 4,1% ensino fundamental completo, 5,2% ensino médio incompleto, 11,2% ensino médio completo, 1,1% educação superior incompleta, 3,2% educação superior completa, 7,7% são analfabetos, para o 1,5% não se aplica este indicador (idade não escolar) e 30,5% correspondem aos pacientes que não responderam estas perguntas no momento da entrevista (dados ignorados ou em branco), como mostrado na Figura 1.12 (Brasil, 2013).



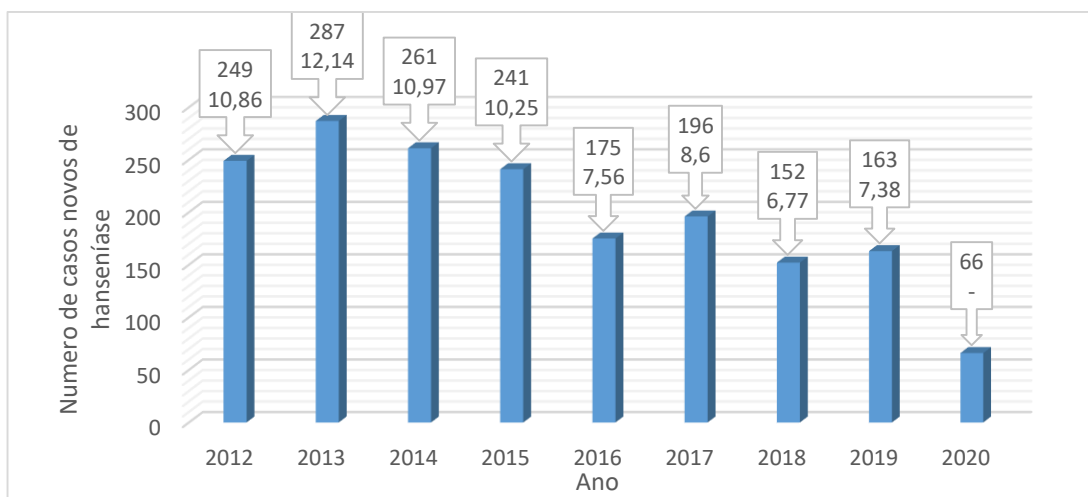
**Figura 1.12. Número e proporção de casos novos de hanseníase segundo escolaridade no estado de Pernambuco (Brasil, 2013).**

A figura 1.13 mostra em verde o número e taxa de detecção geral de casos novos de hanseníase por 100.000 habitantes para Pernambuco entre os anos 2012 - 2020 se apresenta com a barras verdes na Figura 1.13; observando-se a maior taxa para o ano 2013, seguido do ano 2014. Para 2020 só foi contabilizado 1.296 casos novos, mas a taxa de detecção geral ainda não foi publicada. As barras azuis, também apresentam a taxa de detecção geral de casos novos de hanseníase por 100.000 habitantes em Recife, capital de Pernambuco, mostrando-se um descenso de 2012 até 2016 e um posterior aumento de 2017 até 2019, estando ainda ausentes registros de taxa para o ano 2020, sendo que a maior taxa registrada de 40,9 foi no ano 2019 (Brasil, 2013).



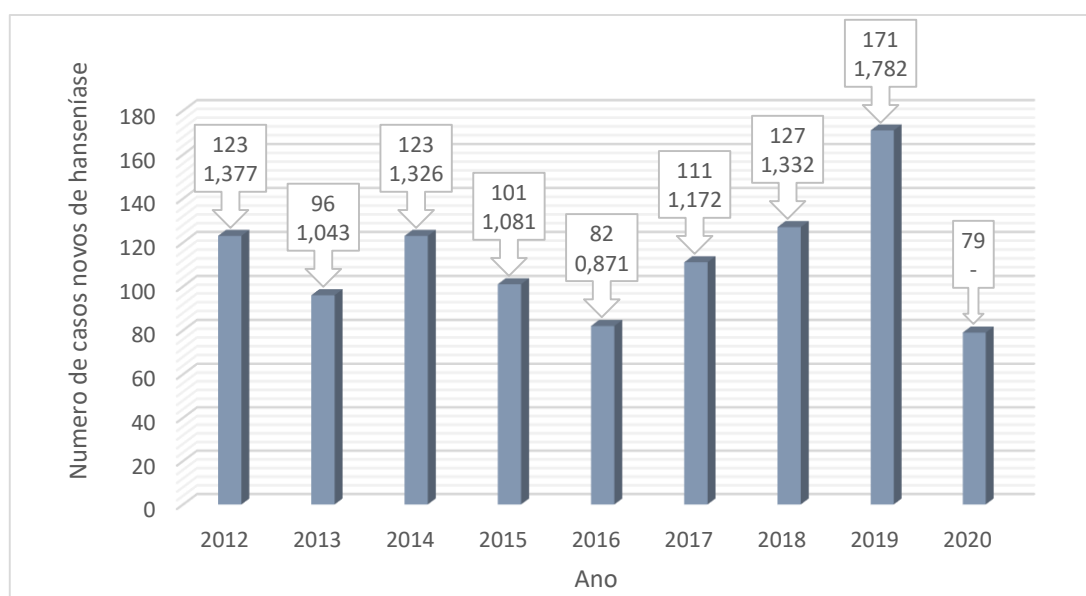
**Figura 1.13. Número e taxa de detecção geral no estado de Pernambuco e taxa detecção geral segundo capital Recife, de casos novos de hanseníase por 100.000 habitantes (Brasil, 2013).**

Já o indicador epidemiológico de casos novos de hanseníase em menores de 15 anos para o estado de Pernambuco (Figura 1.14) mostra em 2012 249 casos novos registrados, 2013 teve o maior registro com 287 casos novos correspondentes a uma taxa de 12,14, nos anos seguintes teve uma diminuição, mas no ano 2017 aumento para 196 casos e em 2018 uma nova queda de 152 casos, sendo que para 2019 apresenta-se um pequeno aumento de casos (n=163) e no ano de 2020 foram contabilizados apenas 66, como mencionado anteriormente a diminuição dos indicadores epidemiológicos da Hanseníase sofreram impactos epidemia de SARS-CoV-2, isto pode desencadear sérias repercussões. A epidemia de SARS-CoV-2 se sobrepôs a doenças com quadro de persistência como a tuberculose, hanseníase e outras doenças tropicais negligenciadas (Fronteira e col. 2021; Bispo Junior & dos Santos 2021 e (Plano de Ação, 2013; Brasil, 2020).



**Figura 1.14. Número e taxa de detecção de casos novos de hanseníase em menores de 15 anos por 100.000 habitantes no estado de Pernambuco (Brasil, 2020).**

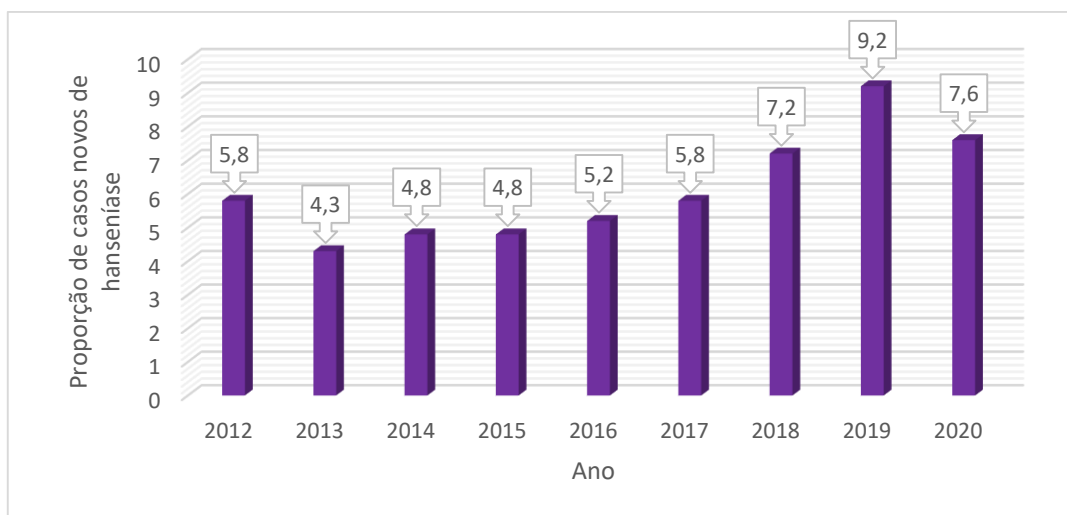
A Figura 1.15 apresenta o número e taxa de casos novos de hanseníase com grau 2 de incapacidade física por 100.000 habitantes para o estado de Pernambuco, registrando-se a maior taxa no ano 2019 de 1,782 correspondente a 171 casos novos de entre os nove anos avaliados, para o ano 2020 foram registrados 79 casos novos, mas ainda não temos a taxa total de casos novos com grau 2 de incapacidade física (Brasil, 2013).



**Figura 1.15. Número e taxa de casos novos de hanseníase com grau 2 de incapacidade física por 1 milhão de habitantes no estado de Pernambuco (Brasil, 2013; Brasil, 2020).**

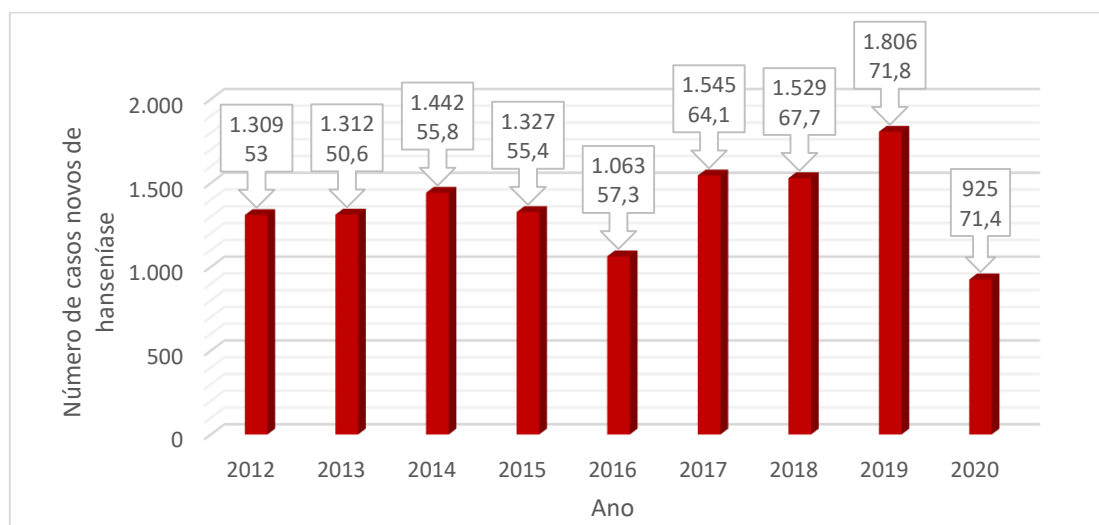
Com relação ao indicador epidemiológico de grau 2 de incapacidade para o estado de Pernambuco a Figura 1.16 mostra a proporção de casos novos de hanseníase com esta

característica de incapacidade física no momento do diagnóstico. Estes dados podem indicar diagnóstico tardio, mostrando uma tendência de diminuição da proporção entre os anos 2012 até 2015, mas um aumento a partir do ano 2016 até o 2019 apresenta-se aumentos da proporção de casos novos com grau 2 de incapacidade física para hanseníase (Brasil, 2013; Brasil, 2020).



**Figura 1.16. Proporção de casos novos de hanseníase com grau 2 de incapacidade física no momento do diagnóstico para o estado de Pernambuco (Brasil, 2013; Brasil, 2020).**

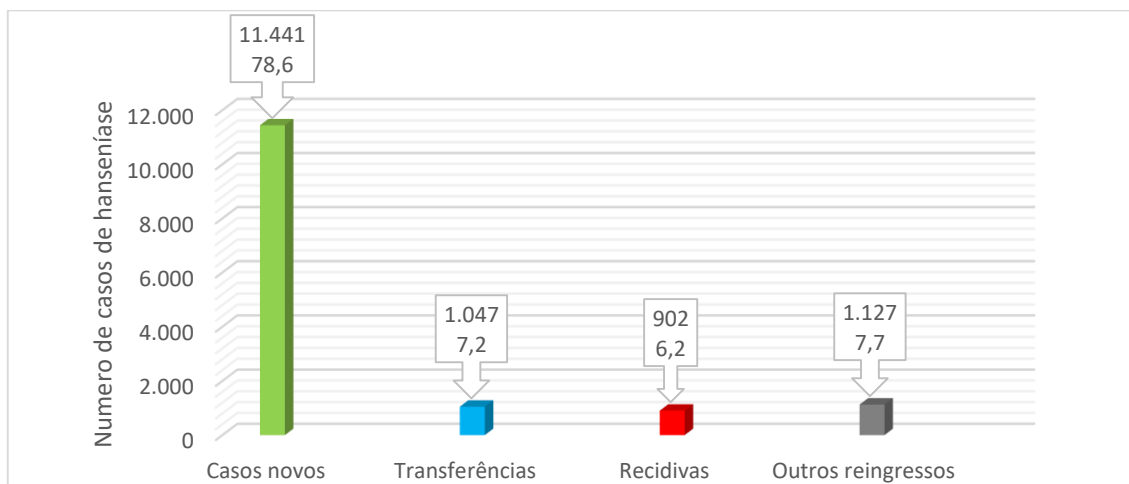
Na Figura 1.17 apresenta-se o número e proporção de casos novos de hanseníase MB entre todos os casos novos registrados para Pernambuco entre os anos 2012 até 2020, mostrando-se um aumento de casos entre os anos 2017 até 2020, dados importantes, pois os pacientes multibacilares são responsáveis pela transmissibilidade da bactéria (Brasil, 2013; Brasil, 2020).



**Figura 1.17. Número e proporção de casos novos de hanseníase multibacilares entre todos os casos novos no estado de Pernambuco (Brasil, 2013; Brasil, 2020).**

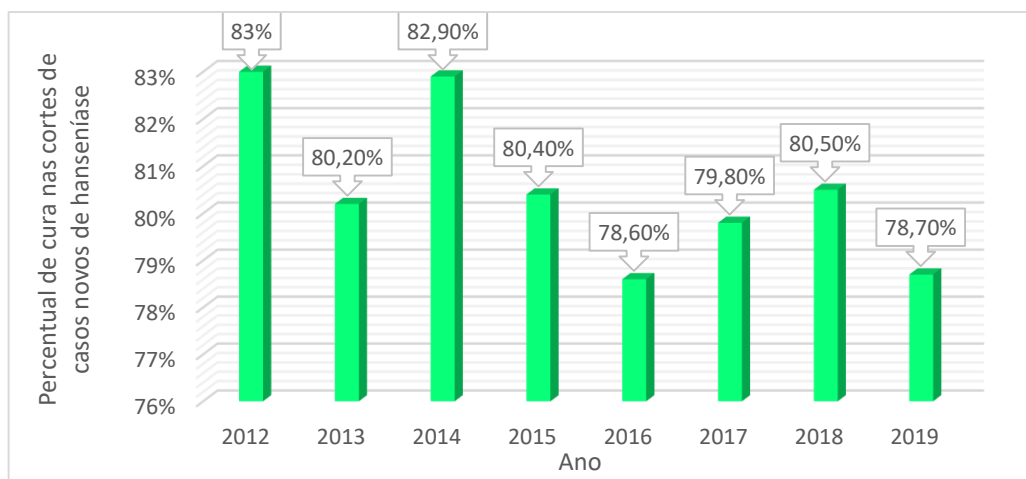


Na Figura 1.18 apresenta-se o número e proporção de casos de hanseníase segundo o modo de entrada para o estado de Pernambuco, sendo 11.441 casos novos (78,6%), 1.047 casos de transferências (7,2%), 902 casos de recidivas (6,2%) e 1.127 casos de outros reingressos (7,7), totalizando 14.553 casos de hanseníase para Pernambuco registrados pelo plano de ação integrado de ações estratégicas de eliminação da hanseníase do MS, publicado em 2013 (Brasil, 2013; Brasil, 2020).



**Figura 1.18. Número e proporção de casos de hanseníase segundo modo de entrada no estado de Pernambuco entre os anos 2012 até 2019 (Brasil, 2013; Brasil, 2020).**

Na Figura 1.19 apresenta-se o percentual de cura nas coortes de casos novos da doença para o estado de Pernambuco. Para o ano 2012 apresenta-se o maior percentual de cura 83%, no ano 2013 diminuiu para 80,2%, sendo que para 2014 aumento novamente para 82,9%, seguido de uma nova queda no ano 2015 com 80,4%, e a partir do ano 2016 os percentuais diminuem em 78,6%, para 2017 em 79,8%, e em 2018 só incrementa levemente com 80,5% descendo uma última vez em 2019 com 78,7% (Brasil, 2013; Brasil, 2020).

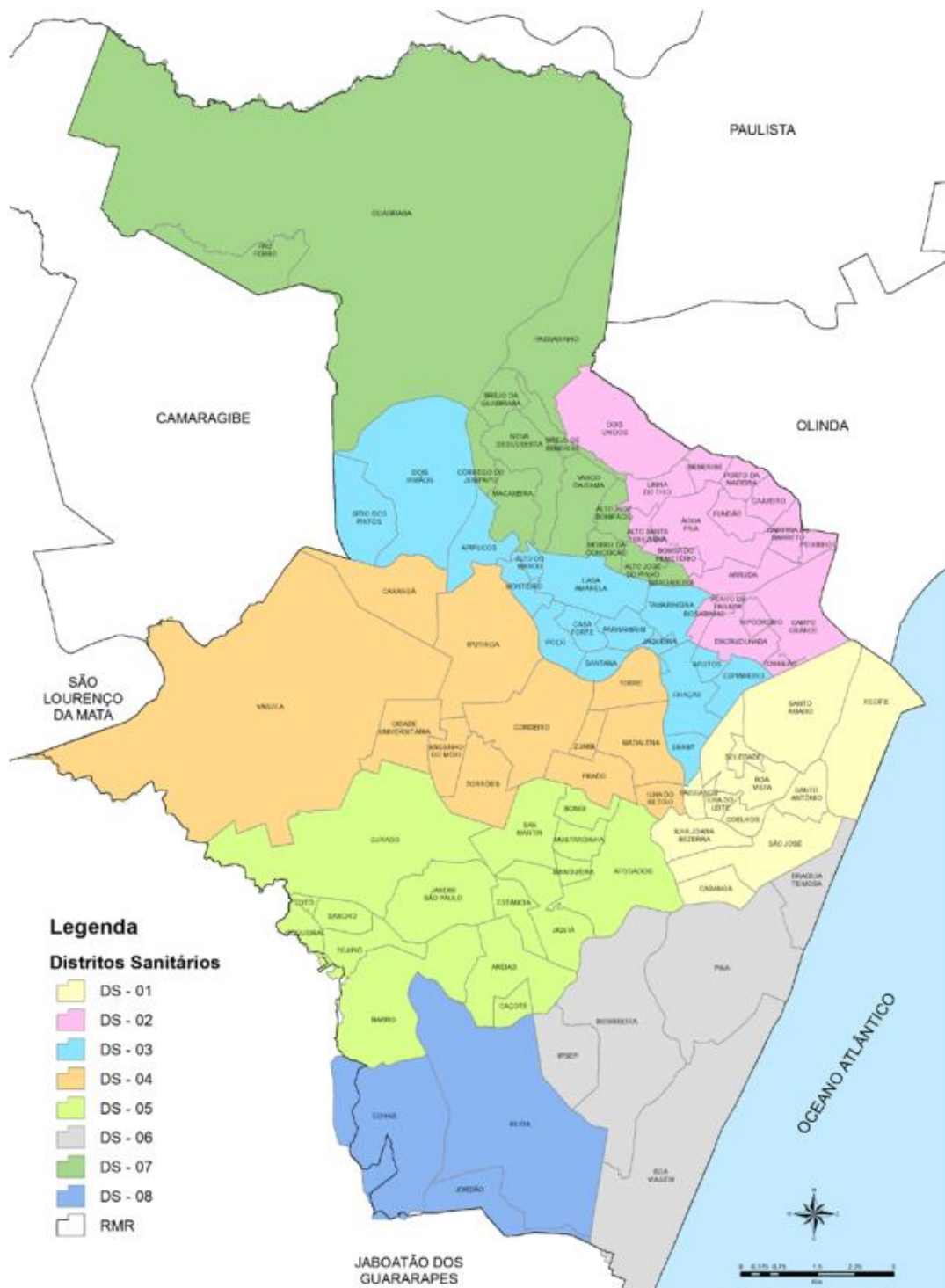


**Figura 1.19. Percentual de cura nas coortes de casos novos de hanseníase no estado de Pernambuco (Brasil, 2013; Brasil, 2020).**

## 2.4 A hanseníase no Recife

Recife situa-se no litoral nordestino e ocupa uma posição central, a 800 km das outras duas metrópoles regionais, Salvador e Fortaleza. Apresenta uma superfície territorial de 218,4 km<sup>2</sup> e limita-se ao norte com as cidades de Olinda e Paulista, ao sul com o município de Jaboatão dos Guararapes, a oeste com São Lourenço da Mata e Camaragibe, e a Leste com o Oceano Atlântico (Plano Municipal de Saúde, 2018).

Recife ocupa lugar de destaque no desenho das redes regionais de saúde de Pernambuco. É sede da Macrorregional I do estado, arranjo territorial que agrega as Regiões I, II, III e XII de Saúde (Figura 1.20.), com o objetivo de organizar, entre si, ações e serviços de média e alta densidade tecnológica (procedimentos/ações que requerem maior tecnologia e cuja demanda requer agregação, ou seja, otimização dos serviços, com economia de escala). Essa concentração de serviços localizados no Recife, com fluxos assistenciais definidos para o seu território, propicia uma constante pressão pela utilização dos estabelecimentos de saúde pertencentes à rede de atenção sob gestão do município. Nesse sentido, a participação efetiva do Recife nos espaços de pactuação e deliberação formais do SUS é um desafio premente para o aprimoramento de pactos assistenciais e financeiros em âmbito regional (Plano Municipal de Saúde, 2018).

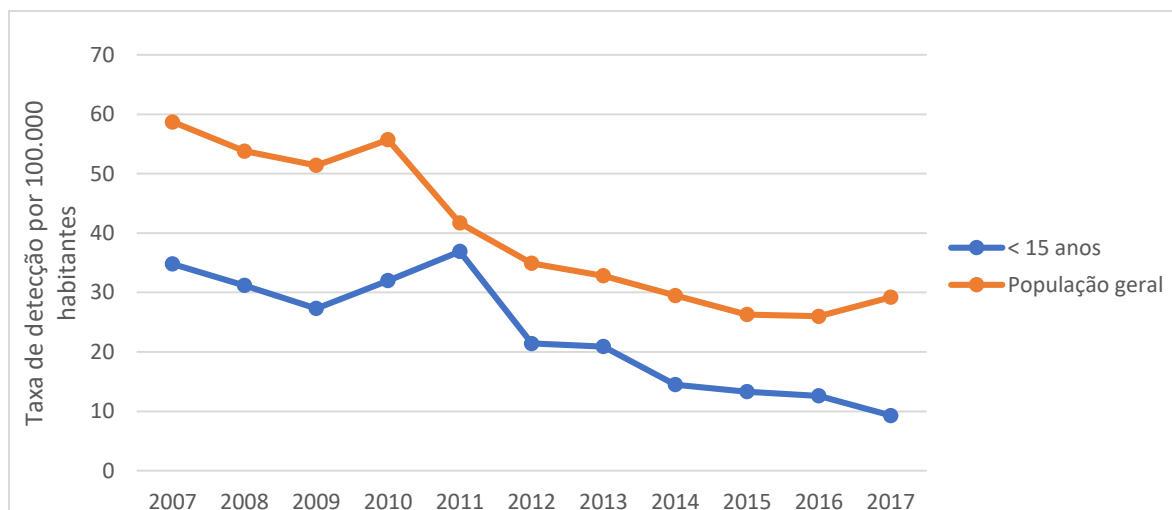


**Figura 1.20. Divisão territorial de saúde. Distritos Sanitários, Recife, 2018.** DS I (RPA 1 - centro: 11 bairros) - Recife, Cabanga, Soledade, Santo Amaro, São José, Coelhos, Boa Vista, Paissandu, Ilha Joana Bezerra, Santo Antônio, Ilha do Leite. DS II (RPA 2- norte: 18 bairros) - Torreão, Ponto de Parada, Rosarinho, Porto da Madeira, Fundão, Cajueiro, Encruzilhada, Beberibe, Hipódromo, Água Fria, Peixinhos, Bomba do Hemetério, Campina do Barreto, Arruda, Campo Grande, Alto Santa Terezinha, Linha do Tiro, Dois Unidos. DS III (RPA 3- noroeste: 16 bairros) - Afritos, Alto do Mandú, Apipucos, Casa Amarela, Casa Forte, Derby, Dois Irmãos, Espinheiro, Graças, Jaqueira, Monteiro, Parnamirim, Poço, Santana, Sítio dos Pintos, Tamarineira. DS IV (RPA 4 - oeste: 12 bairros) - Cidade Universitária, Engenho do Meio, Madalena, Várzea, Torrões, Torre, Iputinga, Prado, Zumbi, Cordeiro, Ilha do Retiro, Caxangá. DS V (RPA 5 - sudoeste: 16 bairros) - Caçote, Mangueira, Bongí, Mustardinha, Curado, San Martin, Jardim São Paulo, Areias, Sancho, Barro, Estância, Tejiipió, Coqueiral, Jiquiá, Totó, Afogados. DS VI (RPA 6 - sul: 5 bairros) - Boa Viagem, Brasília Teimosa, Imbiribeira, Ipsep e Pina.

DS VII (RPA 3 - 13 bairros) – Alto José Bonifácio, Alto José do Pinho, Mangabeira, Morro da Conceição, Vasco da Gama, Brejo da Guabiraba, Brejo de Beberibe, Córrego do Jenipapo, Guabiraba, Macaxeira, Nova Descoberta, Passarinho, Pau Ferro. DS VIII (RPA 6- 3 bairros) – Iburá, Jordão e Cohab.

Historicamente, os municípios com maior número de casos encontram-se na Região Metropolitana do Recife, sobretudo Recife, Jaboatão dos Guararapes e Olinda, provavelmente devido a maior circulação de agente etiológico e em função da concentração das referências de atenção secundárias de saúde situadas nessa regional de saúde, tanto no âmbito municipal, quanto estadual, havendo assim uma maior intensidade de diagnóstico e maior busca ativa concentrados nessa área (Boletim hanseníase, 2013 e 2020).

No período de 2007 a 2017, de acordo ao plano municipal de saúde para o Recife, houve uma redução no total de casos novos de hanseníase notificados na população em geral. Mas o risco da doença na cidade ainda é avaliado como alto e a subnotificação deve ser considerada. A taxa de detecção foi de 58,7 casos por 100.000 habitantes em 2007 e passou para 29,2 em 2017 (Figura 1.21) e em menores de 15 anos, a taxa caiu de 34,8 casos por 100.000 habitantes, para 9,3 em 2017 (Plano Municipal de Saúde, 2018).

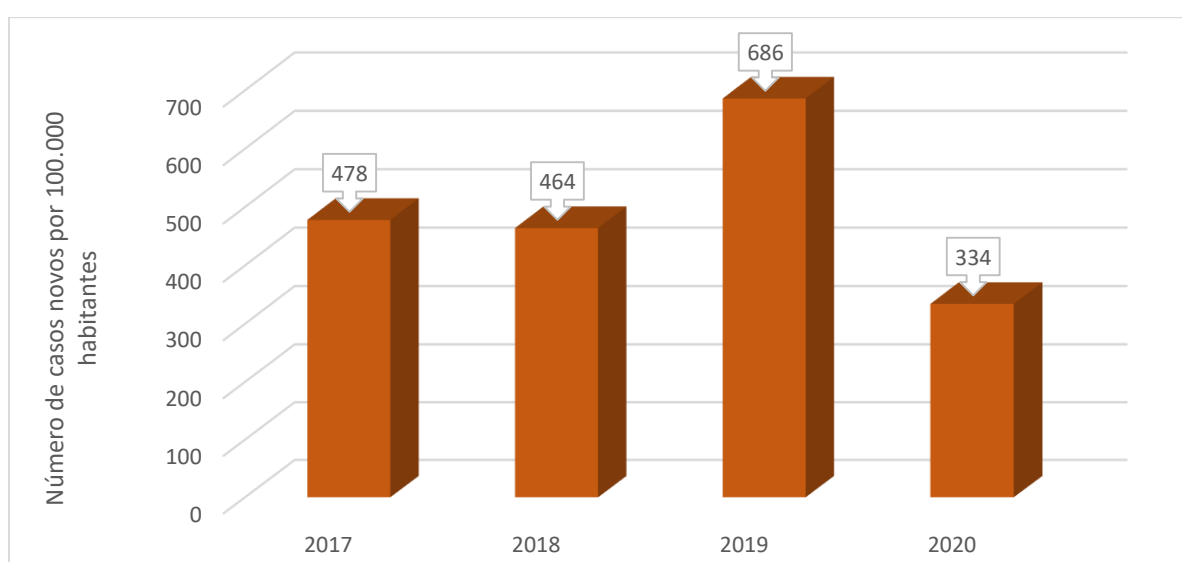


**Figura 1.21. Taxa de detecção na população geral e em menores 15 anos, por 100.000 habitantes de casos de hanseníase. Recife 2007- 2017 (Plano Municipal de Saúde, 2018).**

No ano de 2018, houve no Recife uma redução de 2,9% (n=478/464) no número de casos novos detectados, quando comparado com o ano anterior. Para o ano de 2019, houve no Recife um aumento de 32,4% no número de casos novos detectados, quando comparado com o ano anterior. O aumento do número de casos novos notificados pode ser resultado de uma melhor eficiência das ações de atenção e vigilância à saúde, mediante projetos implantados no

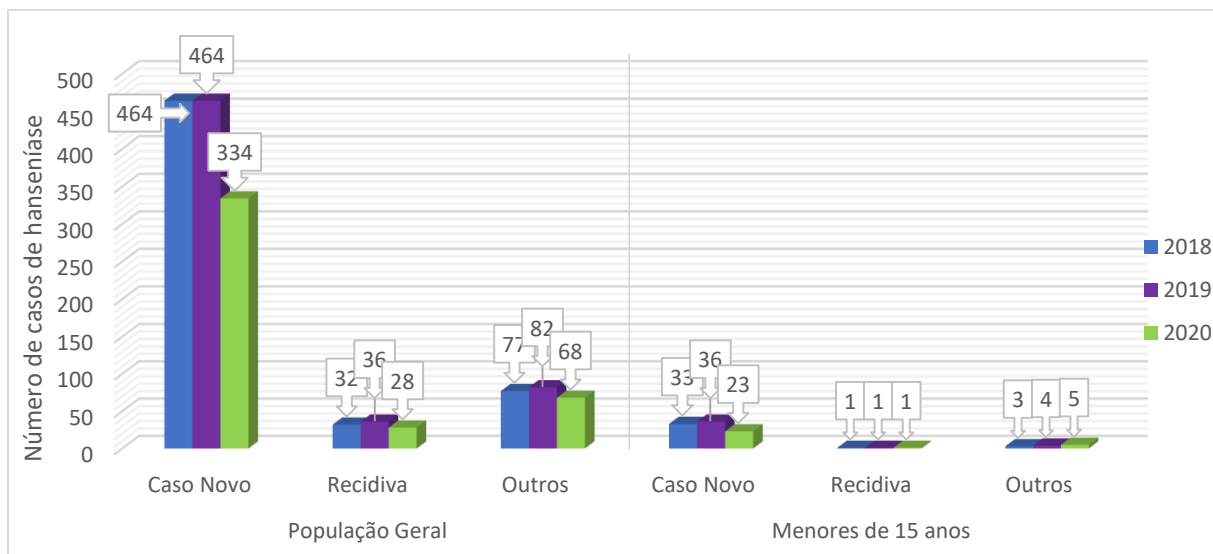
município, impactando diretamente na redução da subnotificação desta doença (Figura 22) (Boletim Epidemiológico 2018; 2019).

No ano de 2020, houve no Recife uma redução de 51,3% no número de casos novos detectados, quando comparado ao ano de 2019. Essa diminuição dos casos novos notificados, pode ser resultado da pandemia de Covid-19 que, dentre várias consequências, pode ter ocasionado limitações na atuação dos profissionais de saúde, tanto para busca de sintomáticos, como diminuição de atendimentos nas unidades de saúde causado pela necessidade de isolamento social, impactando diretamente no sub-diagnóstico desta doença (Figura 1.22) (Boletim Epidemiológico 2020).



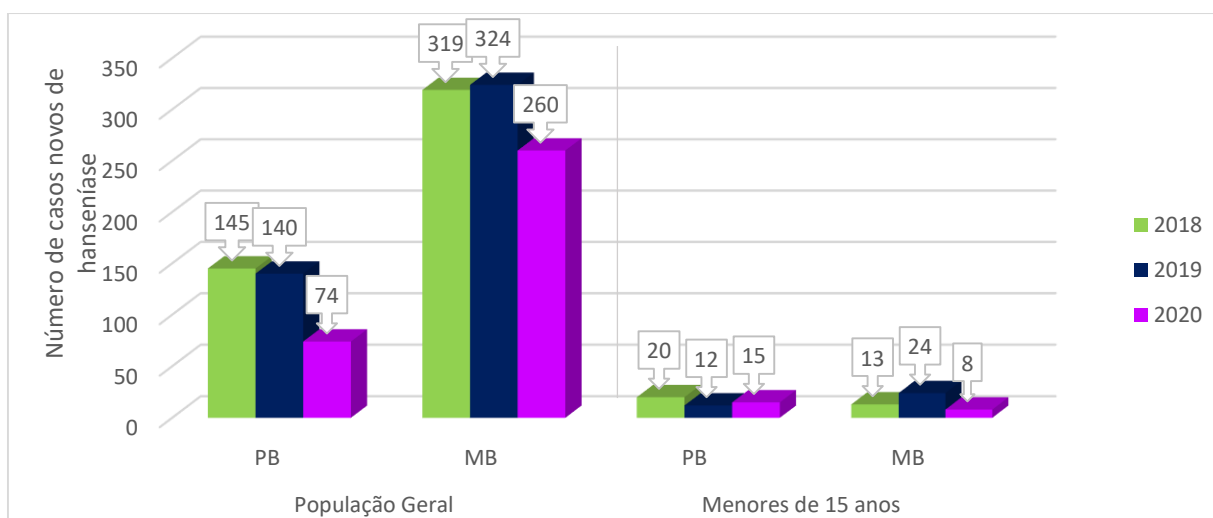
**Figura 1.22. Número total de casos novos de hanseníase por 100.000 habitantes, reportados em Recife entre 2017 a 2020 (Dados compilados do Boletim Epidemiológico 2018; 2019; 2020).**

No Recife, em 2018, foram detectados na população geral 573 casos de hanseníase: 464 casos novos, 32 recidivas e 77 por outros modos de entrada. A ocorrência da hanseníase em crianças e adolescentes tem relação com doença recente e focos de transmissão ativos, em 2018, foram diagnosticados 37 casos, destes 33 foram casos novos, um caso de recidiva e 3 outros modos de entrada. No ano de 2019, foram detectados na população geral 464 casos novos de hanseníase e foram diagnosticados um total de 36 casos novos em menores de 15 anos. Em relação ao ano 2020 registraram-se 334 casos novos, 28 recidivas e 68 outros modos de entrada. E do grupo de menores de 15 anos reportaram-se 23 casos novos, um paciente de recidiva e 5 de outras formas de entrada (Figura 1.23) (Boletim Epidemiológico 2018; 2019; 2020).



**Figura 1.23. Número de casos de hanseníase segundo modo de entrada e faixa etária. Recife entre 2018 a 2020 (Dados compilados do Boletim Epidemiológico 2018; 2019; 2020).**

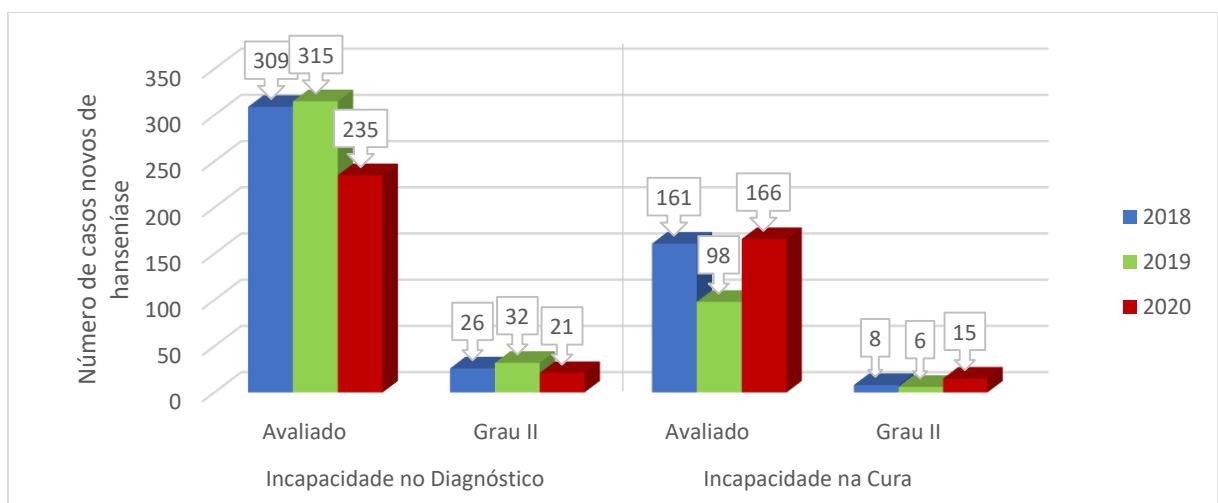
Segundo a classificação operacional, na população geral, para 2018 a maioria dos casos foram MB (n=319) e na população de menores de 15 anos, a maioria dos casos foram PB (n=20), enquanto os casos MB corresponderam a 13 casos. Para 2019, na população geral, em Recife, a maioria dos casos foram MB (n=324) maior ao registrado no ano anterior, na população de menores de 15 anos, a maioria dos casos também foi MB (n=24). E para 2020, na população geral, a maioria dos casos foram MB com um total de 260 casos, em menores de 15 anos, de um total de 23 casos novos a maioria foram PB (n=15) (Figura 1.24.) (Boletim Epidemiológico 2018; 2019; 2020).



**Figura 1.24. Número de casos novos de hanseníase segundo classificação operacional e faixa etária em Recife, entre 2018 a 2020 (Dados compilados do Boletim Epidemiológico 2018; 2019; 2020).**

Em relação à proporção de casos novos de hanseníase avaliados quanto ao grau de incapacidade no momento do diagnóstico, no ano de 2018, Recife apresentou 309 casos avaliados, a proporção de casos de hanseníase com grau II de incapacidade física no momento do diagnóstico entre os casos novos detectados e avaliados no ano, reflete a efetividade das atividades da detecção oportuna ou precoce de casos representado, registrando apenas 26 casos. No ano de 2019, apresentaram-se 315 casos no momento de avaliação, e a proporção de casos de hanseníase com grau II de incapacidade física no momento do diagnóstico entre os casos novos foi de 32 pacientes da mesma forma corrobora à efetividade das atividades da detecção oportuna ou precoce de casos. Para 2020, o Recife apresentou 235 casos no momento da avaliação, e a proporção de casos de hanseníase com grau II de incapacidade física no momento do diagnóstico foi de 21 casos novos detectados (Figura 1.25) (Boletim Epidemiológico 2018; 2019; 2020).

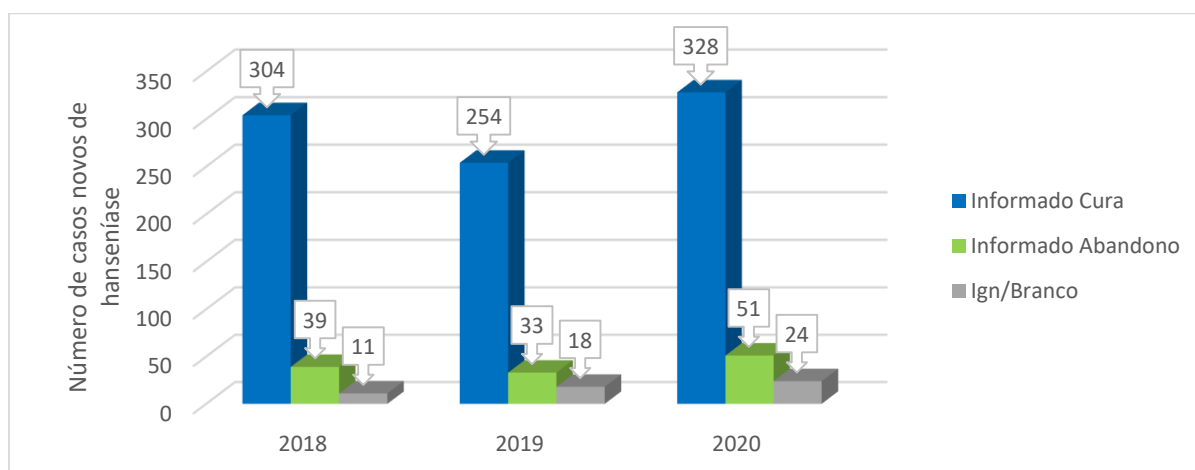
Para 2018, foram avaliados o grau de incapacidade física em 161 casos de hanseníase no momento da alta por tratamento, apenas 8 apresentaram grau 2 de incapacidade física no momento da alta. Em 2019, 98 casos de hanseníase foram avaliados o grau de incapacidade física no momento da alta, e 6 casos apresentaram grau 2 de incapacidade. Já em 2020, 166 casos foram avaliados, e 15 casos apresentaram com grau de incapacidade física II no momento da alta. (Figura 1.25) (Boletim Epidemiológico 2018; 2019; 2020).



**Figura 1.25. Casos novos de hanseníase avaliados quanto à incapacidade física no diagnóstico, na cura e com grau 2, em Recife, entre 2018 a 2020 (Dados compilados do Boletim Epidemiológico 2018; 2019; 2020).**

Na Figura 1.26 observa-se que Recife alcançou uma grande quantidade de cura de casos novos de hanseníase com 304 para o ano de 2018, e em relação ao abandono, Recife apresentou

39 casos, com 11 casos sem informação ou com dados em branco. Em 2019, apresentaram-se 254 casos de cura informados, e 33 casos de abandono. E para 2020 dentre os casos novos informados como cura foram 328. Com relação ao abandono para este último ano, Recife apresentou 51 casos e 24 dos que se ignora o diagnóstico o foram apresentados em branco (Figura 1.26) (Boletim Epidemiológico 2018; 2019; 2020).



**Figura 1.26. Número de casos novos de hanseníase segundo encerramento em Recife, entre 2018 a 2020 (Dados compilados do Boletim Epidemiológico 2018; 2019; 2020).**

### 3. Agentes etiológicos da hanseníase

*M. leprae*, que pertence à ordem *Actinomycetales* e família *Mycobacteriaceae*, de característica tintorial álcool-ácido-resistente e Gram-positiva, apresenta morfologia de bastonete, parasitismo intracelular obrigatório. Ainda não se dispõe de meios de cultura artificiais para esta bactéria, o que tem impossibilitado sua reprodução *in vitro* (Scollard e col., 2006). Este bacilo foi o primeiro patógeno humano reconhecido ao microscópio ótico e descoberto pelo médico norueguês Gerhard Henrick Armauer Hansen (1841-1912), em 1873 (Rees, 1985), adquirindo o reconhecimento como “Bacilo de Hansen”. Esta micobactéria possui alta infecciosidade e baixa patogenicidade, capaz de produzir alta proporção de infectados e portadores sem manifestações clínicas (Lombardi e Ferreira, 1990), foi considerado o único agente causador da hanseníase até 2008, quando uma nova espécie, *Mycobacterium lepromatosis*, foi identificada pelo Han e cols em pacientes com hanseníase virchowiana difusa (DLL). Também foi associada a hanseníase lepromatosa difusa (HLD), uma forma grave de LL. Entretanto, trabalhos mais recentes demonstraram que pacientes infectados com esta espécie



podem desenvolver, tanto TT quanto LL (Han e col., 2014, Singh e col., 2015). Assim, *M. lepromatosis* e *M. leprae* podem produzir todas as formas de hanseníase, mas a frequência de ambos parece ser distinta em diferentes populações (Mark, 2017). Infecção por *M. lepromatosis* foi relatado no Canadá, Singapura, Brasil, Iran, Malásia, Miramar e nos Estados unidos (Han e col., 2014; Singh e col., 2015 e Virk e col., 2017).

O *M. leprae* e o *M. lepromatosis* não crescem *in vitro*, e em modelos animais o *M. leprae* apresenta um tempo de duplicação de 14 dias (Shepard 2010a e 2010b). Por estes motivos as pesquisas microbiológicas e estudos de epidemiologia molecular, bem como de detecção de resistência são desafiadoras.

### **3.1. Epidemiologia molecular, filogenia e genotipagem**

Assim como *M. tuberculosis*, *M. leprae* é um organismo clonal que foi considerado ter uma diversidade genética "desprezível" entre as cepas, com relevância fenotípica (Gagneux, 2017; Monot e col., 2005). No campo da TB, essa percepção mudou com o surgimento da genômica, mostrando que a variação genética (da cepa) modula a virulência, o fenótipo imunológico e desempenha um papel fundamental na suscetibilidade aos antibióticos, com taxa diferencial de emergência de resistência e adaptação aos medicamentos (Gagneux, 2017). A contribuição da diversidade genética bacteriana é agora totalmente considerada no estudo da biologia e epidemiologia (Gagneux, 2017) e nas estratégias de intervenção (Drobniewski e col., 2005) da tuberculose. Avanços recentes na análise molecular do *M. leprae* confirmaram a existência de um padrão semelhante para a hanseníase.

O *M. leprae* está intimamente relacionado ao *M. tuberculosis*; no entanto, seu genoma sofreu uma evolução redutiva resultando em um genoma de apenas 3,27 Mb em comparação com os 4,41 Mb de *M. tuberculosis* (Cole e col., 2001). Parte dos genes perdidos no *M. leprae* incluía atividade metabólica indispensável, tornando-o um patógeno intracelular obrigatório, que não pode ser cultivado em meios axênicos requerendo o suporte de um hospedeiro para sobreviver. Isso apresenta grandes limitações para obter DNA bacteriano suficiente para fins de pesquisa, incluindo sequenciamento do genoma completo (SGC) (referência).

Em 2001, foi divulgado o genoma de *M. leprae* (Cole e col., 2001) o que permitiu o desenvolvimento de técnicas para detecção e diferenciação. Os marcadores para tipagem molecular de *M. leprae* são baseados até o momento em três grupos de marcadores genéticos: (i) sequências repetitivas curtas que variam em número de cópias entre diferentes cepas

bacterianas, conhecidas como número variável de repetições em tandem (VNTR; *Variable number of tandem repeats*), (ii) polimorfismos de nucleotídeo/base única (SNP; *Single nucleotide polymorphisms- typing*) e (iii) inserções e deleções (InDels).

Na era pré-genômica, foram descritos dois *loci* VNTR que mostraram variabilidade entre cepas de diferentes países: (i) o *rpoT* hexâmero, apresentando dois alelos diferentes associados com a região geográfica do paciente e (ii) o (GAA)<sub>21</sub>, apresentando número alto de alelos (Matsuoka e col., 2000; Shin e col., 2000). Posteriormente, a disponibilidade do genoma completo do *M. leprae* (Cole e col., 2001) permitiu a identificação de 33 microssatélites adicionais (unidades de repetição de menos de 6 bp) e 11 minissatélites (unidades de repetição de 6 a 100 bp) (Groathouse e col., 2004). A partir disto, um painel de 16 *loci* foi caracterizado e validado para discriminar isolados clínicos de pacientes com hanseníase (Cardona-Castro e col., 2009; Fontes e col., 2009; Gillis e col., 2009; Kimura e col., 2009; Matsuoka e col., 2009; Sakamuri e col., 2009a, 2009b; Shinde e col., 2009; Srisungham e col., 2009; Xing e col., 2009). As combinações destes VNTRs são utilizadas para verificar transmissão local (Rosa e col., 2019 e 2020).

Em 2005, a comparação de genomas de quatro isolados de *M. leprae* provenientes da Índia, Brasil, Tailândia e Estados Unidos revelou a existência de 84 marcadores informativos (Monot e col., 2005). A partir destes foi possível discriminar *M. leprae* em quatro genótipos principais (1-4) e em 16 subtipos (SNP-subtipos 1A-D, 2E-H, 3I-M e 4N-P), através da combinação de SNPs e InDels (Monot e col., 2009). Em 2009, apenas quatro sequências do genoma completo de *M. leprae* estavam disponíveis, mas mesmo com essa quantidade limitada de dados foi possível o desenvolvimento de um sistema de tipagem robusto e rendeu informações sem precedentes sobre a diversidade e evolução de cepas. Essa observação foi o primeiro indício de que uma abordagem do genoma completo poderia auxiliar no desafio dos sistemas de tipagem padrão para *M. leprae* (Avanzi e col., 2020).

Analisando espécimes clínicos provenientes de pacientes de diferentes países, foi possível verificar que a distribuição dos tipos e subtipos estavam relacionados com a origem geográfica dos pacientes (Monot e col., 2009; Truman e col., 2011). Desde então estes marcadores são utilizados em estudos filogeográficos e de caráter evolutivo como o de Watson e Lockwood, no que apresentam a tipificação mediante polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) de DNA do *M. leprae* proveniente de ossos medievais; os resultados destes trabalhos forneceram uma visão sobre o padrão de transmissão da hanseníase na Europa e auxiliaram no entendimento da evolução do *M. leprae* nessa região (Watson e Lockwood, 2009). O

mapeamento desses polimorfismos em mais de 400 cepas provenientes de 28 países diferentes mostrou que a distribuição dos subtipos SNP estava correlacionada com a origem geográfica dos pacientes e sugeriu que a tipagem SNP poderia ser uma ferramenta robusta para futuros estudos filogeográficos e evolutivos (Monot e col., 2009).

A evidência molecular para a possibilidade de reinfecção foi mostrada pela primeira vez em um paciente da Índia (Lavania e col., 2011). Usando uma combinação de 11 *loci* VNTR. Lavania e cols investigaram a recorrência da doença em dois pacientes que tiveram alta por poliquimioterapia, mas após três anos apresentaram novamente a doença. Um deles mostrou poucas diferenças em seus alelos VNTR, sugerindo recidiva (presença da cepa original), enquanto o outro paciente, mostrou uma grande diferença nos alelos VNTR, sugerindo a presença de uma nova cepa, indicando reinfecção. Em 2011, da Silva Rocha e cols relataram evidências moleculares sugestivas de reinfecção usando uma combinação de VNTRs e SNPs, cinco dos sete casos considerados recidivos no Brasil, com intervalos de 9 e 13 anos após primeiro tratamento. Num estudo recente com pacientes na Vila do Prata (Pará), uma ex-colônia de hanseníase que é uma região isolada e hiperendêmica, localizada na Amazônia brasileira, quatro pacientes apresentaram recidivas após um intervalo de quatro anos, sendo comprovado através da combinação dos VNTRs e SNPs (Rosa e col., 2019).

Em 2016, um estudo na Guiné Conakry mostrou que cepas de *M. leprae* de diferentes pacientes originários da mesma aldeia ou família apresentaram apenas um SNP não informativo no nível do genoma (Avanzi e col., 2016a). A partir de um nível tão baixo de diversidade de sequências os pesquisadores concluíram que os pacientes provavelmente foram infectados com a mesma cepa. Portanto, métodos de alta resolução provavelmente são necessários para confirmar uma recidiva ou reinfecção com uma cepa semelhante.

O sequenciamento completo do genoma (WGS; do inglês *whole genome sequencing*) também foi reconhecido como uma ferramenta poderosa para genotipagem, pois permite uma resolução mais profunda da variabilidade genética geral de cada isolado e fornece dados robustos para análises baseadas na população (Salipante e Hall, 2011; Singh e Cole, 2011). No entanto, enormes desafios técnicos, custos, intensidade de trabalho e análises demoradas limitam sua aplicação (Salipante e Hall, 2011; Singh e Cole, 2011). A investigação de três casos recorrentes no Brasil usando WGS mostrou que um paciente apresentou isolados de *M. leprae* com genótipos diferentes nos diferentes episódios e identificando assim a reinfecção por outra cepa, quatro anos após o sucesso do tratamento, assim adicionando uma maior complexidade. A possibilidade de infecção policlonal ou mista com diferentes linhagens em

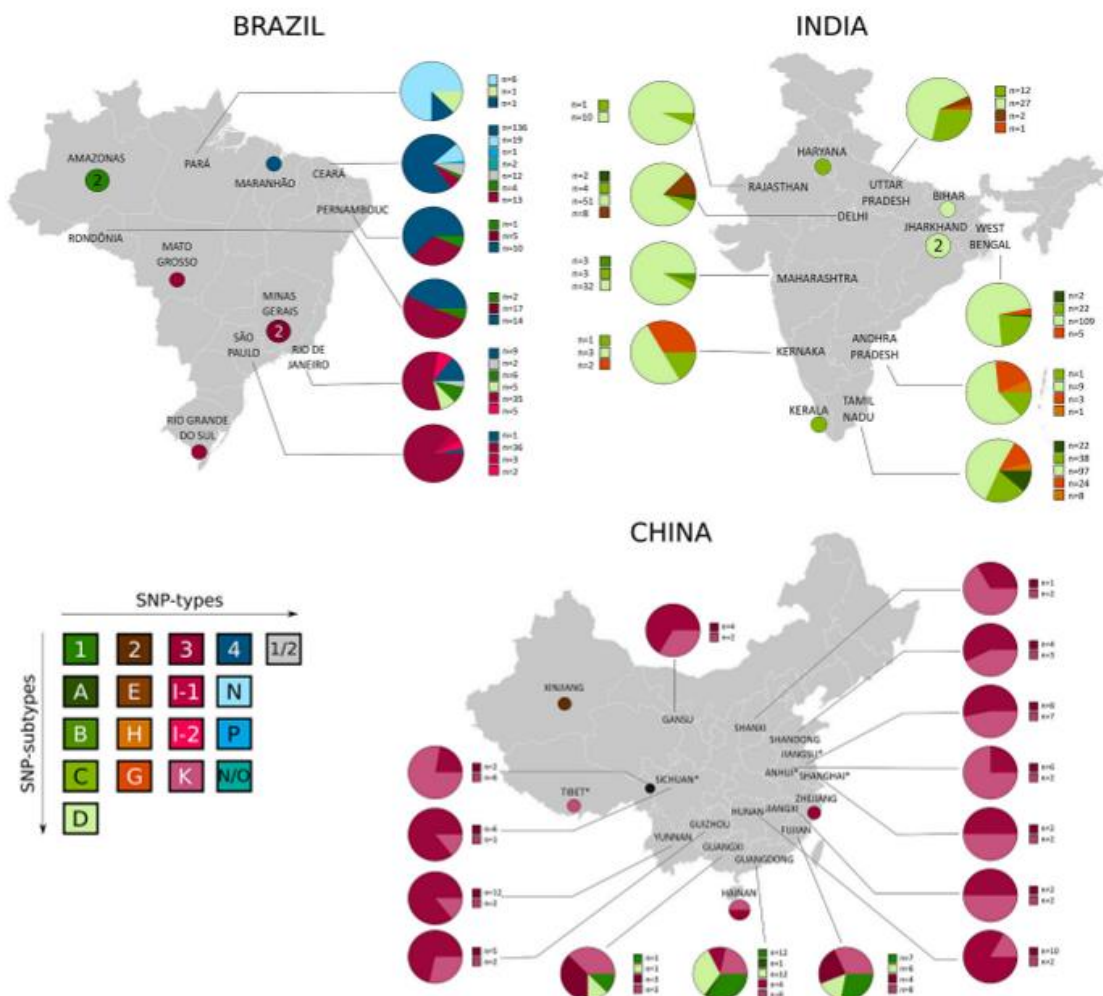
um único episódio foi demonstrada na infecção por *M. tuberculosis* e de outros patógenos, mas até agora não foi observada ou cuidadosamente investigada para *M. leprae* (Cohen e col., 2012).

A variação limitada observada no genoma do *M. leprae* permite a reconstrução de padrões históricos de migração humana e a origem do *M. leprae* (Donoghue, 2019). Ao longo dos anos, vários estudos contribuíram para a detecção e caracterização de genomas de *M. leprae* originários de pacientes em todo o mundo (Monot e col., 2005, 2009; Benjak e col., 2018), bem como de esqueletos antigos (Suzuki e col., 2010; Schuenemann e col., 2013, 2018; Mendum e col., 2014; Krause-Kyora e col., 2018), esquilos vermelhos (Avanzi e col., 2016; Schilling e col., 2019; Tió -Coma e col., 2019), tatus (Truman e col., 2011; Sharma e col., 2015), primatas não humanos (Honap e col., 2018) e solo (Lavania e col., 2006, 2008; Turankar e col., 2012, 2014, 2016, 2019; Tió-Coma e col., 2019). Nos últimos anos, novas ferramentas foram desenvolvidas permitindo o sequenciamento direto de *M. leprae* de diferentes espécimes clínicos (Avanzi e col., 2016; Benjak e col., 2018; Schuenemann e col., 2018).

No trabalho de Tió-Coma e cols (2020), foi analisada a transmissão de *M. leprae*, bem como a infecção em pacientes com hanseníase (n= 60) e contatos domiciliares saudáveis (*healthy household contacts*: HHC; n= 250) de Bangladesh usando a detecção de *Rlep* em esfregaços nasais (EN) e esfregaços de pele em incisão (EPI). Em paralelo, exploraram a diversidade de cepas bacterianas por WGS e sequenciamento Sanger, detectando na coorte estudada em Bangladesh, o DNA do *M. leprae* em 33,3% do EN e 22,2% do EPI dos pacientes com índice bacilar 0, enquanto no HHC 18,0% do SN e 12,3% do SSS foram positivos. A maioria das cepas de *M. leprae* detectadas nesse estudo pertencia ao genótipo 1D (55%), seguido por 1A (31%), ressaltando o WGS como uma excelente ferramenta na identificação de novos genótipos de *M. leprae*, neste caso denominado 1B-Bangladesh (14%), que se agrupou separadamente entre as cepas 1A e 1B. Além disso, os pesquisadores estabeleceram que o genótipo anteriormente designado 1C não é um subtipo independente, mas sim um *clusters* dentro do genótipo 1D (Tió-Coma e col., 2020).

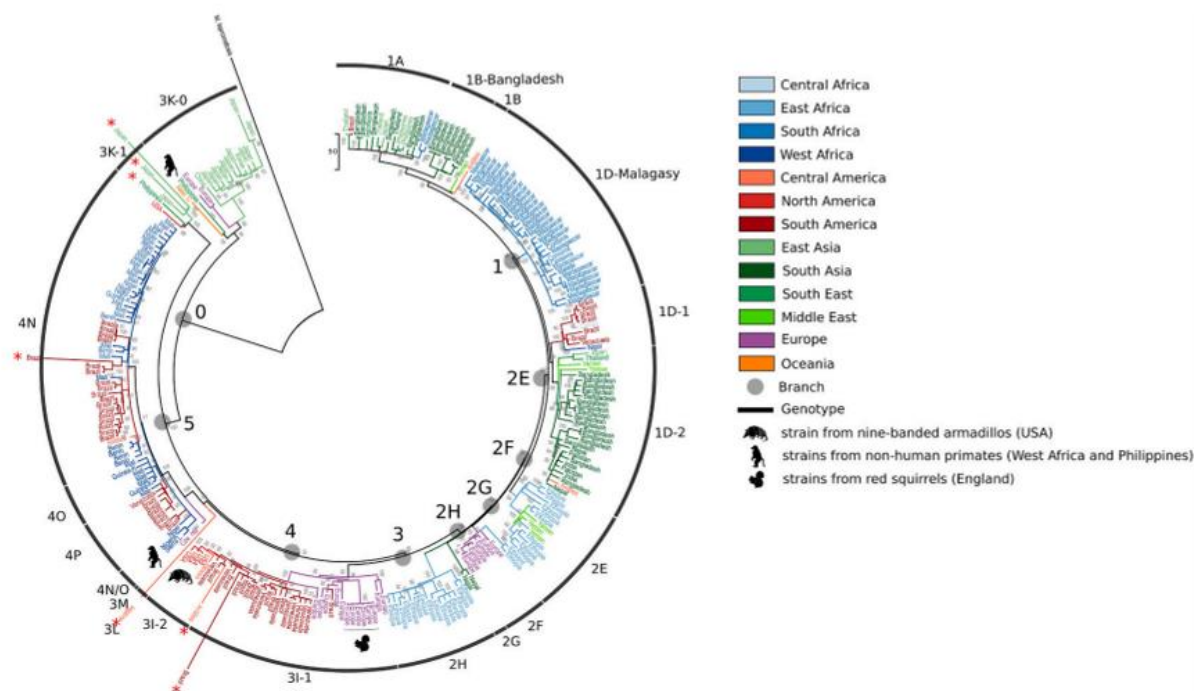
Em recente revisão de Avanzi e col. (2021), os autores mencionam que os estudos de genotipagem do *M. leprae* se expandiram rapidamente desde 2011 e a maioria destas investigações tiveram origem na Índia, seguido de Brasil, China e Colômbia. Este trabalho foi baseado na análise de 53 artigos de pesquisa, envolvendo uma variedade de métodos de genotipagem incluindo sequenciamento de última geração, PCR para análises de mutações e abordagens combinados de tipagem VNTR e SNP, sendo estas últimas técnicas as mais utilizadas de forma combinada nos estudos epidemiológicos moleculares. Por falta de

compreensão dos genótipos circulantes para cada tipo de população humana, as análises combinadas VNTR e SNP, podem apresentar falhas por não selecionarem os VNTR e SNP correspondentes as linhagens circulantes no país de estudo. Na Figura 1.27, apresentada pelos autores, podemos verificar, a distribuição dos subtipos SNP do *M. leprae* na Índia (tipo 1 e 2), no Brasil (1, 3 e 4) e na China (1 e 3). Na Figura 1.28, apresenta-se uma árvore filogenética baseada em genomas de 263 isolados de *M. leprae* e de *M. lepromatosis* (grupo externo); mostrando a diversidade de características genômicas que podem fazer com que os estudos epidemiológicos para hanseníase apresentem falhas no momento da seleção adequada de uma metodologia para as análises da população de trabalho, mostrando a necessidade de diretrizes ou técnicas de consenso para combinar dados de VNTR e SNP (Avanzi e col., 2020).



**Figura 1.27. Distribuição dos subtipos SNP do *M. leprae* no Brasil, Índia e China (Avanzi e col., 2020).** Os mapas foram desenhados usando as informações do genótipo de 1059 cepas de *M. leprae* publicadas na última década na Índia (n = 538) (Das e col., 2016; Kuruwa e col., 2012; Lavania e col., 2013, 2015; Mohanty e col., 2019; Turankar e col., 2014), Brasil (n = 348) (Avanzi e col., 2020a; Benjak e col., 2018 ; Fontes e col., 2009, 2012, 2017; Holanda e col., 2017; Lima e col., 2016; Stefani e col., 2017) e China (n = 173) (Weng e col., 2013; Yuan

e col., 2015) - O asterisco (\*) representa as províncias da China onde foram encontradas quatro cópias da repetição do hexâmero no *rpoT* e é destacado em vermelho quando todas as cepas 3K das províncias têm as 4 cópias (Avanzi e col., 2020).



**Figura 1.28. Árvore filogenética baseada em genomas de 263 isolados de *M. leprae* (Avanzi e col., 2020).** A árvore foi construída usando a extensão máxima de 263 isolados derivados de 34 países tendo como grupo externo o *M. lepromatosis*. Os isolados de animais (não humanos) são mostrados com a imagem preta correspondente: tatu de nove bandas, primatas não humanos e esquilos vermelhos. O círculo externo representa os diferentes genótipos baseados em SNP, enquanto o círculo interno representa os cinco ramos principais. As cores representam os diferentes continentes e subcontinentes, sendo estes indicados no final de cada linha. O \* são as cepas com o genótipo hipermutado (Avanzi e col., 2020).

### 3.2. Variabilidade genética de *M. leprae* no Brasil

Em 2009, foi realizado o primeiro estudo da variabilidade genética de *M. leprae* no Brasil, baseado na tipagem de VNTR e SNP de isolados de pacientes do Rio de Janeiro e São Paulo. Os genótipos baseados em VNTR mostraram-se altamente variáveis entre cepas não relacionadas e uma predominância de SNP tipo 3 em ambos os estados (Fontes e col., 2009). Foi observada uma relação entre os números de repetições nos VNTR 27-5 e 12-5 e linhagens definidas por SNP. Isolados classificados como tipo 4 apresentam respectivamente 4 e 5 cópias, já isolados classificados como tipo 3 apresentam 5 e 4 repetições (Fontes e col., 2009). Posteriormente, a alta prevalência de SNP tipo 3 no Rio de Janeiro e a predominância de SNP tipo 4 nos estados do Nordeste do país também foi confirmada, sugerindo uma introdução

diferencial de cepas do tipo 4 no Nordeste do Brasil, provavelmente por meio do tráfico de escravos de diferentes regiões do continente Africano ou por trabalhadores estrangeiros. O estudo também mostrou que genótipos baseados em VNTR do *M. leprae* apresentam relações geograficamente, mas sem dados de suporte para a transmissão real entre pacientes (Fontes e col., 2012).

Posteriormente, foi realizada investigação molecular na cidade de Fortaleza, no estado do Ceará, região endêmica para hanseníase com um número considerável de municípios altamente endêmicos (Fontes e col. 2017). A tipagem VNTR foi realizada em 16% dos pacientes diagnosticados durante o período do estudo, sendo (um pouco) baixo para um projeto planejado prospectivamente, mas relativamente alto, considerando que os pacientes PB não foram incluídos. Trata-se de um dos poucos estudos de epidemiologia molecular sobre hanseníase realizados no país. O nível de agrupamento ou cálculo do HGDI (*Hunter–Gaston discriminatory index*) (significando, neste caso, cepas com genótipos idênticos definidos por alelos que apresentam um HGDI inferior a 80%) foi de 60%, sugerindo que a diversidade da cepa era baixa e/ou indicando um alto nível de transmissão recente (Rosa e col., 2020). Ao avaliar os dados clínicos e demográficos com pertencimento ou não a um *clusters*, transmissão recente foi associado com a notificação tardia da doença, com grau 2 de incapacidade e com pacientes residentes de certos bairros da cidade. De qualquer forma, a possibilidade de excluir VNTRs altamente discriminatórios para definição de *clusters* deve ser avaliada localmente (Rosa e col., 2020).

Estudos de tipagem SNP mais recentes e detalhados relataram uma tendência semelhante com o genótipo 4 prevalente no Nordeste, enquanto o genótipo 3 parece mais comum nos estados do sudeste do Brasil (Benjak e col., 2018). No Rio de Janeiro e em São Paulo, *M. leprae* abrigou principalmente o genótipo 3I-2 e apenas algumas cepas de São Paulo apresentaram o genótipo 3I-1, que é relativamente mais próximo das cepas europeias medievais. Nos estados do Norte e Nordeste, o genótipo 4N é relatado principalmente com algum genótipo 4P, enquanto o genótipo 1D é identificado esporadicamente nesses estados. (Benjak e col., 2018). Por fim, um novo genótipo, denominado 4N/O, foi identificado em um caso de recidiva no estado do Ceará (Stefani e col., 2017) e, até o momento, esse genótipo foi observado em apenas um paciente da Nigéria e em primatas não humanos da África Ocidental (Benjak e col., 2018; Honap e col., 2018).

O trabalho de Lima e cols (2018) analisou a diversidade genética por VNTR de isolados de *M. leprae* de fossas nasais e relacionou com os dados epidemiológicos e clínicos, de

indivíduos residentes em Fortaleza, Brasil. Quatro *clusters* de *M. leprae* com genótipos idênticos foram encontrados, que podem representar os genótipos mais frequentemente nos circulantes no Ceará.

#### **4. Geoprocessamento e análise espacial**

As análises espaciais com dados epidemiológicos fazem parte de uma longa tradição de análises geográficas, datando do século XVIII, quando os mapas das taxas de doenças em diferentes países começaram a emergir para caracterizar a disseminação e as possíveis causas dos surtos das doenças infecciosas como a febre amarela e a cólera. Durante as últimas décadas, as análises espaciais têm se firmado cada vez mais como importante ferramenta epidemiológica. Estas compreendem a análise de dados georreferenciados, tais como ambientais, comportamentais, socioeconômicos, genéticos e infecciosos (Elliott e Wartenberg, 2004). O mapeamento geográfico das doenças permite uma visualização rápida de informação geográfica complexa e é capaz de identificar modelos sutis que são esquecidos nas apresentações de gráficos e análises estatísticas. Através de vigilância, ele pode identificar conglomerados da doença e, assim, expor os resultados do estudo de pontos específicos em contexto apropriado (Marshall, 1991).

Em síntese, além de analisar taxas de morbidade e mortalidade, demonstra visualmente a variabilidade geográfica da população em estudo (Marshall, 1991). Assim, a análise espacial tem como objetivo, por meio de técnicas apropriadas, determinar a existência de padrões espaciais nos valores observados, no que diz respeito à distribuição de eventos cuja localização está associada a determinadas áreas (Marshall, 1991), permite descrever a distribuição das variáveis de estudo e identificar observações atípicas em relação ao tipo de distribuição e sua vizinhança (Carvalho e Souza-Santos, 2005). Isso ocorre com muita frequência quando lidamos com fenômenos agregados por municípios, bairros ou setores censitários, como população, mortalidade e renda. Os métodos de análise espacial, ao ressaltar áreas aparentemente de alto risco, de aglomerados espaciais ou espaço temporais, aplicam-se ao planejamento e avaliação de serviços de saúde, auxiliam na criação de políticas públicas e, conseqüentemente, na melhor alocação de recursos (Bailey, 2001; Elliott e Wartenberg, 2004, OPAS, 1996).

Na hanseníase, a análise da distribuição espacial permite identificar áreas com maior risco de adoecimento e pode auxiliar no planejamento, implementação, monitoramento e avaliação de ações voltadas para o seu controle (Opromolla e col., 2005, Imbiriba e col., 2009). Pode ajudar na identificação de áreas endêmicas, no delineamento da distribuição espacial da



doença, indicando áreas com necessidade de alocação de recursos extras, ou seja, ela fornece uma análise gráfica dos indicadores epidemiológicos (Mencaroni Pinto Neto e Villa, 2004).

A descentralização e a ampliação da assistência médica para toda a rede de saúde no Brasil indicam uma maior exigência do conhecimento da distribuição espacial da doença, e outros fatores, para compreender possíveis variações na ocorrência da hanseníase em diferentes regiões associadas ao aumento das taxas de urbanização que apontam à necessidade de se prever a incidência da doença com base na área geográfica ou nas características da população (Cury e col., 2012). As Gerências Regionais de Saúde (GERES), distribuídas pelas unidades administrativas da Secretaria Estadual de Saúde, são responsáveis por uma parte das cidades, atuando de forma mais localizada na atenção básica, na reestruturação da rede hospitalar, nas ações municipais, no combate à mortalidade infantil e às diversas endemias. Estes modelos de gestão da saúde permitem que as particularidades de cada região recebam atenção na hora de decidir ações e campanhas.

Em Pernambuco, para apoiar todos os 184 municípios que o compõem, mais a ilha de Fernando de Noronha, foram criadas as 12 GERES, distribuídas como mostrado no Quadro 1.5, e serão utilizadas no estudo de localização espacial de este estudo (BRASIL- Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco, 2016).

**Quadro 1.5. Distribuição de municípios que compõem cada uma das gerências regionais de saúde (BRASIL- Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco, 2016).**

Municípios Gerência Regional de Saúde Pernambuco (GERES)											
I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Abreu e Lima	Bom Jardim	Água Preta	Agrestina	Águas Belas	Arcoverde	Belém do São Francisco	Afrânio	Araripina	Afogados da Ingazeira	Betânia	Goiana
Araçoiaba	Buenos Aires	Amaraji	Alagoinha	Angelim	Buíque	Cedro	Cabrobó	Bodocó	Brejinho	Calumbi	Aliança
Cabo de Santo Agostinho	Carpina	Barreiros	Altinho	Bom Conselho	Custódia	Mirandiba	Dormentes	Exu	Carnaíba	Carnaubeira da Penha	Camutanga
Camaragibe	Casinhas	Belém de Maria	Barra de Guabiraba	Brejão	Ibimirim	Salgueiro	Lagoa Grande	Granito	Iguaraci	Flores	Condado
Chã Grande	Cumaru	Catende	Belo Jardim	Caetés	Inajá	Serrita	Orocó	Ipubi	Ingazeira	Floresta	Ferreiros
Chã de Alegria	Feira Nova	Cortês	Bezerros	Caçadinhos	Jatobá	Terra Nova	Petrolina	Moreilândia	Itapetim	Itacuruba	Itambé
Glória de Goitá	João Alfredo	Escada	Bonito	Canhotinho	Manarí	Verdejante	Santa Maria da Boa Vista	Ouricuri	Quixaba	Santa Cruz da Baixa Verde	Itaquitinga
Fernando de Noronha	Lagoa de Itaenga	Gameleira	Brejo da Madre de Deus	Capoeiras	Pedra	-	-	Parnamirim	Santa Terezinha	São José do Belmonte	Macaparana
Igarassu	Lagoa do Carro	Jaqueira	Cachoeirinha	Correntes	Petrolândia	-	-	Santa Cruz	São José do Egito	Serra Talhada	São Vicente Ferrer
Ipojuca	Limoeiro	Joaquim Nabuco	Camocim de São Felix	Garanhus	Sertânia	-	-	Santa Filomena	Solidão	Triunfo	Timbaúba
Itamaracá	Machados	Lagoa dos Gatos	Caruaru	Iati	Tacaratu	-	-	Trindade	Tabira	-	-
Itapissuma	Nazaré da Mata	Maraial	Cupira	Itaíba	Tupanatinga	-	-	-	Tuparetama	-	-
Jaboatão dos Guararapes	Orobó	Palmares	Frei Miguelinho	Jucati	Venturosa	-	-	-	-	-	-
Moreno	Passira	Primavera	Gravatá	Jupi	-	-	-	-	-	-	-
Olinda	Paudalho	Quipapá	Ibirajuba	Lagoa do Ouro	-	-	-	-	-	-	-
Paulista	Salgadinho	Ribeirão	Jataúba	Lajedo	-	-	-	-	-	-	-
Pombos	Surubim	Rio Formoso	Jurema	Palmerina	-	-	-	-	-	-	-
Recife	Tracunhaém	São Benedito do Sul	Panelas	Paranatama	-	-	-	-	-	-	-
São Lourenço da Mata	Vertente do Lério	São José da Coroa Grande	Pesqueira	Saloá	-	-	-	-	-	-	-
Vitória de Santo Antão	Vicência	Sirinhaém	Poção	São João	-	-	-	-	-	-	-
-	-	Tamandaré	Riacho das Almas	Terezinha	-	-	-	-	-	-	-
-	-	Xexéu	Sairé	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	Sanharó	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	Santa Cruz do Capibaribe	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	Santa Maria do Cambucá	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	São Bento do Uma	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	São Caetano	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	São Joaquim do Monte	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	Tacaibó	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	Taquaritinga do Norte	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	Toritama	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	Vertentes	-	-	-	-	-	-	-	-

Nos últimos anos, tem havido um aumento no número de estudos que investiguem questões de saúde utilizando sistemas de informação geográfica (SIG) e análise espacial, reavivando a importância do papel do meio sociocultural na determinação das doenças e a importância de uma análise crítica do acesso aos recursos (Cury e col., 2012). O Brasil está em segundo lugar, após a Índia, e apresentou entre os anos de 2014 e 2018 uma taxa de incidência média de 13,6 casos novos/100.000 habitantes. A distribuição heterogênea da doença em território nacional, especialmente observada nas Regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste (Ministério da Saúde, Brasil, 2020), requer a utilização de técnicas de análise espacial e espaço-temporal que, por meio do geoprocessamento de dados georreferenciados, possibilitam identificar áreas de acúmulo e justaposição de casos doentes (Ribeiro e col., 2014)

A estatística de varredura espaço-temporal corresponde à interação do espaço com o tempo. Essa técnica visa a detecção do provável *aglomerado ou cluster* durante todo o período estudado, também conhecida como estatística “Scan” (do inglês *statistic Space-Temporal*) (Kulldorff e Nagarwalla, 1995), e foi explorada mais recentemente em território brasileiro no contexto da análise espacial da hanseníase, utilizando-se os municípios das 27 Unidades Federativas como unidades ecológicas de análise entre os anos 2001 e 2015 (Rodrigues e col., 2020). Detectaram-se 26 *clusters*, cuja taxa de detecção foi de 59,19 por 100.000 habitantes, com maior proporção na Amazônia Legal (descrita estar constituída por duas partes: a Amazônia Ocidental, composta pelos Estados do Amazonas, Acre, Rondônia e Roraima, e a Amazônia Oriental, composta, por exclusão, pelos Estados do Pará, Maranhão, Amapá, Tocantins e Mato Grosso). Ressaltou-se a necessidade de intensificação de ações de controle e vigilância da doença nessas localidades (Rodrigues e col., 2020).

É válido mencionar que, além de garantir a análise espacial, a estatística de varredura incorpora ainda o fator temporal, destacando a identificação de aglomerados de eventos, simultaneamente no espaço e no tempo (Coulston e Ritters, 2003), e traz notoriedade aos territórios atingidos e às populações em risco eminente de adoecimento em determinado período (Rodrigues e col., 2020).

Em Pernambuco, a distribuição da hanseníase ocorre em áreas com condições sanitárias precárias e fácil propagação do agravo, além de ser um estado brasileiro empobrecido que apresenta doença hiperendêmica (Khanna e col., 2021).

## *CAPÍTULO II – JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS*

### **2.1. Justificativa do trabalho**

A doença infecto-contagiosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae*, a hanseníase, foi detectada no Brasil em 2019, para 27.863 novos casos (WHO, 2020). A região Nordeste apresentou uma taxa de 25,0 a 30,0 por 100.000 habitantes entre os anos 2010 até 2019, posicionando-se como terceiro depois das regiões Norte e Centro-oeste, sendo o estado de Pernambuco o quarto com a maior taxa no país. Em Pernambuco, a doença assume proporções preocupantes. Em 2019, na cidade de Recife, foram notificados mais de 680 casos novos por 100.000 habitantes, dos quais 36 foram registrados em menores de 15 anos. Mas segundo os dados da Secretaria de Saúde do Recife, o número de pacientes portadores de hanseníase atendidos nas unidades de saúde do município é de aproximadamente 1000 por ano. Este dado revela que adultos que convivem com menores de idade estão transmitindo a doença, ou crianças estão transmitindo entre elas, uma vez que não são diagnosticados e, portanto, não tratados, mantendo desta forma a cadeia de contaminação da doença ativa.

Neste contexto, levando em consideração (i) a endemicidade da hanseníase no estado de Pernambuco, (ii) o elevado número de casos novos existentes no município de Recife, (iii) as disparidades geográficas do território, e a (iv) escassez de estudos que abordem análises, torna-se necessário a intensificação de estudos que possam contribuir para o conhecimento da dinâmica de transmissão da hanseníase nesta região, inclusive as espaço-temporais. Uma maior compreensão acerca da disseminação da hanseníase nesta população específica poderá subsidiar a reformulação das atuais políticas de controle da endemia ou estabelecer novos parâmetros tanto para a sua prevenção, quanto para o direcionamento de atenção para a vigilância da doença na região estudada.

## 2.2. Objetivo geral

Analisar o perfil genético de isolados de *M. leprae* oriundos de espécimes clínicos (esfregaços intradérmicos) proveniente de pacientes diagnosticados com hanseníase em Recife, para compreender a relação entre a composição genética do bacilo com fatores clínicos e epidemiológicos.

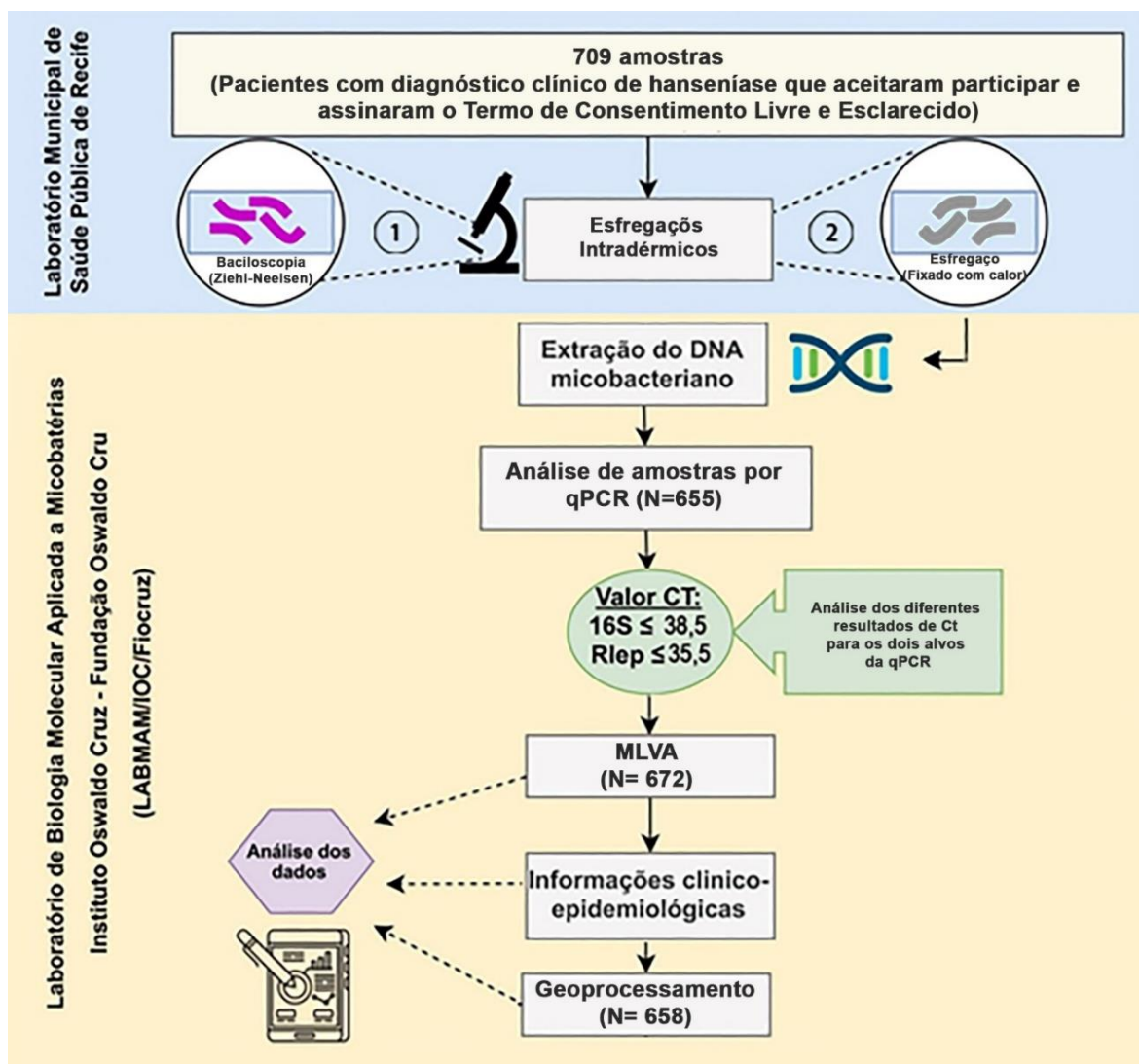
## 2.3. Objetivos específicos

- 1) Caracterizar a população de estudo quanto aos aspectos clínico-epidemiológicos;
- 2) Avaliar a aplicação de qPCR como ferramenta de triagem de amostras a serem submetidas a genotipagem;
- 3) Investigar a variabilidade genética e estrutura populacional bacteriana por meio da técnica de genotipagem MLVA (do inglês *Multiple-locus Variable Number Tandem Repeat Analysis*), considerando estringências de definição de *clusters* (agrupamentos) com 16/17 VNTRs e 13 VNTRs;
- 4) Verificar se há relação entre o genótipo do patógeno com características clínico-epidemiológicas dos pacientes analisados neste estudo;
- 5) Verificar se há características da população hanseniana associada a *cluster*
- 6) Analisar a distribuição espacial, por meio do geoprocessamento, dos pacientes hansenianos e dos genótipos de *M. leprae* mais frequentes para identificar áreas e fatores de risco associados à transmissão da hanseníase em Recife.

## *CAPÍTULO III – MATERIAIS E MÉTODOS*

### **3.1. Delineamento do estudo**

Este projeto foi desenvolvido em colaboração com (i) Laboratório de Imunogenética do Departamento de Imunologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Fiocruz/PE, (ii) Laboratório Municipal de Saúde Pública de Recife (LMSPR) e (iii) o Laboratório de Biologia Molecular Aplicado a Micobactérias (LABMAM- FIOCRUZ/RJ), de acordo com os procedimentos demonstrados na figura 3.1. O LMSPR está localizado na Região Metropolitana do Recife e é referência no atendimento de pacientes hansenianos no município do Recife e de outros municípios que compõem a GERES I (formado pelos municípios identificados no quadro 1.5) do estado de Pernambuco.



**Figura 3.1. Fluxograma de trabalho para as amostras avaliadas neste estudo.** A área em azul compreende a avaliação baciloscóptica, e a área em amarelo a análise de tipagem molecular e geoprocessamento.

### 3.2. Tipo de Estudo

Trata-se de um estudo transversal, retrospectivo e analítico de uma coorte de pacientes portadores de hanseníase atendidos no Laboratório Municipal de Saúde Pública do Recife, Pernambuco, no período de janeiro/2012 a janeiro/2017.

### 3.3. Considerações éticas

O projeto de pesquisa encontra-se de acordo com o Código de Ética que norteia pesquisa envolvendo seres humanos, sendo aprovado em março de 2012 pelo Comitê de

Ética e pesquisa do Instituto Aggeu Magalhães (CEP/CPqAM/FIOCRUZ); parecer N°: 7/2012, com o título "Estudo da variabilidade genética de isolados de *Mycobacterium leprae* e sua aplicação na epidemiologia molecular da hanseníase na cidade do Recife/Pernambuco" (Anexo 5).

### **3.4. Amostragem**

Foram utilizadas um total de 709 DNAs extraídos de esfregaços intradérmicos de pacientes com diagnóstico clínico de hanseníase, atendidos no LMSPR, entre de janeiro de 2012 a janeiro de 2017. No momento da coleta, foram coletados dois esfregaços de cada paciente confeccionadas por pessoal especializado pertencente à equipe do Laboratório Municipal de Saúde Pública para o diagnóstico da hanseníase. O primeiro esfregaço foi coletado para confirmação diagnóstica por baciloscopia e um segundo esfregaço (dos dois lóbulos das orelhas, dos dois cotovelos e da lesão, quando houvesse) foi coletado e fixado com calor para posterior extração de DNA para o estudo.

Todos os pacientes atendidos no LMSPR foram convidados a participar voluntariamente da pesquisa e esclarecidos quanto aos seus objetivos. Aqueles que aceitaram participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 7). No caso de menores de 18 anos, os pais ou responsáveis assinaram o TCLE (Anexo 8). Foi respeitado o direito à recusa em participar, e os sujeitos da pesquisa não foram remunerados. Após consentimento do paciente e do pais/responsável, foi aplicado um questionário específico para o projeto, composto por questões de identificação, condições clínicas, epidemiológicas e socioeconômicas (Anexo 6).

Os esfregaços intradérmicos dos indivíduos incorporados no estudo, com diagnóstico clínico de hanseníase, foram classificados como paucibacilares e multibacilares de acordo com IB, o qual é a média dos índices da escala logarítmica de cada esfregaço examinado, que pode variar de 0 a 6+. Trezentos e setenta e cinco pacientes foram classificados como PB ( $IB < 2$ ) e 327 como MB ( $IB \geq 2$ ).

### **3.5. Extração de DNA**

O DNA micobacteriano foi extraído a partir do segundo esfregaço intradérmico do paciente. O procedimento consistiu na adição de 150  $\mu$ L de tampão de lise (1 mg/mL proteinase K e Tween 20 a 0,05%) diretamente sobre a lâmina, seguido de raspagem (ou



esfregação da lâmina) e coleta em microtubos de 1,5 mL. Posteriormente, o raspado foi submetido à incubação a 55 °C durante a noite, seguido da adição de 30 µl de dodecilsulfato de sódio (MERCK, Darmstadt, Germany) a 10%, e incubações à 60°C por 1 h e a 94°C por 15 min. Após, o material foi centrifugado à 12.000g por 15 min, o sobrenadante foi recolhido e a ele foi adicionado 1 ml de etanol a 70%, induzindo a precipitação de ácidos nucleicos pela incubação posterior à -20°C por 1 h. O sobrenadante foi descartado e o sedimento foi lavado uma segunda vez com etanol 70%, e seco a temperatura ambiente. Finalmente o precipitado foi ressuspensão em 30 µL de água ultrapura e armazenado à -20°C.

### **3.6. PCR quantitativo em Tempo Real (qPCR)**

O DNA total extraído foi quantificado e avaliado, mediante o uso de PCR em tempo real (qPCR) com dois alvos específicos para *M. leprae*: *16S* rRNA (Martinez, 2009) e *Rlep* (Truman, 2008), utilizando o ensaio de amplificação TaqMan, no sistema de PCR em tempo real StepOne Plus®. As reações foram feitas em duplicatas e utilizamos como controles positivos e negativos das reações, DNA de *M. leprae* (NHDP) e água ultrapura, respectivamente.

Para a confirmação do diagnóstico clínico, as amostras foram consideradas positivas, quando apresentaram  $Ct \leq 38,5$  para *16S* rRNA (valor  $Ct$  equivalente  $\pm 3$ ) e  $Ct \leq 35,5$  para *Rlep* para pelo menos um dos dois alvos (Martinez e col., 2011, Barbieri e col., 2019, Manta e col., 2018, Manta e col., 2022). Todas as amostras positivas, foram submetidas a genotipagem por MLVA independentemente do valor de  $Ct$  observado.

### **3.7. MLVA (*Multiple-locus Variable Number Tandem Repeat Analysis*)**

#### **3.7.1. PCR multiplex**

Para as análises do número de cópias de cada um dos 17 VNTRs já descritos na literatura e na introdução deste trabalho como alvos prediletos para a genotipagem de amostras de *M. leprae*, separamos em quatro grupos para as análises por PCR *multiplex* utilizando iniciadores fluorescentes como mostrados no Quadro 3.1. Foram colocados de 2-5 µL do DNA extraído em uma mistura de PCR contendo 12,5 µL *Qiagen Multiplex PCR Kit* (QUIAGEM, Hilden, Alemanha) e 0,2 µM de cada iniciador. O kit da

QUIAGEM continha 2.5 U (unidades) de DNA polimerase HotStarTaq, 200 µM de cada desoxirribonucleotídeo (dNTPs) e tampão 10X. As amplificações foram realizadas em um termociclador (Veriti 96 Well Thermal Cycler, Applied Biosystems). As condições de amplificação foram adaptadas de acordo com o descrito por Kimura e cols (2009), com um primeiro passo de ativação a 95°C por 15 min, depois desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 60°C por 90 segundos, extensão a 72°C por 90 segundos e uma extensão final a 72°C por 10 minutos.

**Quadro 3.1. Iniciadores utilizados, cor dos fluoróforos e tamanho dos fragmentos esperados após amplificação da cepa referência NHDP de *M. leprae*.**

PCR	Repetição	Iniciadores Senso	Iniciadores Anti-senso	pb
C01	6-3 <sup>a</sup> (rpoT)	VIC-atgccgaaccggacctcgactgga	tcgtcttcgaggctcgcgaga	91
	AC8b	VIC-gccacttacctcaaccaac	cctataacggcactcagcca	390
	GTA9	NED-agccttagtcgcgagatg	tccgctgtccgtccgctga	307
	GGT5	6FAM-gcagcgggtgaacagcatagc	tgtctgccttgcgaaacggtc	242
	AT17	PET-tctccaacatgctgcgaca	gtacagcggcctgatcgaa	181
C02	21-3	6FAM-gaatctgaccttccgaaatg	cgatgcagcttctacgg	312
	AC9	NED-agcgcccgtgtcgataga	gactggatgctggcacc	236
	AT15	PET-caatatgcccgtgtgctctg	ccgtctggctcgatggctgattc	168
	AC8a	VIC-gtgttacgcggaaccaggca	ccatctgtgtactactga	124
C03	27-5	6FAM-attgagcagatggccggtc	agcagtcggcagccctt	327
	6-7	VIC-gccatcgtgtcggttcac	cggaggaggtgggtacggt	268
	TA18	NED-cgtgcgtcgtgttaggc	gacgtggcaacatcgaagt	230
	GAA21	PET-ctacagggggcacttagctc	ggacctaaacctcccgtttt	201
C04	18-8	PET-gcccgtctatccgcatcaa	gcaaagatcagcacgccaat	348
	12-5	VIC-ctggtccactgctgtacgac	ggagaaggaggccgaataca	289
	23-3	6FAM-ccgaagccctggacgaag	gccgtaaatccgctccc	326
	TA10	PET-tagattcaaacgacctgca	tgataatcacgtgttccgc	185

PCR: Amplificação por PCR multiplex; C01: combinação 01; C02: combinação 02; C03: combinação 03; C04: combinação 04; PB: pares de base (tamanho em pares de base do fragmento esperado para a cepa referência NHDP de *M. leprae* após amplificação).

### 3.7.2. Eletroforese em gel de agarose

Foram utilizados 10 µl do *amplicon* para realização da eletroforese em gel de agarose 2% (TAE 1X/ Tris-acetato 0,04 M, EDTA 1 mM, pH 8,0). Após a corrida, o gel foi submetido a imersão em Brometo de Etídeo (0,5 g/mL) e visualizado sob luz ultravioleta em um transiluminador MiniBIS (DNR Bio Imaging Systems, Modi'in-Maccabim-Re'ut, Israel) para verificar a amplificação.

### 3.7.3. Análise de fragmentos

Foi realizada a diluição 1:60 em água ultrapura do *amplicon* e 1 µL desta diluição foi adicionado a uma mistura contendo 12 µL de formamida Hi-Di™ (Applied Biosystems, Massachusetts, EUA) e 0,3 µL do padrão de DNA GeneScan-LIZ-500 (Applied Biosystems). Posteriormente, o material foi desnaturado por 3 minutos à 94°C e submetido à eletroforese capilar no sequenciador automático 3500 XL (Plataforma Tecnológica de Sequenciamento da Fiocruz - RJ). O número de cópias de cada um dos minissatélites e microssatélites foi determinado através da análise do comprimento dos fragmentos obtidos, com o auxílio do software gratuito Peak Scanner versão 1.0 (Applied Biosystems) (Jensen e col., 2011).

### 3.7.4. Análise dos resultados de MLVA

O número de cópias encontradas para cada *locus* foi introduzido em uma planilha Microsoft Office 365 Excel versão 2018 (Microsoft, Redmond, Estados Unidos) e importado para o programa *Bionumerics* versão 7.6 (Applied Maths, Latem, Bélgica), o qual permitiu a construção de matrizes de similaridade, dendrogramas e árvores filogenéticas utilizando o índice de similaridade calculado pelo coeficiente categórico (*h*) e os algoritmos *Unweighted Pair group Arithmetic averages* (UPGMA), *Neighbor-Joining* (N-J) e *Minimum Spanning Tree* (MST). Este programa permite a criação de associações ou *Clusters* (termo inglês que se refere a aglomeração) quando se apresentaram similaridade completa ou parcial entre os genótipos dos diversos isolados analisados, propondo também, de acordo com os resultados do estimador do poder discriminatório – HGDI (*Hunter Gaston Discriminatory Index*), a eliminação dos VNTRs mais variáveis para novas análises dentro da população de estudo.

### 3.8. Análises estatísticas

Para verificação da possível associação de dados clínicos-epidemiológicos dos pacientes com determinados genótipos, algum *cluster* específico ou algum *cluster* em geral, foram realizados os testes do Qui-Quadrado de independência, Teste G de independência ou Teste Exato de Fisher, conforme o caso.

Além desses, avaliou-se o nível de concordância entre os resultados da qPCR e da baciloscópiá por meio do teste Kappa de Fleiss, que indica o grau de concordância entre três ou mais observadores/avaliadores ou técnicas empregadas (Rosner, 2006), considerando-se entre 0-0,39 fraca concordância, 0,40-0,74 uma boa concordância e 0,75-1,0 uma excelente concordância (Rosner, 2006).

### 3.9. Georreferenciamento e análise espacial

O georreferenciamento foi realizado a partir das coordenadas geográficas (latitude e longitude) obtidas a partir do endereço de cada paciente, utilizando o Google Maps (<https://www.google.com.br/maps>). Os limites das divisões dos municípios e estados foram obtidos no site do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (<https://www.ibge.gov.br/>). Foram excluídos das análises, os pacientes que não informaram o endereço ou que as informações estavam incompletas.

O processamento, a interpretação, a visualização e a análise espacial dos dados foram realizadas por meio do programa ArcGIS (<https://www.arcgis.com/>), onde foram desenhados mapas de geolocalização e mapas coropléticos, utilizando como base a distribuição por Gerências Regionais de Saúde (GERES) e os distritos e bairros que compõem o município de Recife; distribuindo-se em 12 para abarcar os 185 municípios de Pernambuco.

Também foram realizados mapas com estimativas de densidade Kernel (KDE), usando raio adaptativo, no programa TerraView (<http://www.dpi.inpe.br/terralib5/wiki/doku.php>). Estes mapas são uma alternativa para análises geográficas do comportamento de padrões. No mapa é plotado, por meio de métodos de interpolação, a intensidade pontual de determinado fenômeno (ou variável aleatória) em toda a região de estudo. Assim, tem-se uma visão geral da intensidade de distribuição em todas as regiões do mapa. Neste estudo a localização de cada paciente foi achada comumente em Recife, capital do estado de Pernambuco, com exceção de 51

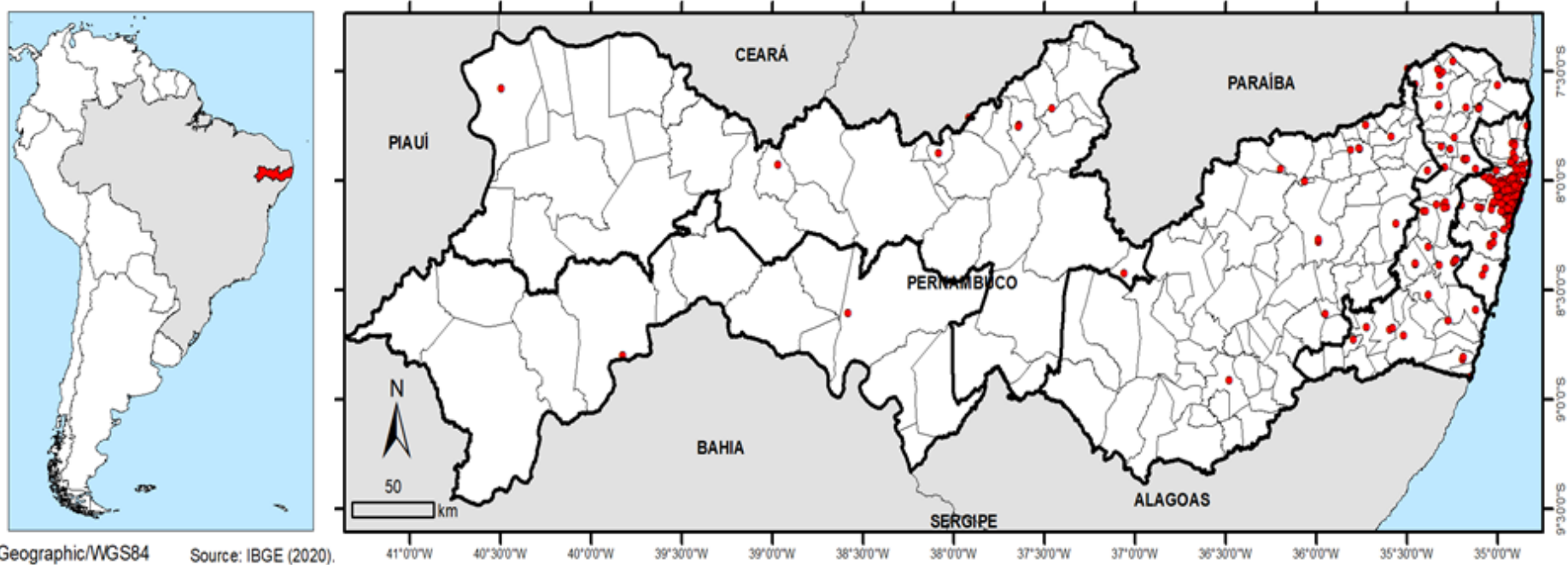
pacientes que apresentaram localizações em outros municípios de Pernambuco.

Também foi utilizado o método de detecção de conglomerados Scan, que além de delinear regiões críticas por meio de algoritmos computacionais gráficos, no qual é atribuída significância à estatística associada via simulação de Monte Carlo (Costa e col., 2006). Esta metodologia pode ser aplicada a dados espaciais, temporais ou espaço-temporais, para vários modelos de probabilidade (Kulldorff, 2009 e Kulldorff, 1997). Dentre os modelos de probabilidade ganham destaque o Poisson e o Permutação Espaço-Tempo quando se trata de dados de contagem. Este último foi aplicado nos dados de pacientes avaliados mediante análise de 13 o mais VNTRs deste estudo, como descrito no capítulo I na secção 4 de geoprocessamento.

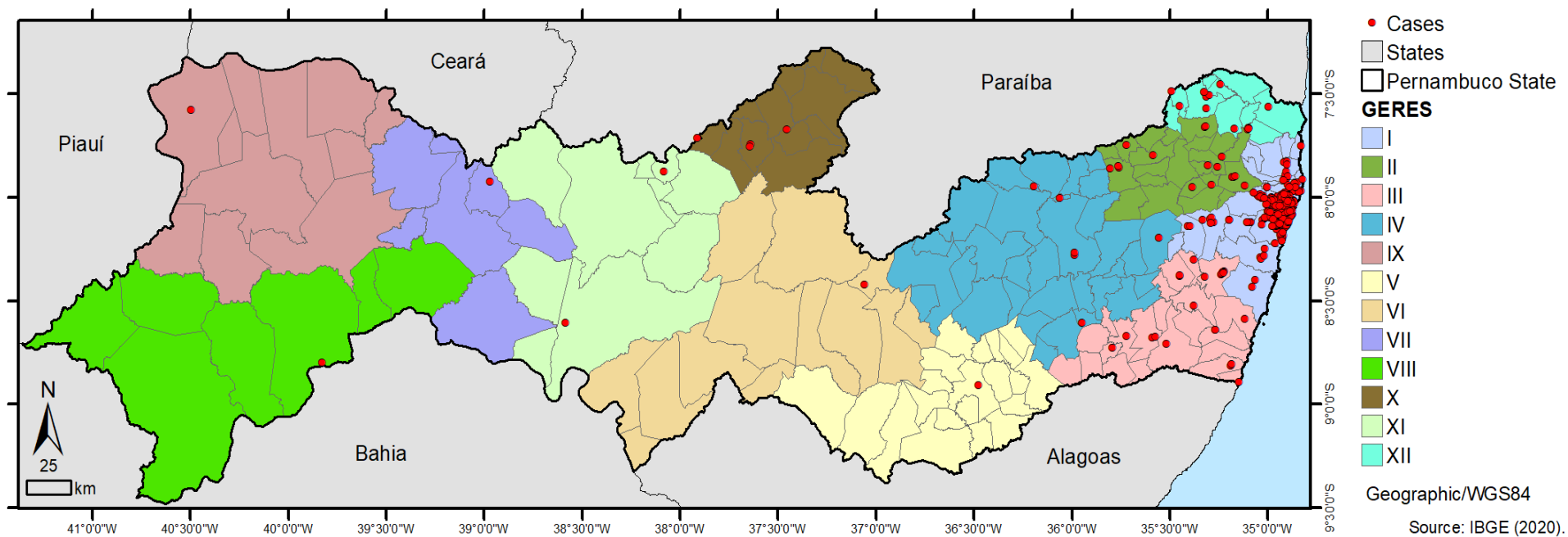
#### **4.1. Caracterização clínico-epidemiológico da população de hansenianos do estudo**

Este trabalho foi conduzido para compreender as características clínicas e epidemiológicas da hanseníase no estado de Pernambuco e em particular na cidade de Recife. Foi desenvolvido um estudo retrospectivo de uma coorte de pacientes portadores de hanseníase atendidos no LMSPR entre os anos de 2012 e 2017. Todos os pacientes com diagnóstico clínico de hanseníase foram convidados a participar do estudo e os que aceitaram responderam ao questionário e assinaram o termo de consentimento, totalizando 709 pacientes.

O LMSPR atende a Região metropolitana de Recife (GERES I) que compreende os municípios: Abreu e Lima, Araçoiaba, Cabo de Santo Agostinho, Camaragibe, Chã Grande, Chã de Alegria, Glória de Goitá, Fernando de Noronha, Igarassu, Ipojuca, Itamaracá, Itapissuma, Jaboatão dos Guararapes, Moreno, Olinda, Paulista, Pombos, Recife, São Lourenço da Mata e Vitória de Santo Antão (como descrito no quadro 1.5). Entretanto, o LMSPR também atende demandas de outros municípios quando pacientes de outras unidades de saúde apresentam-se na região metropolitana. Nas Figuras 4.1 e 4.2 e na Tabela 4.1, podemos ver a distribuição de casos de hanseníase correspondente ao local de residência e de acordo com GERES de Pernambuco. Para o georreferenciamento dos casos, utilizamos informações de 658 pacientes (92,8% do total do estudo) que informaram corretamente o endereço de residência. Observamos a maior concentração de casos (90,3% n=594/658) na região Metropolitana de Recife, sendo 74,22% dos casos na cidade de Recife. Os outros foram distribuídos em outros 68 municípios, com uma frequência inferior a 2% em cada um destes respectivamente (Figura 4.1.). Na figura 4.2 e na tabela 4.1, podemos observar a distribuição dos 658 pacientes pelos GERES, apresentando-se a maior frequência de casos no GERES I (90,3% n=594), seguido do GERES III (3,6% n=24), GERES XII (2,3% n=15), GERES II (1,7% n=11), GERES IV (0,8% n=5), GERES X (0,6% n=4/) e GERES V, VII, VIII, IX e XI (0,2% n=1, para cada caso) (ver quadro 1.5 para observar a composição de cada GERES em Pernambuco).



**Figura 4.1. Distribuição de casos de hanseníase no estado de Pernambuco.** Em vermelho apresentam-se os 658 casos do estudo no estado de Pernambuco, distribuídos de acordo com o endereço de moradia informado no momento da entrevista.



**Figura 4.2. Distribuição de casos de hanseníase correspondente ao local de residência, de acordo com Gerência Regional de Saúde (GERES) de Pernambuco.** Em vermelho apresentam-se os 658 casos do estudo no estado de Pernambuco, com a classificação pelas GERES (delimitadas por diferentes cores), distribuídos de acordo com o endereço de moradia informado no momento da entrevista.



**Tabela 4.1. Distribuição dos pacientes de acordo com a Gerência Regional de Saúde do Estado de Pernambuco.**

	N	%
<b>I</b>	<b>594</b>	<b>90,3</b>
<b>II</b>	11	1,7
<b>III</b>	24	3,6
<b>IV</b>	5	0,8
<b>V</b>	1	0,2
<b>VI</b>	0	0,0
<b>VII</b>	1	0,2
<b>VIII</b>	1	0,2
<b>IX</b>	1	0,2
<b>X</b>	4	0,6
<b>XI</b>	1	0,2
<b>XII</b>	15	2,3
<b>Todas as GERES exceto o I</b>	<b>64</b>	<b>9,7</b>

Apresenta-se os números absolutos (N) e as frequências relativas (%) dos pacientes do estudo distribuídos de acordo as Gerencias Regionais de Saúde de Pernambuco.

As características dos pacientes que participaram deste estudo foram resumidas na Tabela 4.2. Observamos que a maioria dos casos são de moradores da cidade de Recife (74,2% n=526/709), MB (56,4% n=399/708), do sexo masculino (73% n=516/705), com faixa etária de 15 a 59 anos (74,2% n=509/686), pardos (60,0% n=348/580), possuem o ensino fundamental 2 incompleto (26,7% n=185/692), presença de lesões de pele (99,4% n=539/542) e diagnosticados no ano 2012 (23% n=163/709).

**Tabela 4.2. Perfil epidemiológico dos 709 pacientes do estudo.**

		N	%
Classificação IB	Paucibacilares	105	14,8
	Multibacilares	399	56,4
	Negativo	204	28,8
	Paucibacilares+Negativos	309	43,6
Sexo	Feminino	189	26,8
	Masculino	516	73,2
	TOTAL	705	100
Idade média		51,9 Anos	
Classificação etária	< 15 Anos	28	4,1
	15 - 59 Anos	509	74,2
	≥ 60 Anos	149	21,7
Raça/Cor	Branca	206	35,5
	Parda	348	60,0
	Preta	24	4,1
	Amarela	2	0,3
Escolaridade	Não escolar	2	0,3
	Analfabeto	97	14,0
	EFI - Completo	97	14,0
	EFI - Incompleto	101	14,6
	EFII - Completo	30	4,3
	EFII - Incompleto	186	26,7
	EM - Completo	149	21,5
	EM - Incompleto	13	1,9
	ES - Completo	6	0,9
ES - Incompleto	12	1,7	
Ano da coleta/entrevista	2012	163	23,0
	2013	131	18,5
	2014	155	21,9
	2015	137	19,3
	2016	116	16,4
	2017*	7	1,0
Presença de lesões	Sim	539	99,4
	Não	3	0,6
Pacientes com reação		9	100
Município de residência	Recife	526	74,2
	Outros Municípios	183	25,8
Tempo residência	0-10 anos	180	27,0
	11-20 anos	173	25,9
	21-30 anos	129	19,3
	31 ou mais anos	185	27,7

Os percentuais foram calculados considerando os dados para os quais existia informação, excluindo os pacientes que não informaram dados para: IB (n=1), Sexo (n=4), idade (n=23), raça/cor foram (n=129), escolaridade (n=16), Presença de lesões (n=167) e tempo de residência no endereço informado na entrevista (n=42). \*Dados não considerados para as análises estatísticas. Ensino fundamental 1= EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.

Na tabela 4.3, apresenta-se uma descrição mais detalhada do perfil epidemiológico dos 709 pacientes segundo o Índice Baciloscópico, propondo-se quatro categorias: pacientes PB, MB, Negativos e a última categoria que agrupa os pacientes PB com os negativos. Assim nesta tabela, quanto ao gênero, observou-se frequência significativamente maior de pacientes do sexo feminino entre: os PB e de sexo masculino

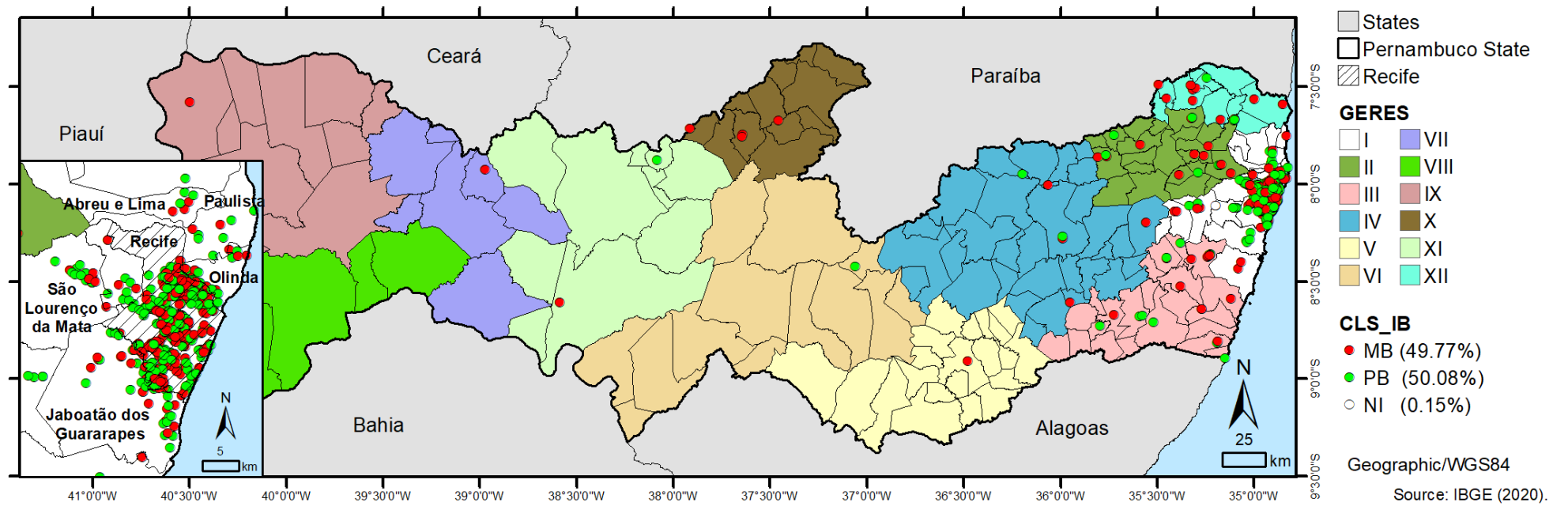
vs. os MB ( $p=0,0004$  PB vs. MB vs. Negativos;  $p=0,0001$  PB e negativos vs. MB). Na característica epidemiológica de tempo de residência no endereço informado na entrevista, observou-se a maior frequência em pacientes multibacilares que relataram viver a menos de um ano até dez anos no endereço informado no momento da entrevista ( $p=0,0307$  na análise estatística para a categoria que compara pacientes PB vs. MB vs. negativos e  $p=0,0119$  na análise estatística para a categoria que compara pacientes PB agrupados com negativos vs. MB). Em cada caso na tabela observa-se em vermelho as associações negativas/inversas (frequência menor que a esperada ao acaso) e em amarelo as positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso). Não foram encontradas outras associações estatisticamente significativas entre a classificação de acordo com IB e as variáveis epidemiológicas.

**Tabela 4.3. Perfil epidemiológico dos 709 pacientes segundo o Índice Baciloscópico.**

		Pacientes paucibacilares		Pacientes multibacilares		Pacientes negativos		Pacientes paucibacilares + negativos		Pacientes totais		Pauci vs. Multi vs. Negativo	Pauci + Negativo vs. Multi
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%		
Sexo	Feminino	33	31,4	83	21,0	72	35,5	105	34,1	188	26,7	0,0004	0,0001
	Masculino	72	68,6	313	79,0	131	64,5	203	65,9	516	73,3		
Idade média		42,7 anos		42,0 anos		47,6 anos		45,2 anos		43,7 anos		-	-
Classificação etária	< 15 anos	6	5,9	16	4,1	5	2,5	11	3,7	27	3,9	0,3166	0,3273
	15 - 59 Anos	74	72,5	294	76,2	141	71,6	215	71,9	509	74,3		
	≥ 60 anos	22	21,6	76	19,7	51	25,9	73	24,4	149	21,8		
Raça/Cor	Branca	32	36,8	109	33,0	66	40,7	98	39,4	207	35,8	0,3343	0,092
	Parda	53	60,9	201	60,9	92	56,8	145	58,2	346	59,8		
	Preta	2	2,3	18	5,5	4	2,5	6	2,4	24	4,1		
	Amarela	0	0,0	2	0,6	0	0,0	0	0,0	2	0,3		
Escolaridade	Não escolar	1	1,0	1	0,3	0	0,0	1	0,3	2	0,3	0,1463	0,168
	Analfabeto	12	11,5	52	13,3	33	16,7	45	14,9	97	14,0		
	EFI - completo	11	10,6	52	13,3	34	17,2	45	14,9	97	14,0		
	EFI - incompleto	17	16,3	58	14,9	26	13,1	43	14,2	101	14,6		
	EFII - completo	5	4,8	13	3,3	12	6,1	17	5,6	30	4,3		
	EFII - incompleto	25	24,0	110	28,2	50	25,3	75	24,8	185	26,7		
	EM - completo	28	26,9	87	22,3	34	17,2	62	20,5	149	21,5		
	EM - incompleto	0	0,0	11	2,8	2	1,0	2	0,7	13	1,9		
	ES - completo	1	1,0	1	0,3	4	2,0	5	1,7	6	0,9		
	ES - incompleto	4	3,8	5	1,3	3	1,5	7	2,3	12	1,7		
Ano do diagnóstico	2012	25	23,8	99	24,8	39	19,1	64	20,7	163	23,0	0,1414	0,0969
	2013	21	20,0	75	18,8	35	17,2	56	18,1	131	18,5		
	2014	23	21,9	94	23,6	37	18,1	60	19,4	154	21,8		
	2015	20	19,0	70	17,5	48	23,5	68	22,0	138	19,5		
	2016	15	14,3	56	14,0	45	22,1	60	19,4	116	16,4		
Presença de lesões	2017	1	1,0	5	1,3	0	0,0	1	0,3	6	0,8	0,7637	>0,9999
	Sim	82	100	302	99,3	154	99,4	236	99,6	538	99,4		
Moradia	Não	0	0	2	0,7	1	0,6	1	0,4	3	0,6	-	-
	Pacientes com reação	3	33,3	5	55,5	1	11,1	4	44,4	9	100		
Tempo de residência no endereço informado na entrevista	Recife	83	79,0	288	72,2	156	76,5	239	77,3	527	74,4	0,2613	0,1397
	Outros Municípios	22	21,0	111	27,8	48	23,5	70	22,7	181	25,6		
	0-10 anos	15	15,5	118	31,6	46	23,6	61	20,9	179	26,9		
GERES	11-20 anos	29	29,9	97	25,9	47	24,1	76	26,0	173	26,0	0,0307	0,0119
	21-30 anos	23	23,7	67	17,9	39	20,0	62	21,2	129	19,4		
	31 ou mais anos	30	30,9	92	24,6	63	32,3	93	31,8	185	27,8		
	I	92	93,9	328	87,5	173	94,0	265	93,97	593	90,3		
GERES	II	1	1,0	7	1,9	3	1,6	4	1,42	11	1,7	0,7709	0,2031
	III	3	3,1	17	4,5	4	2,2	7	2,48	24	3,7		
	IV	1	1,0	3	0,8	1	0,5	2	0,71	5	0,8		
	V	0	0,0	1	0,3	0	0,0	0	0,00	1	0,2		
	VII	0	0,0	1	0,3	0	0,0	0	0,00	1	0,2		
	VIII	0	0,0	0	0,0	1	0,5	1	0,35	1	0,2		
	IX	0	0,0	1	0,3	0	0,0	0	0,00	1	0,2		
	X	0	0,0	4	1,1	0	0,0	0	0,00	4	0,6		
	XI	0	0,0	1	0,3	0	0,0	0	0,00	1	0,2		
	XII	1	1,0	12	3,2	2	1,1	3	1,06	15	2,3		

Os percentuais foram calculados por característica epidemiológica, para realizar as análises estatísticas da mesma forma. *P-valor*: Foram aplicados o teste G ou Qui-Quadrado de independência (pós-teste análise de resíduos) ou teste exato de Fisher, conforme o caso. Em vermelho as associações negativas/inversas (frequência menor que a esperada em acaso) e em amarelo as positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso). Os percentuais foram calculados considerando os dados para os quais existia informação, excluindo os pacientes que não informaram dados para sexo (n= 4), Idade (n= 21), raça/cor (n=129), escolaridade (n=17), ano do diagnóstico (n= 61), presença de lesões (n= 167), local de residência (n=51), tempo de residência no endereço informado na entrevista foram (n=42) e o GERES I (n= 1). Ensino fundamental 1= EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.

Na Figura 4.3, podemos ver a distribuição dos 658 casos MB e PB de acordo com a GERES. É possível notar a diferença entre os casos PB (sendo que dentro de este grupo encontram-se os pacientes com IB negativo) e MB na GERES I; para os pacientes PB 14,0% (n=92) e os MB 49,9% (n=328), seguido do observado nas GERES III PB 0,5% (n=3) e MB 2,6% (n=17), GERES II PB 0,2% (n=1) e MB 1,1% (n=7), GERES IV PB 0,2% (n=1) e MB 0,5% (n=3), GERES XII PB 10,2% (n=1) e MB 1,8% (n=12) e por último GERES X PB 0% e MB 0,6% (n=4), obtendo que para cada caso a frequência de casos MB é superior aos casos PB.



**Figura 4.3. Distribuição de casos de hanseníase Paucibacilar e Multibacilar (de acordo com IB) de acordo com Gerência Regional de Saúde (GERES) de Pernambuco. Pacientes MB, pontos vermelhos; PB, pontos verdes; e NI (pacientes sem informação baciloscópica), pontos brancos.**

Os 709 pacientes arrolados no estudo também foram divididos em quatro grupos distintos de acordo com a classificação terapêutica (Tabela 4.4). Foram considerados casos novos (CN) indivíduos que foram diagnosticados e iniciaram o tratamento no ano da coleta e da entrevista, o que representou 89,4% (n= 633) dos 709 casos. Falha terapêutica (FT), os indivíduos que relataram diagnóstico e início do tratamento anterior em um intervalo superior a 12 meses e inferior a 24 meses da data da coleta e da entrevista, representando 5,6% dos casos (n=40). Recidiva/reinfecção (R/R), os indivíduos que relataram diagnóstico e tratamento anterior completo em um intervalo superior a 24 meses da data de coleta e da entrevista (variando de 2 anos e 1 mês há 34 anos), representando 4,4% (n=31). Finalmente, abandono terapêutico (AB) pacientes que relataram diagnóstico e tratamento anterior incompleto na data da coleta 0,6% (n=4). Observamos uma fraca associação estatisticamente significativa, entre a classificação terapêutica e o IB ( $p=0,0494$ ). Na tabela 4.4 apresenta-se em amarelo as associações positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso) e vermelho as negativas/inversas (frequência menor que a esperada em acaso).

**Tabela 4.4. Estratificação dos pacientes de acordo a classificação terapêutica.**

Classificação terapêutica	PB		MB		Negativo		PB + negativos		Total		P-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
CN	84	13,3	361	57,0	188	29,7	272	42,9	633	100,0	
R/R*	9	29,0	16	51,6	6	19,4	15	48,4	31	100,0	
FT**	12	30,0	20	50,0	8	20,0	20	50,0	40	100,0	0,0494
AB	0	0,0	2	50,0	2	50,0	2	50,0	4	100,0	
Total	105	14,8	399	56,4	204	28,8	309	43,6	708	100,0	

Os percentuais foram calculados de acordo aos dados apresentados por cada linha da tabela, sendo o total o 100% como valor de referência (cálculos na horizontal para cada tipo de classificação terapêutica). P-valor análises estatística de independência (pós-teste análise de resíduos). Em vermelho as associações negativas/inversas (frequência menor que a esperada em acaso) e em amarelo as positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso).

CN: casos novos; R/R: recidiva/reinfecção; FT: falha terapêutica; AB: abandono terapêutico.

\* tempo de diagnóstico e tratamento superior a 24 meses no momento da entrevista.

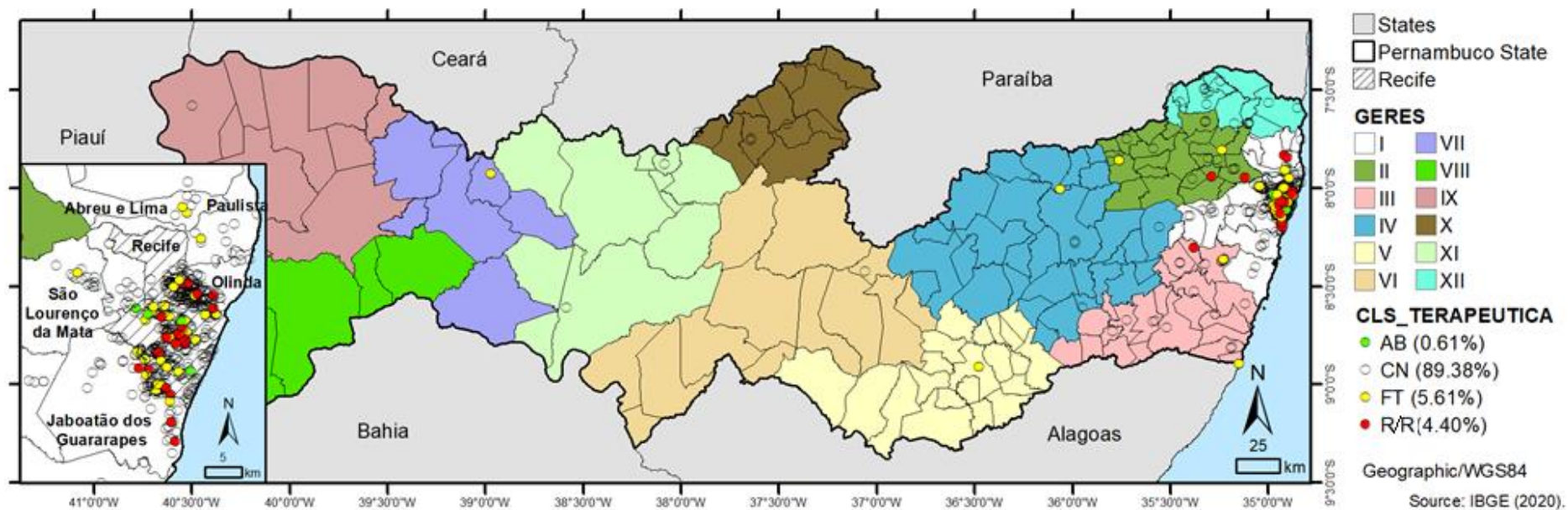
\*\* tempo de diagnóstico e tratamento igual o inferior 24 meses da data da entrevista.

Na figura 4.4 apresenta-se a distribuição de todos os casos de acordo com classificação terapêutica no estado de Pernambuco, observando que a maior concentração de casos ocorre nos municípios de Recife, Olinda, Jaboatão dos Guararapes, Paulista, Abreu e Lima e São Lourenço da Mata, localizados principalmente na GERES I.

Na tabela 4.5 (Casos Novos [CN] x Falha terapêutica [FT]) foram comparadas as características epidemiológicas dos casos novos e os casos de falha terapêutica. Observou-se (em laranja) que para este último grupo a população era majoritariamente masculina (75%), com idades entre 15 até 59 anos (79,5%), autodeclararam-se pardos 83,3%, com escolaridade de ensino fundamental II incompleto (35%) e analfabetos (22,5%), tempo de residência no endereço informado na entrevista de 11-20 anos e 31 ou mais anos (30,3% em cada caso) e localizados principalmente no GERES I (71,4%).

Na tabela 4.6 (Casos Novos [CN] x Recidiva/Reinfecção [R/R]) foram comparadas as características epidemiológicas dos casos novos e reinfecção/recidiva, observando-se (em laranja) que para este último grupo a população era majoritariamente masculina (64,5%), com idades entre 15 até 59 anos (90,3%), autodeclararam-se pardos 58,3%, com escolaridade de ensino fundamental I completo e ensino fundamental II incompleto (25,8% em cada caso), tempo de residência no endereço informado na entrevista de 21-30 anos (37,9%) e localizados principalmente no GERES-I (87,1%). Para esta última tabela também apresentam-se em amarelo as associações positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso) só nas características epidemiológicas de idade para pacientes entre 15 e 59 anos e para a característica de tempo de residência no endereço informado na entrevista para 21 a 30 anos nos casos de R/R e em vermelho as associações negativas/inversas (frequência menor que a esperada em acaso) para o grupo em comparação de casos novos nas mesmas características de idade e tempo de residência no endereço informado na entrevista.





**Figura 4.4. Distribuição dos casos de hanseníase de acordo com a classificação terapêutica em Pernambuco com a delimitação pelas Gerências Regionais de Saúde (GERES). Classificações terapêuticas: AB; abandono terapêutico, CN; casos novos, FT; falha terapêutica, R/R; recidiva/reinfecção.**

**Tabela 4.5. Fatores epidemiológicos dos 709 pacientes de acordo com a classificação terapêutica para os casos de falha terapêutica.**

		Falha Terapêutica (n=40)		Casos Novos (n=630)		P-valor	
		N	%	N	%		
Sexo	Feminino	10	25	166	26,3	>0,9999	
	Masculino	30	75	464	73,7		
Idade	< 15 anos	1	2,6	26	4,3	0,6573	
	15 - 59 Anos	31	79,5	446	73,0		
	≥ 60 anos	7	17,9	139	22,7		
Raça	Branco	3	10,0	195	37,4	0,0601	
	Pardo	25	83,3	305	58,5		
	Preto	2	6,7	19	3,6		
	Amarelo	0	0,0	2	0,4		
Escolaridade	Não escolar	1	2,5	1	0,2	0,1267	
	Analfabeto	9	22,5	85	13,7		
	EFI - Completo	4	10	85	13,7		
	EFI - Incompleto	4	10	94	15,2		
	EFII - Completo	0	0	28	4,5		
	EFII - Incompleto	14	35	163	26,3		
	EM - Completo	5	12,5	137	22,1		
	EM - Incompleto	0	0	11	1,8		
	ES - Completo	2	5	4	0,6		
	ES - Incompleto	1	2,5	11	1,8		
Presença de lesões	Sim	34	100	475	99,4	>0,9999	
	Não	0	0	3	0,6		
Tempo de residência no endereço informado na entrevista	0-10 anos	6	15	165	26,2	0,7071	
	11-20 anos	10	25	159	25,2		
	21-30 anos	7	17,5	110	17,5		
	31 ou mais anos	10	25	166	26,3		
GERES	I	30	71,4	533	82,9	0,7223	
	II	2	4,8	8	1,2		
	III	2	4,8	22	3,4		
	IV	1	2,4	3	0,5		
	VIII	0	0,0	1	0,2		
	IX	0	0,0	1	0,2		
	X	0	0,0	4	0,6		
	XI	0	0,0	1	0,2		
	XII	0	0,0	15	2,3		
	Todas as GERES exceto o I	7	16,7	55	8,6		0,0812

Os percentuais foram calculados por característica epidemiológica, para realizar as análises estatísticas da mesma forma. Foram aplicados o teste G ou Qui-Quadrado de independência (pós-teste análise de resíduos) ou teste exato de Fisher, conforme o caso. Os percentuais foram calculados considerando os dados para os quais existia informação. Ensino fundamental 1= EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.

**Tabela 4.6. Fatores epidemiológicos dos 709 pacientes de acordo com a classificação terapêutica para os casos de recidiva/reinfecção.**

		Recidiva/Reinfecção (n=31)		Casos Novos (n=630)		P-valor
		N	%	N	%	
Sexo	Feminino	11	35,5	166	26,3	0,2985
	Masculino	20	64,5	464	73,7	
Idade	< 15 anos	0	0,0	26	4,3	0,0479
	15 - 59 Anos	28	90,3	446	73,0	
	≥ 60 anos	3	9,7	139	22,7	
Raça	Branco	8	33,3	195	37,4	0,8606
	Pardo	14	58,3	305	58,5	
	Preto	2	8,3	19	3,6	
	Amarelo	0	0,0	2	0,4	
Escolaridade	Não escolar	0	0,0	1	0,2	0,861
	Analfabeto	3	9,7	85	13,7	
	EFI - Completo	8	25,8	85	13,7	
	EFI - Incompleto	3	9,7	94	15,2	
	EFII - Completo	1	3,2	28	4,5	
	EFII - Incompleto	8	25,8	163	26,3	
	EM - Completo	6	19,4	137	22,1	
	EM - Incompleto	2	6,5	11	1,8	
	ES - Completo	0	0,0	4	0,6	
	ES - Incompleto	0	0,0	11	1,8	
Presença de lesões	Sim	26	100	475	99,4	>0,9999
	Não	0	0	3	0,6	
Tempo de residência no endereço informado na entrevista	0-10 anos	7	24,1	165	27,5	0,0377
	11-20 anos	3	10,3	159	26,5	
	21-30 anos	11	37,9	110	18,3	
	31 ou mais anos	8	27,6	166	27,7	
GERES	I	27	87,1	533	82,9	1,0000
	II	1	3,2	8	1,2	
	III	0	0,0	22	3,4	
	IV	1	3,2	3	0,5	
	VIII	0	0,0	1	0,2	
	IX	0	0,0	1	0,2	
	X	0	0,0	4	0,6	
	XI	0	0,0	1	0,2	
	XII	0	0,0	15	2,3	
	Todos os GERES exceto o I	2	6,5	55	8,6	

Os percentuais foram calculados por característica epidemiológica, para realizar as análises estatísticas da mesma forma. Foram aplicados o teste G ou Qui-Quadrado de independência (pós-teste análise de resíduos) ou teste exato de Fisher, conforme o caso. Em vermelho as associações negativas/inversas (frequência menor que a esperada em acaso) e em amarelo as positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso). Os percentuais foram calculados considerando os dados para os quais existia informação. Ensino fundamental 1= EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.

## 4.2 qPCR

### 4.2.1. Detecção e confirmação do diagnóstico

Foi realizado o qPCR em 655 amostras de DNA (92,38 %) extraído dos 709 pacientes. Cinquenta e quatro (7,6%) amostras foram excluídas por não apresentarem o volume necessário (Tabela 4.7). Das 655 amostras, 174 eram de pacientes com baciloscopia negativa, o que representa 85,2% do total de casos negativos (n=204) arrolados no estudo, 99 amostras de pacientes PB [94,3% de todos os casos PB (n=105), e 382 MB, 95,7% de todos os casos MB (n=399). Foram considerados como qPCR positivas amostras que apresentaram valores de  $Ct \leq 38,5$  para *16S* e  $Ct \leq 35,5$  *Rlep* para um ou os dois alvos, correspondente a aproximadamente três genomas referente ao alvo *16S*.

Na tabela 4.7 podemos verificar a positividade da qPCR em esfregaços intradérmicos, estratificados de acordo com a classificação bacteriológica. A positividade geral foi de 95% (n=622), nos PB a positividade foi de 94% (n=93), em MB a positividade foi de 99,5 % (n=380), e nos esfregaços de pacientes com baciloscopia negativa foi de 85,6% (n=149). Quando agrupamos os negativos com o PB ( $IB \leq 2$ ), a positividade foi de 88,6% como apresentado na tabela 4.8. Já na tabela 4.9, estratificamos os resultados em seis intervalos e observamos que a positividade da qPCR é de 100% para as amostras de pacientes com  $IB \geq 3$ .

**Tabela 4.7. Positividade da qPCR em esfregaços intradérmicos, estratificados de acordo com a classificação bacteriológica.**

Classificação de acordo com o IB	IB	N	qPCR			
			POSITIVO (%)		NEGATIVO (%)	
Negativo	0	174	149	85,6	25	14,4
PB	0,25-1,75	99	93	94	6	6
MB	2-5,25	382	380	99,5	2	0,5
Todos	0-5,25	655	622	95	33	5

N; corresponde ao número total de amostras.

**Tabela 4.8. Positividade da qPCR em esfregaços intradérmicos, estratificados em pacientes com IB ≤ 2 e pacientes com IB > 2.**

Classificação de acordo com o IB	IB	N	qPCR			
			POSITIVO (%)		NEGATIVO (%)	
Negativo + PB	0-1,75	273	242	88,6	31	11,4
MB	2-5,25	382	380	99,5	2	0,5
Todos	0-5,25	655	622	95	33	5

N; corresponde ao número total de amostras.

**Tabela 4.9. Positividade da qPCR em esfregaços intradérmicos, estratificados de acordo com intervalos dos valores IB.**

Classificação de acordo com o IB	IB	N	qPCR			
			POSITIVO (%)		NEGATIVO (%)	
Negativo	0	174	149	85,6	25	14,4
PB	0,25-1,75	99	93	94	6	6
	2-2,75	117	115	98,3	2	1,7
MB	3-3,75	144	144	100	0	0
	4-4,75	114	114	100	0	0
	5-5,25	7	7	100	0	0

N; corresponde ao número total de amostras.

Na análise estatística kappa apresentado na Tabela 4.10 apresenta-se uma maior associação positiva/direta (frequência maior que a esperada ao acaso) considerando-se apenas os pacientes realmente negativos na baciloscópiá e todos os pacientes com IB positivo (pacientes PB e MB), registrando um valor de concordância (Kappa) de 0,760305, corroborando o observado na qPCR que mostrou que mais de 80% das amostras consideradas negativas pela baciloscópiá foram realmente positivas.

**Tabela 4.10. Análises de Kappa para os resultados de IB vs. qPCR.**

qPCR	BACILOSCOPIA		Kappa	Considerando NEG na baciloscópiá apenas os casos realmente Negativos, e POS na baciloscópiá os casos Paucibacilares e Multibacilares;	
		POS			NEG
	POS	473			149
	NEG	8	25		
0,760305					
qPCR	BACILOSCOPIA		Kappa	Considerando NEG na baciloscópiá os casos Negativos e Paucibacilares, e POS na baciloscópiá todos os casos Multibacilares.	
		POS			NEG
	POS	380			242
	NEG	2	31		
0,627481					

Para o valor de kappa <0.0001 considera-se como uma relação de concordância fraca.

### 4.3. MLVA

#### 4.3.1. Amplificação e diversidade alélica

Para o estudo de diversidade alélica, seiscentos e setenta e duas amostras (94,8% do total da amostragem, n=672) foram submetidas à PCR (com o esquema de primers apresentados no quadro 3.1) para amplificação dos 17 *loci* MLVA\* (Tabela 4.11). Entre estas amostras, 42,6 % eram provenientes de pacientes classificados bacteriologicamente como negativos e PB (n=286). Duzentos e trinta e oito amostras (35,4%) amplificaram para os 17 *loci* e 22 (9,2%) amostras não amplificaram nenhum dos 17 *loci*. Na Tabela 4.12 podemos verificar o número de *loci* amplificados (0-17 *loci*) de acordo com o IB (0-5,25). Notamos que quanto maior o IB maior o número de amostras que amplificaram para os 17 *loci*. Entre os MB a amplificação dos 17 *loci* correu em 51% (n= 196) dos casos, já nos PB e com IB=0, a amplificação ocorreu em 14,7% (n=42) dos casos. Quando olhamos apenas para os casos com IB=0, a amplificação de todos os *loci* ocorreu em 7% dos casos avaliados (n=13). O *locus* mais amplificado foi o TA10 68,3% (n=459) e os que menos amplificaram foram os *loci* AT15 45,8% (n=308) e AT18 49,5% (n=333) (tabela 4.12).

Os menores e maiores Ct observados para as amostras que amplificaram para os 16/17 *loci* foram respectivamente; para MB *I6S*: 18,9 e 37,53; *Rlep*: 11,43 e 34,47, para os PB foram *I6S*: 23,01 e 33,44; *Rlep*: 18,18 e 34,1, e para os pacientes negativos (com IB=0) foram *I6S*: 23,41 e 35,93; *Rlep*: 17,54 e 34,32.

O poder discriminatório e a distribuição alélica foram calculados e apresentados na Tabela 4.11. O poder discriminatório dos *loci* variou entre 0,007 e 0,938 e a distribuição alélica foi de uma a 36 cópias. Quatro *loci* [GGT5, 23-3, 21-3 e 6-3] mostraram baixo poder discriminatório, nove *loci* [GTA9, TA10, AC8a, AC9, AC8b, 18-8, 27-5, 6-7 e 12-5] apresentaram moderado poder discriminatório (com uma distribuição atípica ao esperado) e quatro *loci* [TA18, AT15, AT17 e TTC/ GAA21] foram altamente discriminatórios, com um HGDI superior a 0,8 Tabela 4.11

\*Todos os isolados que apresentaram quantidade suficiente de DNA foram submetidos a análise pela técnica de MLVA independente do IB e do resultado de qPCR, já que não existem trabalhos que associem a eficiência da técnica em amostras PB.

**Tabela 4.11. Diversidade alélica dos 16/17 VNTRs empregados no MLVA.**

17-Loci- MLVA-VNTR	Número do Alelo																																				h	Interpretação do valor h	Amostras Totais
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36			
TA18	-	-	-	-	-	1	1	5	1	2	-	6	6	13	18	28	41	25	29	22	21	20	16	12	12	15	6	5	5	7	2	2	5	-	1	1	0,9380483	Altamente discriminador	333
AT15	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	23	29	14	31	22	17	17	19	14	22	22	11	17	13	13	5	6	5	1	-	-	-	-	1	-	0,9370109	Altamente discriminador	308
AT17	-	1	-	1	-	-	-	-	1	46	48	32	56	55	54	32	18	21	7	5	4	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8884356	Altamente discriminador	384
TTC/ GAA21	-	-	-	-	-	-	-	1	3	15	25	68	72	61	61	33	22	7	9	1	1	2	1	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8659023	Altamente discriminador	385
GTA9	-	-	-	-	-	-	1	20	109	101	56	37	23	8	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7841729	Moderadamente discriminante	358
TA10	-	1	-	-	112	2	17	212	29	44	24	5	6	4	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7087983	Moderadamente discriminante	459	
AC8a	-	-	-	-	-	-	5	242	69	71	7	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5624345	Moderadamente discriminante	396	
AC9	-	-	-	-	-	7	210	137	18	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5442143	Moderadamente discriminante	373	
AC8b	-	-	-	1	-	2	170	192	6	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5282505	Moderadamente discriminante	374	
18-8	-	-	272	13	1	-	1	72	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4180034	Moderadamente discriminante	370		
27-5	-	3	5	85	277	3	-	1	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4073946	Moderadamente discriminante	377		
6-7	-	-	-	2	33	282	50	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3878947	Moderadamente discriminante	369		
12-5	-	-	2	286	90	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3821990	Moderadamente discriminante	382		
GGT5	-	-	2	374	16	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0949613	Baixo discriminador	394		
23-3	14	376	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0668249	Baixo discriminador	390		
21-3	1	383	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0077719	Baixo discriminador	385		
6-3	-	-	406	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0073349	Baixo discriminador	408		

*h*: valor do poder discriminatório ou índice discriminatório de Hunter Gaston - HGDI.

**Tabela 4.12. Relação entre o número de loci amplificados e o IB.**

		Número de Loci amplificados																																				
	IB	N	17 (%)		16 (%)		15 (%)		14 (%)		13 (%)		12 (%)		11 (%)		10 (%)		9 (%)		8 (%)		7 (%)		6 (%)		5 (%)		4 (%)		3 (%)		2 (%)		1 (%)		0 (%)	
Neg + PB (n=286/42,6%)	0	186	13 (7,0)		10 (5,4)		5 (2,7)		5 (2,7)		6 (3,2)		9 (4,8)		2 (1,1)		10 (5,4)		7 (3,8)		15 (8,1)		11 (5,9)		10 (5,4)		11 (5,9)		18 (9,7)		11 (5,9)		17 (9,1)		11 (5,9)		15 (8,1)	
	0,5- 0,75	24	3 (12,5)	42 (14,7%)	2 (8,3)	17 (5,9%)	5 (20,8)	16 (5,6%)	-	6 (2,1%)	-	8 (2,8%)	1 (4,2)	17 (5,9%)	-	3 (1,0%)	-	15 (5,2%)	-	10 (3,5%)	2 (8,3)	20 (7,0%)	1 (4,2)	13 (4,5%)	1 (4,2)	12 (4,2%)	1 (4,2)	14 (4,9%)	4 (16,7)	23 (8,0%)	3 (12,5)	18 (6,3%)	-	25 (8,7%)	1 (4,2)	12 (4,2%)	-	15 (5,2%)
	1- 1,75	76	26 (34,2)		5 (6,6)		6 (7,9)		1 (1,3)		2 (2,6)		7 (9,2)		1 (1,3)		5 (6,6)		3 (3,9)		3 (3,9)		1 (1,3)		1 (1,3)		2 (2,6)		1 (1,3)		4 (5,3)		8 (10,5)		-		-	
MB (n=385/57,4%)	2- 2,75	117	53 (45,3)		11 (9,4)		6 (5,1)		4 (3,4)		5 (4,3)		8 (6,8)		4 (3,4)		1 (0,9)		8 (6,8)		4 (3,4)		2 (1,7)		1 (0,9)		3 (2,6)		3 (2,6)		-		1 (0,9)		1 (0,9)		2 (1,7)	
	3- 3,75	146	72 (49,3)		17 (11,6)		11 (7,5)	25 (6,5%)	2 (1,4)	11 (2,9%)	12 (8,2)	6 (4,1)	17 (4,4%)	1 (0,7)	5 (1,3%)	-	4 (1,0%)		2 (1,4)	10 (2,6%)	3 (2,1)	8 (2,1%)	5 (3,4)	9 (2,3%)	2 (1,4)	3 (3,4)	5 (3,4)	5 (3,4)	10 (2,6%)	-	0,0	1 (0,3%)	-	1 (0,3%)	1 (0,3%)	3 (2,1)	7 (1,8%)	
	4- 4,75	114	66 (57,9)	196 (51%)	18 (15,8)	46 (11,9%)	7 (6,1)		4 (3,5)		7 (6,1)		3 (2,6)		-		3 (2,6)		-		1 (0,9)		2 (1,8)		-		2 (1,8)		-		-		-		-	1 (0,9)		
	5- 5,25	8	5 (62,0)		-		1 (12,5)		1 (12,5)		-		-		-		-		-		-		-		-		-		-		-		-		-	1 (12,5)		
NI		1	0	-	1 (100)	100,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Totais		672	238	35,4	64	9,5	41	6,1	17	2,5	32	4,8	34	5,1	8	1,2	19	2,8	20	3,0	28	4,2	22	3,3	15	2,2	22	3,3	33	4,9	18	2,7	26	3,9	13	1,9	22	3,3



### **4.3.2. Análise de grupos (*clusters*) genéticos relacionados**

A definição de agrupamento foi baseada na comparação do número de cópias dos VNTRs usando duas estringências diferentes: considerando aqueles que apresentaram número de cópias idêntico para 17 ou 16 *loci*, ou considerando aqueles que tinham número de cópias idêntico em 13 *loci*, excluindo os quatro *loci* mais variáveis (GGT5, 23-3, 21-3 e 6-3, estes com o HGDI > 0.8).

#### **4.3.2.1. Características clínico-epidemiológicas dos pacientes considerando 16/17 *loci*.**

As características clínico-epidemiológicas dos pacientes considerando os 17/16 *loci* pode ser vista na tabela 4.13. Para essa análise consideramos as informações clínicas e epidemiológicas de 295, destes 238 com perfis completos e 57 perfis parciais com 16 VNTR. O setenta e cinco vírgula dois por cento (75,2%, n=221/294) são do sexo masculino, 73,4% (n=210/286) apresentam idades de 15 até 59 anos, 61,5% (n=147/239) autodeclararam-se pardos, 28,3% (n=80/283) possuem ensino fundamental 2 incompleto, 92,5% (n=272/294) foram classificados como CN e 4,1% (n=12/294) como possíveis casos de R/R, 100% (n=231); para essa característica apresentaram lesões e 28,9% (n=80/277) relataram residir entre 11 e 20 anos no mesmo endereço fornecido no momento da entrevista/diagnóstico, como mostrado na tabela 4.13. De acordo as análises estatísticas apresentadas na tabela 4.13; com exceção das características: sexo e tempo de residência no endereço informado na entrevista, não foram encontradas outras associações estatisticamente significativas entre a classificação operacional da hanseníase e as outras variáveis epidemiológicas apresentadas. Observamos uma maior frequência de casos MB em pacientes do sexo masculinos (78,4% n=185/236) e uma maior frequência de casos em pacientes com baciloscopia negativas do sexo feminino (p=0,0032). Os pacientes MB relataram residir no mesmo endereço do momento da entrevista/diagnóstico em um intervalo de 0-10 anos, mais do que o observado para o total dos casos (p=0,0242).

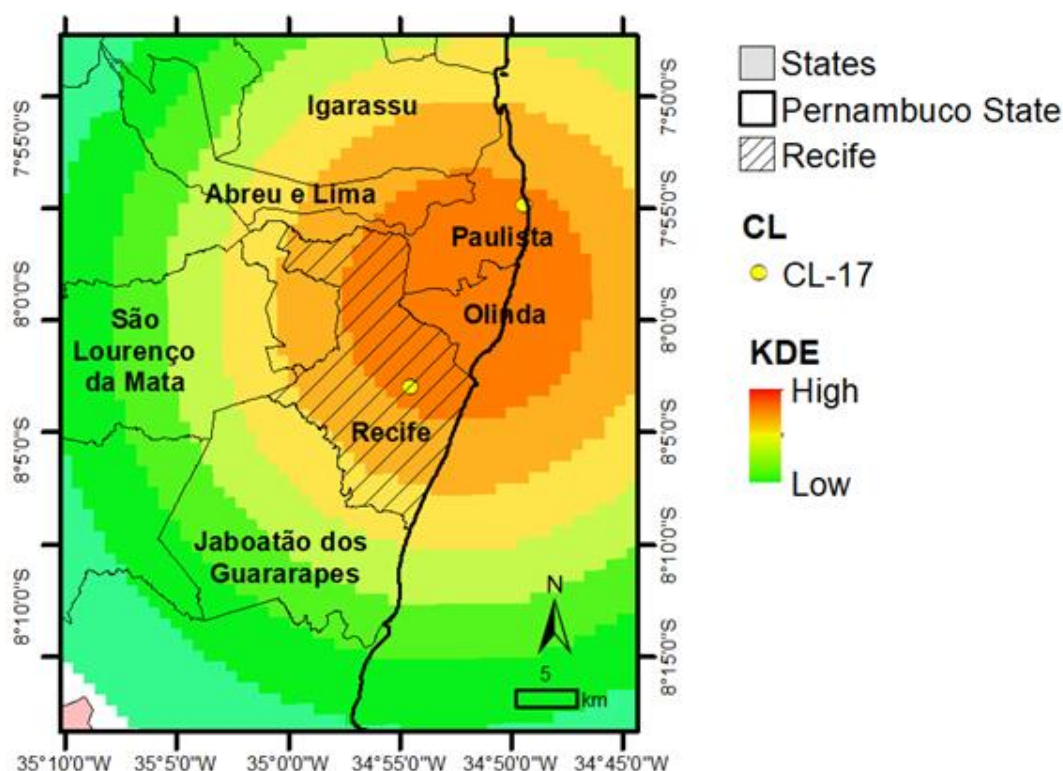
**Tabela 4.13. Distribuição dos pacientes com 16/17 VNTRS segundo a classificação pelo IB da hanseníase e as variáveis epidemiológicas.**

		Pacientes paucibacilares		Pacientes multibacilares		Pacientes negativos		Pacientes totais		p-valor*
		N	%	N	%	N	%	N	%	
Sexo	Feminino	9	25,7	51	21,6	13	56,5	73	24,8	0,0032
	Masculino	26	74,3	185	78,4	10	43,5	221	75,2	
Idade média		45,7 anos		41,6 anos		52,0 anos		42,8 anos		-
Classificação etária	< 15 anos	1	2,9	13	5,7	1	4,5	15	5,2	0,2311
	15 - 59 Anos	25	71,4	173	75,5	12	54,5	210	73,4	
	≥ 60 anos	9	25,7	43	18,8	9	40,9	61	21,3	
Raça/Cor	Branca	10	37,0	58	30,1	9	47,4	77	32,2	0,6921
	Parda	16	59,3	121	62,7	10	52,6	147	61,5	
	Preta	1	3,7	12	6,2	0	0,0	13	5,4	
	Amarela	0	0,0	2	1,0	0	0,0	2	0,8	
Escolaridade	Não escolar	0	0,0	1	0,4	0	0,0	1	0,4	0,918
	Analfabeto	2	5,7	32	14,0	4	20,0	38	13,4	
	EFI - Completo	3	8,6	28	12,3	3	15,0	34	12,0	
	EFI - Incompleto	4	11,4	33	14,5	4	20,0	41	14,5	
	EFII - Completo	1	2,9	9	3,9	0	0,0	10	3,5	
	EFII - Incompleto	11	31,4	64	28,1	5	25,0	80	28,3	
	EM - Completo	12	34,3	50	21,9	4	20,0	66	23,3	
	EM - Incompleto	0	0,0	7	3,1	0	0,0	7	2,5	
	ES - Completo	1	2,9	0	0,0	0	0,0	1	0,4	
ES - Incompleto	1	2,9	4	1,8	0	0,0	5	1,8		
Classificação terapêutica	CN	31	88,6	218	92,4	23	100,0	272	92,5	0,834
	R/R	2	5,7	10	4,2	0	0,0	12	4,1	
	FT	2	5,7	7	3,0	0	0,0	9	3,1	
	AB	0	0,0	1	0,4	0	0,0	1	0,3	
Ano do diagnóstico	2012	6	17,1	65	27,5	3	13,0	74	25,2	0,2611
	2013	6	17,1	56	23,7	5	21,7	67	22,8	
	2014	13	37,1	78	33,1	5	21,7	96	32,7	
	2015	6	17,1	25	10,6	6	26,1	37	12,6	
	2016	3	8,6	11	4,7	4	17,4	18	6,1	
	2017	1	2,9	1	0,4	0	0,0	2	0,7	
Presença de lesões de lesões		28	12,1	187	80,9	16	6,9	231	100	-
Pacientes com reação		1	25,0	3	75,0	0	0,0	4	100	-
Moradia	Recife	26	74,3	171	72,5	19	82,6	216	73,5	0,5708
	Outros Municípios	9	25,7	65	27,5	4	17,4	78	26,5	
Tempo de residência no endereço informado na entrevista	0-10 anos	3	9,1	72	32,6	3	13,0	78	28,2	0,0242
	11-20 anos	11	33,3	61	27,6	8	34,8	80	28,9	
	21-30 anos	8	24,2	31	14,0	2	8,7	41	14,8	
	31 ou mais anos	11	33,3	57	25,8	10	43,5	78	28,2	
GERES	I	31	93,9	194	86,2	19	95,0	244	87,8	0,9511
	II	0	0,0	6	2,7	0	0,0	6	2,2	
	III	1	3,0	12	5,3	0	0,0	13	4,7	
	IV	1	3,0	3	1,3	0	0,0	4	1,4	
	VIII	0	0,0	0	0,0	1	5,0	1	0,4	
	IX	0	0,0	1	0,4	0	0,0	1	0,4	
	X	0	0,0	2	0,9	0	0,0	2	0,7	
	XI	0	0,0	1	0,4	0	0,0	1	0,4	
XII	0	0,0	6	2,7	0	0,0	6	2,2		

Os percentuais foram calculados por característica epidemiológica, para realizar as análises estatísticas da mesma forma. Foram aplicados o teste G ou Qui-Quadrado de independência (pós-teste análise de resíduos) ou teste exato de Fisher, conforme o caso. Em vermelho as associações negativas/inversas (frequência menor que a esperada em acaso) e em amarelo as positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso). Os percentuais foram calculados baseados em cada característica epidemiológica e aos dados para os quais existia informação, excluindo os pacientes que não informaram dados para: o seu Sexo foi 1, sua raça/cor foram 54, sua escolaridade (entrando os grupos nos que não se aplica e surdo e mudo) foram 11, na classificação terapêutica um paciente dos casos novos não apresentou classificação por IB, na presença de lesões 65 e tempo de residência no endereço informado na entrevista foram 17. Ensino fundamental 1= EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.

#### 4.3.2.2. Definição dos *clusters* para as análises com 16/17 VNTRs

Na análise com 17 VNTRs, na árvore baseada no UPGMA (Anexo 1), foi observado 294 genótipos diferentes formados por 293 *singletons* (ou genótipos únicos) e um agrupamento de dois pacientes, resultando em uma taxa de agrupamento de 0,003%. O genótipo pode ser visto no quadro 4.1. Os dois pacientes que apresentaram o mesmo genótipo bacteriano foram diagnosticados em 2014, são do sexo masculino, sem relato de tratamento anterior, classificados pelo índice baciloscópico como paucibacilares, não apresentam relação familiar e a distância entre os municípios (Recife e Paulista) de residência dos dois pacientes é de aproximadamente 18,9 Km (Figura 4.5), baseado na análise de Kernel (KDE do inglês *kernel density estimation*), que estima em uma escala de alta ou baixa densidade, a proximidade entre coordenadas geolocalizadas. Não possuímos informações sobre estes pacientes que possam mostrar alguma relação epidemiológica.



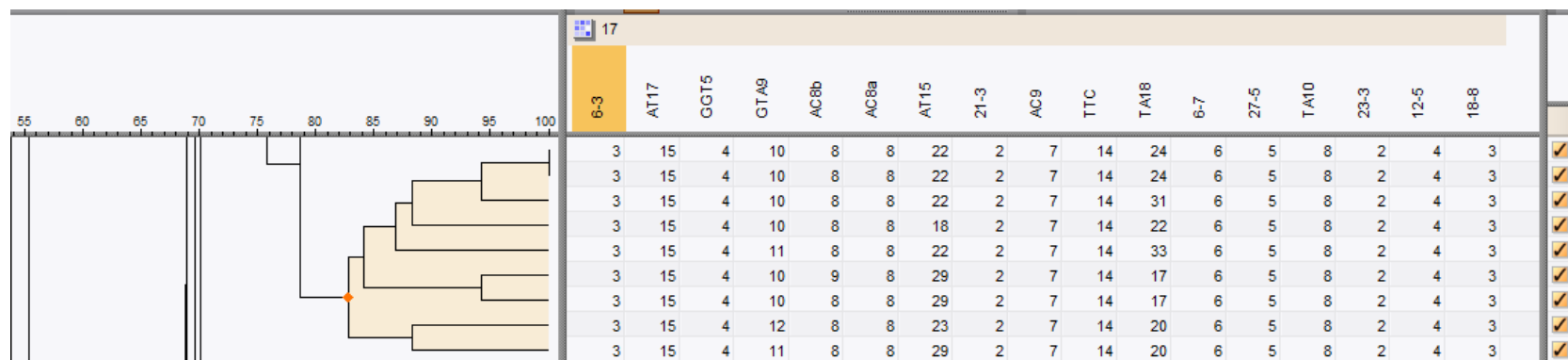
**Figura 4.5.** Pacientes em *cluster* com 16/17 VNTRs localizados espacialmente nos municípios com maior proporção de casos no estado de Pernambuco aplicando a estimativa de densidade de Kernel (KDE: *kernel density estimation*). Pontos amarelos correspondentes aos indivíduos em *cluster* na análise com 17 VNTRs, dentro de uma escala de alta densidade de proximidade segundo o KDE (demarcação laranja).

Devido a particularidade de achar agrupamentos perfeitos a base de 16/17 VNTRs, avaliamos isolados com uma pequena variação em relação a este único agrupamento. Para este fim, consideramos os casos em que os pacientes albergavam bactérias com genótipos com até 3 loci de diferença (GTA9, AC8b, AT15 e AT18). Nesta abordagem, o *cluster* aumentou de dois para nove pacientes e todos estes MB. O ramo classificado como C01.1 comporta um genótipo que apresentou variação apenas no VNTR TA18, do genótipo do *cluster* original C01, a bactéria que apresentou este genótipo é oriunda de uma paciente de 45 anos com fundamental 1 completo, moradora de Recife, classificada como possível caso de R/R (o primeiro diagnóstico/tratamento ocorreu 26 anos anterior a data desta coleta). O ramo C01.2 compreende genótipos com variações nos VNTRs AT15 e AT18 de bactérias provenientes de dois pacientes, um paciente branco, do sexo masculino classificado como caso novo, com 45 anos de idade, com ensino médio completo e o outro paciente do sexo feminino de 18 anos de idade, com ensino fundamental 2 incompleto, os dois casos classificados CN e moradores de Recife. O ramo C01.3 compreende um genótipo com variações no GTA9 e AT18, proveniente de um paciente do sexo masculino, pardo, com 22 anos de idade e com ensino fundamental 2 incompleto, morador de Recife, classificado como CN. O ramo C01.4 compreende um genótipo com variações nos VNTRs AC8b, AT15 e AT18, derivado de um paciente do sexo masculino, pardo, 66 anos, com ensino fundamental 2 incompleto, morador de Recife classificado CN. O último ramo C01.5 compreende genótipo oriundo de dois pacientes com variações nos VNTRs GTA9, AT15 e AT18, ambos masculinos, casos novos de 41 e 24 anos de idade, preto e pardo, ambos com ensino fundamental 2 incompleto um morador de Recife e o outro morador de Sirinhaém, como apresentado no Quadro 4.1 e figura 4.6. A distância entre Recife e Sirinhaém é de 64,82 Km.

**Quadro 4.1. Características e genótipos dos isolados em *cluster* e isolados com variações de um, dois ou três *loci* em análises com 16/17 VNTR.**

Cluster	Amostra	IB	Presença de lesões na pele	Classificação terapêutica do paciente	Idade (anos)	Sexo	Raça/cor	Escolaridade	Município de residência	Genótipo*
C01	353	1,75	SIM	CN	55	Masculino	PT	EF1I	Paulista-PE	3 15 4 10 8 8 22 2 7 14 24 6 5 8 2 4 3
	417	1,25	NI	CN	60	Masculino	BR	ESC	Recife-PE	
C01.1	296	4,25	SIM	R/R	45	Feminino	NI	EF1C	Recife- PE	3 15 4 10 8 8 22 2 7 14 31 6 5 8 2 4 3
C01.2.1	22	4	NI	CN	45	Masculino	BR	EMC	Recife-PE	3 15 4 10 8 8 18 2 7 14 22 6 5 8 2 4 3
C01.2.2	357	3,75	SIM	CN	18	Feminino	NI	EF2I	Recife- PE	3 15 4 10 8 8 29 2 7 14 17 6 5 8 2 4 3
C01.3	368	2,5	SIM	CN	22	Masculino	PD	EF2I	Recife- PE	3 15 4 11 8 8 22 2 7 14 33 6 5 8 2 4 3
C01.4	45	4	SIM	CN	66	Masculino	PD	EF2I	Recife- PE	3 15 4 10 9 8 29 2 7 14 17 6 5 8 2 4 3
C01.5.1	284	2,5	NI	CN	41	Masculino	PT	EF2I	Recife- PE	3 15 4 12 8 8 23 2 7 14 20 6 5 8 2 4 3
C01.5.2	320	4,5	SIM	CN	24	Masculino	PD	EF2I	Sirinhaém- PE	3 15 4 11 8 8 29 2 7 14 20 6 5 8 2 4 3

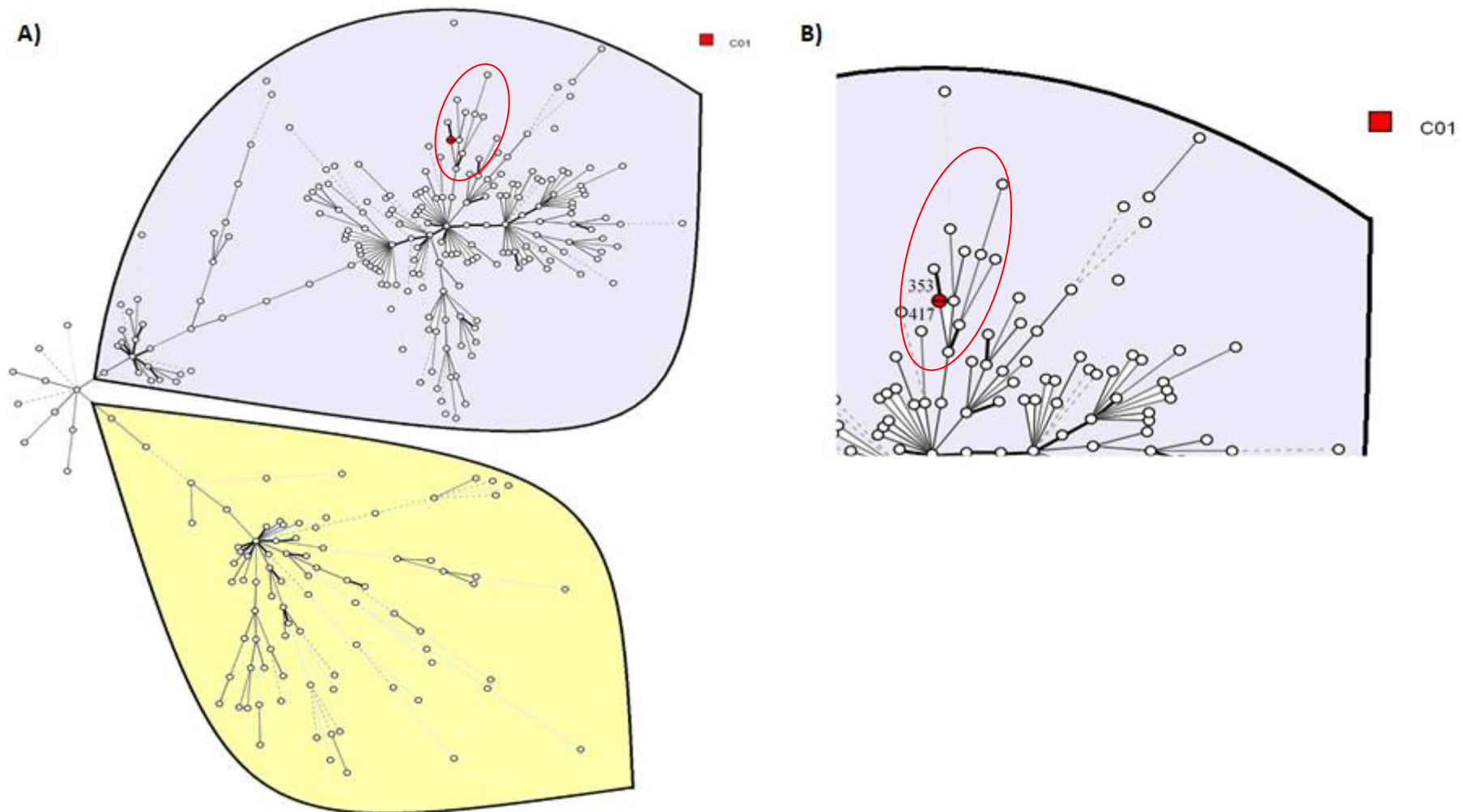
\*Ordem dos *loci* que compõem o genótipo: 6-3; AT17; GGT5; GTA9; AC8b; AC8a; AT15; 21-3; AC9; TTC; TA18; 6-7; 27-5; TA10; 23-3; 12-5 e 18-8.



**Figura 4.6. Imagem a partir do dendrograma com 16/17 VNTRs, isolados com variações em um, dois ou três VNTR para o *cluster* único. Fragmento da árvore UPGMA gerada no programa Bionumerics, mostrando apenas o ramo com os possíveis *clusters* com variações em até 3 *loci*.**

Na figura 4.7 apresenta-se uma árvore de abrangência mínima (MST do inglês *Minimum Spanning Tree*), frequentemente usada em pesquisas de epidemiologia molecular para estimar as relações entre cepas ou isolados individuais, com dois ramos principais sinalizados em roxo (I) e amarelo (II) e no extremo esquerdo apresentam-se 10 pacientes com genótipos variados, divergentes dos genótipos dos pacientes que compõem os ramos.

O ramo I (roxo) apresenta a seguinte característica nos VNTRs: 4 cópias para 12-5, para 5 cópias para [27-5], principalmente 3 cópias do 18-8 e < 10 cópias no TA10, já no ramo II (amarelo) concentram-se uma quantidade menor de pacientes do que no ramo I, este ramo apresenta a seguinte característica nos VNTRs:  $\geq 5$  para 12-55,  $\leq 4$  cópias para o 27-5, 3, 8 ou 9 cópias do 18-8 e  $\geq 10$  cópias no TA10, 10 cópias o mais (Quadro 4.2). No ramo I encontra-se o *cluster* composto com dois isolados sem variações em seus genótipos e no círculo vermelho indicam-se os outros isolados em *cluster* com variações de um até três *loci* (Figura 4.7 A e B).



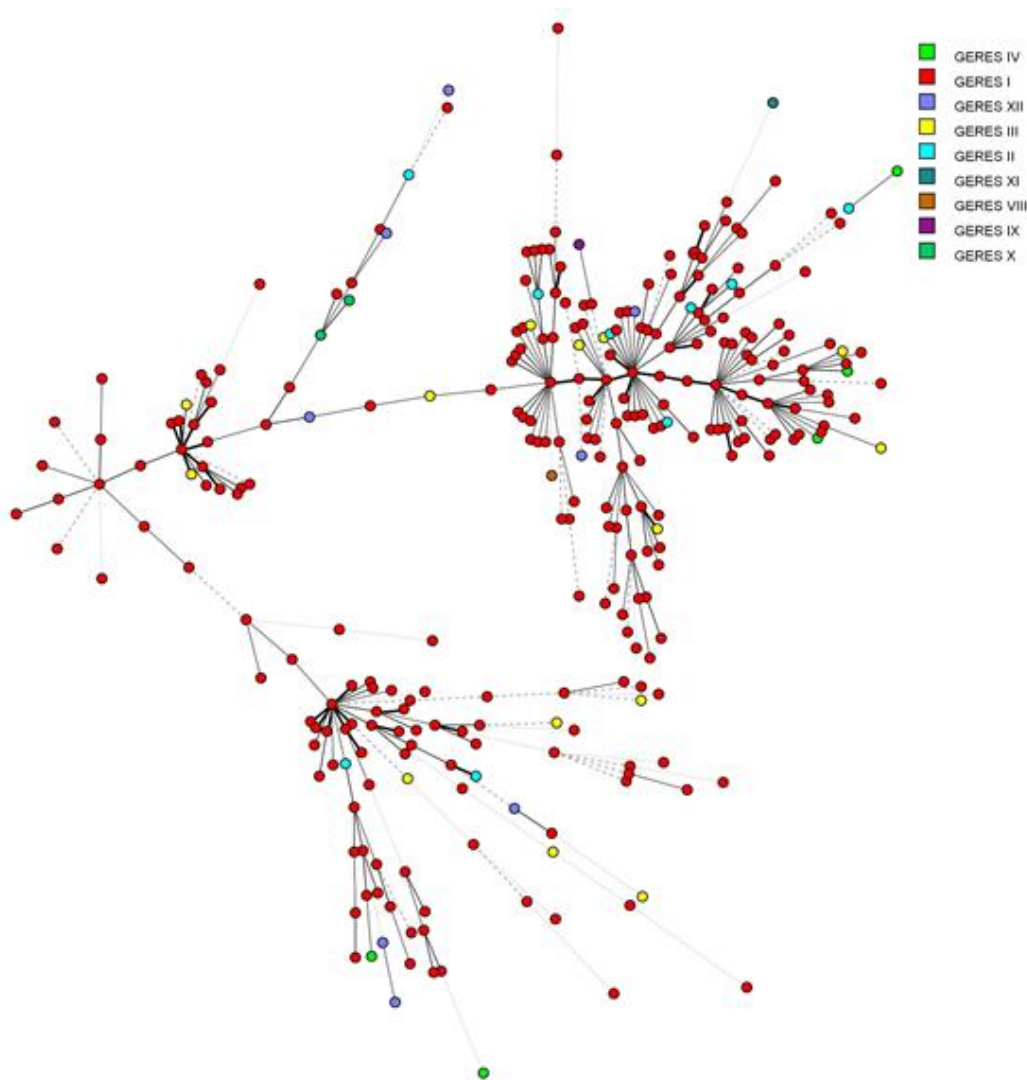
**Figura 4.7. Clusters obtidos pela MLVA com 16/17 VNTRs.** (A) Árvore de abrangência mínima (MST). Um *cluster* verdadeiro composto por duas amostras e cinco *clusters* (compostos por um total de sete amostras) com diferenças em um ou dois *loci* todos marcados na figura com o círculo vermelho; (B) Zoom para mostrar os isolados com variações de um, dois ou três *loci* em análises com 17 VNTR.

**Quadro 4.2. Número de cópias observado nos quatro *loci* principais que separam os dois ramos.**

	VNTR			
	12-5	27-7	18-8	TA10
<b>Ramo I</b>	4	5	3*	< 10
<b>Ramo II</b>	≥ 5	≤ 4	3-8-9	≥ 10

\*principalmente 3 copias, eventualmente apresentam-se 4 copias.

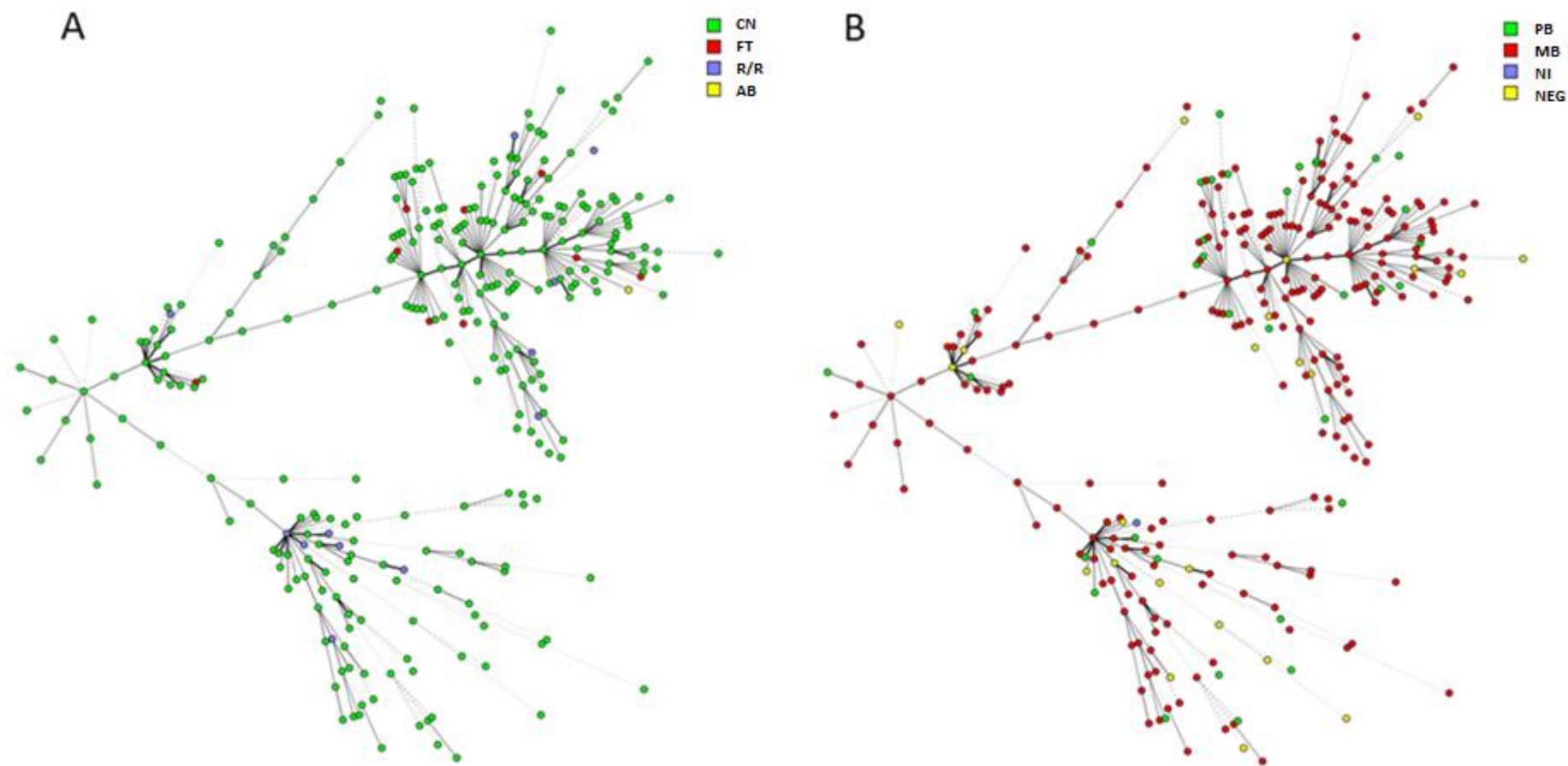
Na Figura 4.8 apresenta-se a MST de localização dos pacientes considerando os GERES do Estado de Pernambuco apresentados no quadro 4.3. Como mencionado, a GERES I, que abriga a Região Metropolitana de Recife, apresenta a maior quantidade de casos. Pode-se observar na figura 4.8 dois ramos principais, entretanto, não foi observada nenhuma associação de ramos ou linhagens específicas com as diferentes GERES.



**Figura 4.8. Árvore MST da localização pelos GERES dos pacientes com 16/17 VNTRs. Cada um dos GERES são apresentados com cores diferentes nesta árvore.**

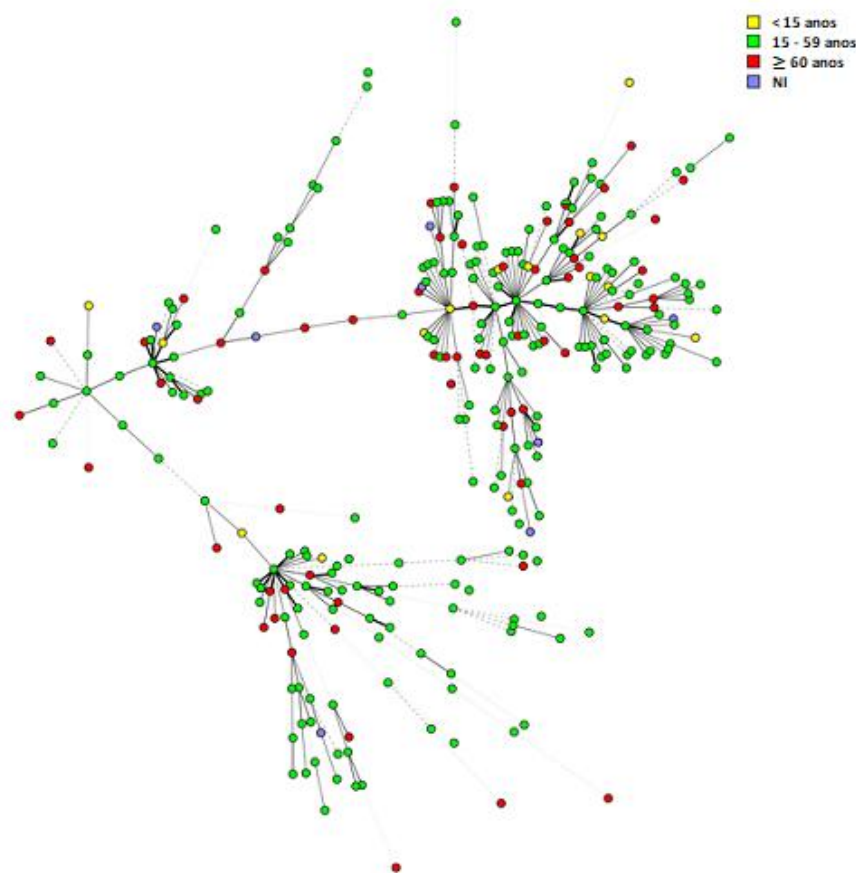


As Figura 4.9 A e B, apresentam MST com a classificação terapêutica e o IB respectivamente. Para a figura (A), no ramo I observa-se a concentração dos casos de FT e AB (100% dos casos) e os casos de R/R distribuíram-se equitativamente entre os ramos I e II (figura 4.9 A). Na figura (B), não foi observado diferenças entre ramos com respeito à classificação pelo IB (figura 4.9 B).



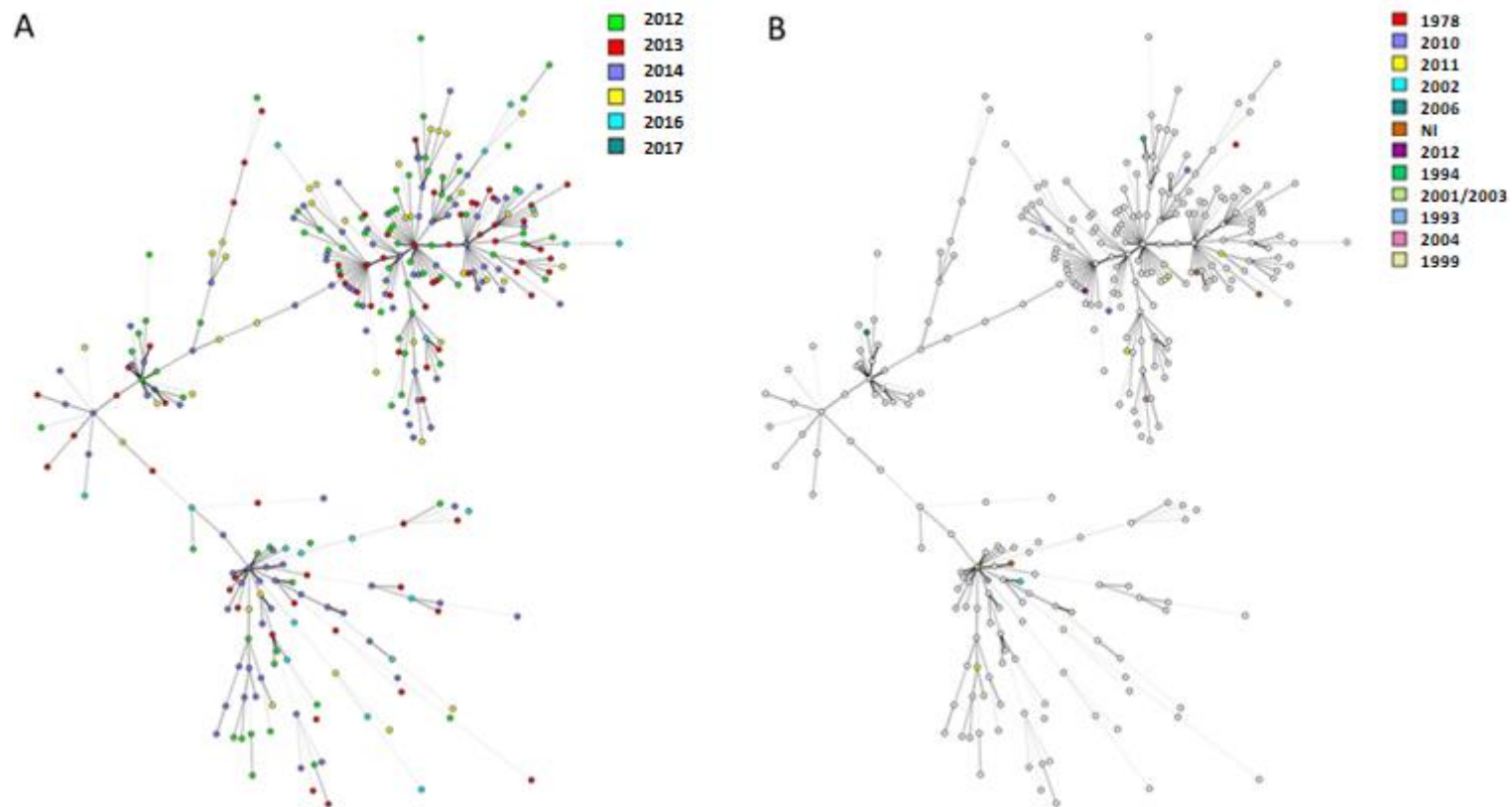
**Figura 4.9. Árvores MST da classificação terapêutica e IB dos pacientes com 16/17 VNTRs.** (A) Classificação terapêutica dos pacientes com 17 VNTRs, CN: casos novos, FT: falha terapêutica, R/R: recidiva/reinfecção, AB: abandono terapêutico; (B) Classificação pelo IB dos pacientes com 16/17 VNTRs, PB: paucibacilares, MB: multibacilares, NI: IB não informado, NEG: negativos.

Na Figura 4.10 apresenta-se o MST respeito a idade, observando-se a maior concentração de menores de 15 anos (86,6% n=13/15) e de 60 anos ou mais (65,6% n=40/61) no ramo I. Para os pacientes com idade entre 15 à 59 anos não se observam diferenças de distribuição entre os ramos.



**Figura 4.10. Árvore MST da Classificação pela idade dos pacientes com 16/17 VNTRs.** Faixa de idades em cores diferentes; menores de 15 anos em amarelo, de 15 a 59 anos em verde e 60 ou mais anos em vermelho, NI: pacientes que não informaram idade em roxo.

As MST apresentadas na figura 4.11 mostram respectivamente; (A) o ano do diagnóstico do estudo e (B) o relato de tratamento anterior; como pode ser observado, nenhuma diferença de distribuição entre os ramos foi detectada para cada caso, mesmo visualizando a maior ocorrência de casos correspondentes ao ano 2014.



**Figura 4.11. Árvore MST da Classificação pelo ano do diagnóstico no estudo e com relato de tratamento anterior dos pacientes com 16/17 VNTRs.** (A) MST por ano do diagnóstico do estudo, (B) MST por relato de tratamento anterior para hanseníase. Anos em diferentes cores para cada caso.

### 4.3.3. Análise considerando 13 VNTRs

#### 4.3.3.1. Características clínico-epidemiológicas considerando 13 VNTRs

Para esta análise foram incluídas 343 amostras compostas pelos 295 pacientes já avaliados no estudo com 16/17 VNTRs, complementadas por 48 amostras de pacientes que apresentaram perfis com os 13 VNTRs. Destes, 258 (76,1%) eram pacientes do sexo masculino, 244 (73,5%) com idades entre 15 até 59 anos, 169 (60,8%) autodeclararam-se pardos, 89 (27,0%) possuíam ensino fundamental 2 incompleto, 316 (92,7%) foram classificados como casos novos e 12 (3,5%) como possíveis casos de R/R e FT respectivamente, 263 (100% para essa característica) apresentaram lesões, 92 (28,7%) informaram ter um tempo de residência de 31 ou mais anos ao momento da entrevista, como mostrado na tabela 4.14. As únicas associações estatisticamente significativas encontradas foram para as características de sexo e IB com  $p=0,001$ , sendo que os casos MB de sexo masculino mostraram uma frequência de 79,3% ( $n=211/266$ ) e no caso dos pacientes negativos e femininos apresentaram uma frequência de 51,9% ( $n=14/27$ ).

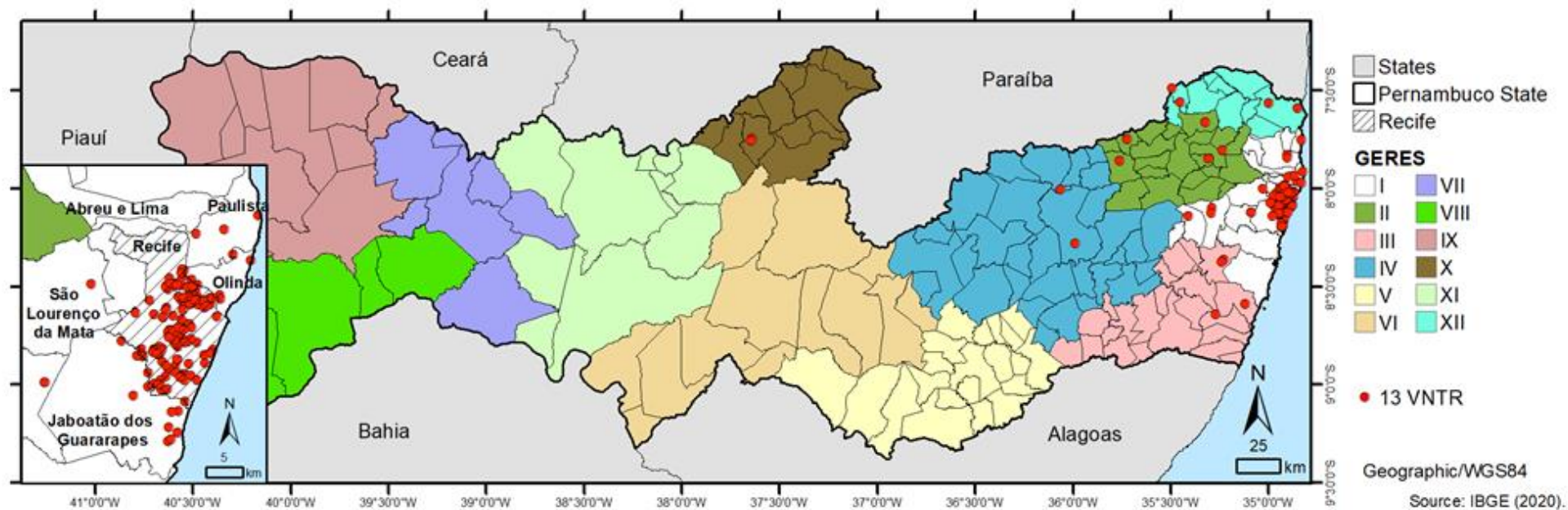
Na análise com 13 VNTRs, na árvore baseada no UPGMA (Anexo 2) foram observados 195 genótipos diferentes formados por 164 *singletons* e 31 agrupamentos que variaram de dois a 39 isolados ( $N=179$ ), com uma taxa de agrupamento de 43%. Os genótipos observados em cada agrupamento (grupos C01 à C31) estão descritos na Tabela 4.14; nesta tabela também podemos verificar o total de isolados que compõem cada *cluster*, sendo o *cluster* C11 o maior com 39 isolados; representando 21,8% dos isolados em *cluster* e o 11,4% ( $n=39/343$ ) do total de isolados. Em seguida temos C10 com 36 isolados, representando 20,1% dos isolados em *cluster* e o 10,5% do total de isolados. Ainda observamos os *clusters* C01 com 12; representando 6,7% dos isolados em *cluster* e 3,5% do total de isolados avaliados, C09 com nove representando 5,0% dos isolados em *cluster* e 2,6% do total de isolados avaliados, C02 com sete; representando 3,9% dos isolados em *cluster* e 2,0% do total de isolados avaliados, C30 com seis isolados; representando 3,4% dos isolados em *cluster* e 1,7% do total de isolados avaliados e C06, C21 e C29 com cinco isolados cada um; representando 2,8% dos isolados em *cluster* e 1,5% do total de isolados avaliados

A descrição das características clínico-epidemiológicas para cada um destes isolados em *cluster* está apresentada nas Tabelas 4.17 até 4.24, com o objetivo de verificar

se existia associação de algum destes *clusters* com alguma das características clínico-epidemiológicas definidas para a população em estudo.

Os genótipos mais frequentes são os observados nos grupos C11 e C10 e vale a pena ressaltar que estes dois genótipos apresentam diferença apenas no *locus* GTA9, apresentando respectivamente nove e 10 cópias. Estes dois *clusters* juntos totalizam 75 isolados, o que representa 41,9% dos isolados em *cluster* e 21,9% dos isolados analisados. Este dois *clusters* concentraram amostras coletadas no ano de 2013 e 2014 (Figura 4.12, tabela 4.14 e 4.15), verificando-se como mostrado na Figura 4.12, a maior concentração destes no Recife, com presença de algumas isolados nos outros municípios de Pernambuco.

Foram comparados os genótipos observados neste estudo com o banco de dados do LABMAM que contém mais de 900 genótipos de seis estados brasileiros (Ceará, Mato Grosso, Pará, Rio de Janeiro, Rondônia e São Paulo) compilados de trabalhos anteriores. Nesta biblioteca foi possível verificar que 21 dos 31 dos genótipos em *clusters* não foram observados em estudos anteriores e que 10 genótipos (C01, C02, C03, C04, C05, C09, C10, C11, C13 e C27) foram observados em 5 dos 6 estados (exceto São Paulo). Estes dez genótipos já foram descritos no Ceará, sendo que o genótipo do C2 também foi observado em Rondônia, o genótipo do C3 no Mato Grosso, o C5 no Pará e o C11 no Rio de Janeiro (tabela 4.15).



**Figura 4.12. Pacientes com 13 VNTR localizados espacialmente no estado de Pernambuco pelas gerencias regionais de saúde (GERES).** Os pontos de cor vermelha mostram a localização dos pacientes da análise com 13 VNTRs.

**Tabela 4.14. Distribuição dos pacientes com resultados para 13 VNTR segundo a classificação operacional da hanseníase e as variáveis epidemiológicas.**

		Pacientes paucibacilares		Pacientes multibacilares		Pacientes negativos		Pacientes totais		p-valor*
		N	%	N	%	N	%	N	%	
Sexo	Feminino	12	26,1	55	20,7	14	51,9	81	23,9	0,001
	Masculino	34	73,9	211	79,3	13	48,1	258	76,1	
	Idade média	45,3 anos		42 anos		50,9 anos		46,1 anos		-
Classificação etária	< 15 anos	1	2,2	13	5,0	2	7,4	16	4,8	0,287
	15 - 59 Anos	35	76,1	194	74,9	15	55,6	244	73,5	
	≥ 60 anos	10	21,7	52	20,1	10	37,0	72	21,7	
Raça/Cor	Branca	13	37,1	69	31,4	9	39,1	91	32,7	0,685
	Parda	21	60,0	134	60,9	14	60,9	169	60,8	
	Preta	1	2,9	15	6,8	0	0,0	16	5,8	
	Amarela	0	0,0	2	0,9	0	0,0	2	0,7	
Escolaridade	Não escolar	0	0,0	1	0,4	0	0,0	1	0,3	0,824
	Analfabeto	3	6,5	35	13,5	5	20,0	43	13,0	
	EFI - Completo	5	10,9	33	12,7	4	16,0	42	12,7	
	EFI - Incompleto	8	17,4	39	15,1	6	24,0	53	16,1	
	EFII - Completo	1	2,2	9	3,5	0	0,0	10	3,0	
	EFII - Incompleto	11	23,9	72	27,8	6	24,0	89	27,0	
	EM - Completo	15	32,6	59	22,8	4	16,0	78	23,6	
	EM - Incompleto	0	0,0	7	2,7	0	0,0	7	2,1	
	ES - Completo	1	2,2	0	0,0	0	0,0	1	0,3	
	ES - Incompleto	2	4,3	4	1,5	0	0,0	6	1,8	
Classificação terapêutica	CN	42	91,3	247	92,5	27	96,4	316	92,7	0,948
	R/R	2	4,3	10	3,7	0	0,0	12	3,5	
	FT	2	4,3	9	3,4	1	3,6	12	3,5	
	AB	0	0,0	1	0,4	0	0,0	1	0,3	
Ano do diagnóstico	2012	7	15,2	70	26,2	5	17,9	82	24,0	0,346
	2013	8	17,4	59	22,1	6	21,4	73	21,4	
	2014	17	37,0	82	30,7	5	17,9	104	30,5	
	2015	9	19,6	32	12,0	7	25,0	48	14,1	
	2016	4	8,7	21	7,9	5	17,9	30	8,8	
	2017	1	2,2	3	1,1	0	0,0	4	1,2	
	Presença de lesões de lesões	39	14,8	203	77,2	21	7,9	263	100	-
	Pacientes com reação	1	2,5	3	7,5	0	0	4	100	-
Moradia	Recife	36	78,3	196	73,4	22	78,6	254	74,5	0,686
	Outros Municípios	10	21,7	71	26,6	6	21,4	87	25,5	
Tempo de residência no endereço informado na entrevista	0-10 anos	5	11,6	82	32,8	3	10,7	90	28,0	0,014
	11-20 anos	15	34,9	66	26,4	10	35,7	91	28,3	
	21-30 anos	9	20,9	36	14,4	3	10,7	48	15,0	
	31 ou mais anos	14	32,6	66	26,4	12	42,9	92	28,7	
GERES	I	41	95,3	221	87,0	22	91,7	284	88,5	0,922
	II	0	0,0	6	2,4	1	4,2	7	2,2	
	III	1	2,3	13	5,1	0	0,0	14	4,4	
	IV	1	2,3	3	1,2	0	0,0	4	1,2	
	VIII	0	0,0	0	0,0	1	4,2	1	0,3	
	IX	0	0,0	1	0,4	0	0,0	1	0,3	
	X	0	0,0	2	0,8	0	0,0	2	0,6	
	XI	0	0,0	1	0,4	0	0,0	1	0,3	
XII	0	0,0	7	2,8	0	0,0	7	2,2		

Os percentuais foram calculados por característica epidemiológica, para realizar as análises estatísticas da mesma forma. Foram aplicados o teste G ou Qui-Quadrado de independência (pós-teste análise de resíduos) ou teste exato de Fisher, conforme o caso. Em vermelho as associações negativas/inversas (frequência menor que a esperada em acaso) e em amarelo as positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso). Os percentuais foram calculados baseados em cada característica epidemiológica e aos dados para os quais existia informação, excluindo os pacientes que não informaram dados para: o seu Sexo foram 2, sua idade foram 7, sua raça/cor foram 63, sua escolaridade (entrando os grupos nos que não se aplica e surdo e mudo) foram 11, a presença de lesões 78 e tempo de residência no endereço informado na entrevista foram 20. Ensino fundamental 1= EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.



**Tabela 4.15. Frequências de algumas características dos Genótipos para os *Cluster* obtidos com 13 VNTR.**

ID <i>Cluster</i>	6-3	GGT5	GTA9	AC8b	AC8a	21-3	AC9	6-7	27-5	TA10	23-3	12-5	18-8	Total de isolados em <i>cluster</i>		FR de <i>clusters</i> sobre o total dos 709 genotipados	FR de <i>clusters</i> sobre o total de 343 isolados com 13 VNTRs	Número de isolados e FR de pacientes em <i>cluster</i> que moram no Recife		Genótipos achados em outros estados do Brasil
														N	%			N	%	
C01	3	4	9	7	9	2	8	5	5	8	2	4	3	12	6,7	1,7	3,5	3	2,3	CE
C02	3	4	9	7	9	2	8	6	5	8	2	4	3	7	3,9	1,0	2	5	3,8	CE e RO
C03	3	4	9	7	9	2	7	6	5	8	2	4	3	3	1,7	0,4	0,9	1	0,8	CE e MT
C04	3	4	8	7	9	2	8	6	5	8	2	4	3	2	1,1	0,3	0,6	1	0,8	CE
C05	3	4	8	7	10	2	7	6	5	8	2	4	3	3	1,7	0,4	0,9	2	1,5	CE e PA
C06	3	4	10	9	8	2	7	6	5	8	2	4	3	5	2,8	0,7	1,5	5	3,8	-
C07	3	4	10	8	8	2	7	6	4	8	2	4	3	2	1,1	0,3	0,6	2	1,5	-
C08	3	4	8	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	2	1,1	0,3	0,6	2	1,5	-
C09	3	4	11	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	9	5	1,3	2,6	6	4,6	CE
C10	3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	36	20,1	5,1	10,5	25	19,2	CE
C11	3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	39	21,8	5,5	11,4	31	23,8	RJ e CE
C12	3	4	10	8	8	2	7	6	5	5	2	4	3	3	1,7	0,4	0,9	2	1,5	-
C13	3	4	10	8	8	2	7	6	5	10	2	4	3	4	2,2	0,6	1,2	2	1,5	CE
C14	3	4	10	8	8	2	7	6	5	7	2	4	3	3	1,7	0,4	0,9	1	0,8	-
C15	3	4	9	8	8	2	7	6	5	5	2	4	3	2	1,1	0,3	0,6	2	1,5	-
C16	3	5	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	2	1,1	0,3	0,6	2	1,5	-
C17	3	4	9	8	9	2	7	6	5	8	2	4	3	2	1,1	0,3	0,6	2	1,5	-
C18	3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	4	2	1,1	0,3	0,6	2	1,5	-
C19	3	4	13	8	8	2	7	7	5	8	2	4	3	2	1,1	0,3	0,6	2	1,5	-
C20	3	4	12	8	8	2	7	7	5	8	2	4	3	3	1,7	0,4	0,9	2	1,5	-
C21	3	4	11	8	8	2	7	7	5	9	2	4	3	5	2,8	0,7	1,5	4	3,1	-
C22	3	4	11	8	8	2	7	7	5	5	2	4	3	3	1,7	0,4	0,9	2	1,5	-
C23	3	4	11	8	8	2	7	7	5	8	2	4	3	4	2,2	0,6	1,2	3	2,3	-
C24	3	4	11	8	8	2	8	7	5	8	2	4	3	2	1,1	0,3	0,6	2	1,5	-
C25	3	4	10	8	8	2	8	7	5	9	2	4	3	2	1,1	0,3	0,6	2	1,5	-
C26	3	4	11	7	8	2	8	6	5	8	2	4	8	2	1,1	0,3	0,6	2	1,5	-
C27	3	4	11	7	9	2	8	6	4	10	2	5	8	3	1,7	0,4	0,9	2	1,5	CE
C28	3	4	12	7	10	2	8	6	4	10	2	5	8	2	1,1	0,3	0,6	2	1,5	-
C29	3	4	14	7	10	2	8	6	4	10	2	5	8	5	2,8	0,7	1,5	4	3,1	-
C30	3	4	13	7	10	2	8	6	4	10	2	5	8	6	3,4	0,8	1,7	5	3,8	-
C31	3	4	12	7	10	2	9	6	4	11	2	5	8	2	1,1	0,3	0,6	2	1,5	-
<b>Total</b>														<b>179</b>	<b>100%</b>	<b>25,2%</b>	<b>52,7%</b>	<b>130</b>	<b>100%</b>	<b>-</b>

As diferenças de coloração e intensidade ressaltam a diversidade de números de cópias para cada um dos perfis genéticos achados para os 31 *clusters* obtidos com a análise de 13 VNTRs.

**Tabela 4.16. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram em *cluster* e não *cluster* a partir das análises com 13 VNTR.**

		Cluster		Não Cluster		Total		p-valor
		N=178	%	N=163	%	N	%	
Classificação IB	Paucibacilares	22	12,4	24	14,7	46	13,5	0,1312
	Multibacilares	146	82,0	121	74,2	267	78,3	
	Negativos	10	5,6	18	11,0	28	8,2	0,0884
	Paucibacilares+Negativos	32	18,0	42	25,8	74	21,7	
	Multibacilares	146	82,0	121	74,2	267	78,3	
Sexo	Feminino	38	21,2	45	27,6	83	24,3	0,2056
	Masculino	141	78,8	118	72,4	259	75,7	
	TOTAL	179	100,0	163	100,0	342	100,0	-
Classificação etária	Idade média	44 anos		43 anos		43,5 anos		-
	< 15 anos	10	5,7	7	4,4	17	5,1	0,8583
	15 - 59 Anos	129	73,3	116	73,4	245	73,4	
	≥ 60 anos	37	21,0	35	22,2	72	21,6	
Raça/Cor	Branca	46	31,7	45	33,3	91	32,5	0,9816
	Parda	89	61,4	82	60,7	171	61,1	
	Preta	9	6,2	7	5,2	16	5,7	
	Amarela	1	0,7	1	0,7	2	0,7	
Escolaridade	Não escolar	1	0,6	0	0,0	1	0,3	0,4669
	Analfabeto	23	13,3	20	12,7	43	13,0	
	EFI - Completo	22	12,7	20	12,7	42	12,7	
	EFI - Incompleto	31	17,9	22	13,9	53	16,0	
	EFII - Completo	2	1,2	8	5,1	10	3,0	
	EFII - Incompleto	46	26,6	44	27,8	90	27,2	
	EM - Completo	38	22,0	40	25,3	78	23,6	
	EM - Incompleto	5	2,9	2	1,3	7	2,1	
	ES - Completo	1	0,6	0	0,0	1	0,3	
	ES - Incompleto	4	2,3	2	1,3	6	1,8	
Classificação terapêutica	CN	162	91,0	155	94,5	317	92,7	0,2936
	R/R	7	3,9	5	3,0	12	3,5	
	FT	9	5,1	3	1,8	12	3,5	
	AB	0	0,0	1	0,6	1	0,3	
Ano da coleta/entrevista	2012	44	24,6	38	23,2	82	23,9	0,0011
	2013	47	26,3	26	15,9	73	21,3	
	2014	61	34,1	44	26,8	105	30,6	
	2015	18	10,1	30	18,3	48	14,0	
	2016	7	3,9	23	14,0	30	8,7	
	2017	2	1,1	3	1,8	5	1,5	
Presença de lesões	Sim	137	76,1	127	77,9	264	77,0	0,7023
	Não	43	23,9	36	22,1	79	23,0	
Município de residência	Pacientes com ração	3	75	1	25	4	100	-
	Recife	136	76,4	118	71,5	254	74,1	0,3255
	Outros Municípios	42	23,6	47	28,5	89	25,9	
Tempo residência no momento da entrevista.	0-10 anos	53	31,7	39	25,0	92	28,5	0,578
	11-20 anos	44	26,3	47	30,1	91	28,2	
	21-30 anos	23	13,8	25	16,0	48	14,9	
	31 ou mais anos	47	28,1	45	28,8	92	28,5	
GERES	I	156	91,2	130	86,7	286	89,1	0,5031
	II	5	2,9	2	1,3	7	2,2	
	III	6	3,5	8	5,3	14	4,4	
	IV	1	0,6	3	2,0	4	1,2	
	VIII	0	0,0	1	0,7	1	0,3	
	IX	0	0,0	1	0,7	1	0,3	
	XI	0	0,0	1	0,7	1	0,3	
	XII	3	1,8	4	2,7	7	2,2	

Os percentuais foram calculados por característica epidemiológica, para realizar as análises estatísticas da mesma forma. Foram aplicados o teste G ou Qui-Quadrado de independência (pós-teste análise de resíduos) ou teste exato de Fisher, conforme o caso. Em vermelho as associações negativas/inversas (frequência menor que a esperada em acaso) e em amarelo as positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso). Ensino fundamental 1= EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.

Na Tabela 4.16 foram calculadas as porcentagens das características epidemiológicas dos isolados em *cluster* e não *cluster* obtidos mediante análises com 13 VNTRs. Os maiores valores obtidos corresponderam, em cada caso; pacientes em *cluster* e não *clusters*, respectivamente: à 146 isolados em *cluster* e 121 isolados que não encontraram-se em *cluster* (82,0% e 74,2%) foram pacientes MB, 141 e 118 (78,8% e 72,4%) do sexo masculino, 129 e 116 (73,3% e 73,4%) apresentaram idades de 15 até 59 anos, 89 e 82 (61,4% e 60,7%) autodeclararam-se pardos, 46 e 44 (26,6% e 27,8%) possuíam ensino fundamental 2 incompleto, 162 e 155 (91,0% e 94,5%) foram classificados como CN e 9 (5,1%) como possíveis casos de FT em os isolados em *cluster* e 5 (3,0%) como possíveis casos de recidiva/reinfecção nos isolados que não encontraram-se em *cluster*, 61 e 44 (34,1% e 26,8%) amostras foram coletadas dos pacientes no ano 2014, 137 e 127 (76,1% e 77,9%) apresentaram lesões, 3 e 1 (75% e 25%) foram pacientes com reação, 136 e 118 (76,4% e 71,5%) foram pacientes com residência no município de Recife, 53 e 39 (31,7% e 25,0%) tinham um tempo de zero a 10 anos de residência no endereço informado na entrevista, e 156 e 130 (91,2% e 86,7%) localizavam-se no GERES I. Só se observou significância estatística para os anos 2013 nos pacientes em *cluster* e nos anos 2015 e 2016 para os pacientes não *clusters*, mostrados na tabela 4.16 em amarelo, registrando-se um  $p=0,0011$  para esta única categoria de característica epidemiológica.

**As tabelas abaixo apresentam as comparações entre cada um dos quatro maiores *cluster* (C01, C09, C10 e C11) confrontados com os isolados que não estão em *cluster* e com isolados restantes que estejam ou não em *cluster*:**

### ***Cluster C01***

Dos cálculos apresentados na Tabela 4.17 entre os 12 isolados do *cluster* C01 e os isolados que não estão em *cluster*, a maior quantidade de isolados obtidos corresponderam em cada caso, respectivamente: à 9 isolados do *cluster* C01 e 121 isolados que não estão em *cluster* (75,0% e 74,2%) de pacientes MB, 10 e 118 (83,3% e 72,4%) do sexo masculino, 9 e 116 (75,0% e 73,4%) com idades de 15 até 59 anos, 6 e 82 (66,7% e 60,7%) que autodeclararam-se pardos, 2 e 44 (16,7% e 27,8%) com ensino fundamental 2 incompleto e 4 e 40 (33,3% e 25,3%) com ensino médio completo, 11 e 286 (91,7% e 93,5%) classificados como CN, 3 e 44 (25,0% e 26,8%) amostras coletadas dos pacientes no ano 2014 e 4 e 26 (33,3% e 15,9%) amostras do ano 2013, 7 e 128 (58,3% e 78,0%) que apresentaram lesões, 0 e 1 (0% e 100%) pacientes com reação, 9 e 118 (75,0% e 72,0%) pacientes com residência no município de

Recife, 4 e 45 (36,4% e 28,8%) que tinham um tempo de 31 ou mais anos de residência no endereço informado na entrevista, e 10 e 130 (90,9% e 86,7%) que localizavam-se no GERES I. Não se registrou significância estatística em nenhuma das características epidemiológicas comparadas para os pacientes que compõem o *cluster* C01 vs. os pacientes não *cluster*.

Na Tabela 4.18 comparou-se os valores das porcentagens das características epidemiológicas dos isolados que compõem o *cluster* C01 com os isolados restantes que estão em outros *clusters* ou não em *cluster*. A maior quantidade de isolados obtidos corresponderam em cada caso; *cluster* C01 e outros isolados em *clusters* ou não, respectivamente: à 9 isolados do *cluster* C01 e 258 dos isolados restantes (75,0% e 78,4%) pertencentes à pacientes MB, 10 e 248 (83,3% e 75,6%) do sexo masculino, 9 e 235 (75,0% e 73,2%) com idades de 15 até 59 anos, 6 e 164 (66,7% e 60,7%) que autodeclararam-se pardos, 4 e 74 (33,3% e 23,2%) com ensino médio completo, 11 e 306 (91,7% e 92,7%) foram classificados como CN e 1 (8,3%) como possíveis casos de falha terapêutica para os isolados que compõem o *cluster* 01 e 12 (3,6%) como possíveis casos de R/R para os restantes isolados em *cluster* ou não, 3 e 101 (25,0% e 30,6%) amostras foram coletadas dos pacientes no ano 2014, 7 e 256 (58,3% e 77,6%) apresentaram lesões, 0 e 4 (0,0% e 100%) foram pacientes com reação, 9 e 245 (75,0% e 74,2%) foram pacientes com residência no município de Recife, 3 (27,3%) tinham um tempo de zero a 10 anos de residência no endereço informado na entrevista para os isolados do *cluster* 01 e 89 (28,6%) tinham um tempo de 11 à 20 anos de residência no endereço informado na entrevista para o restante dos isolados que estão ou não em *cluster*, e 10 e 275 (90,9% e 88,4%) localizavam-se no GERES I. Não se registrou significância estatística em nenhuma das características epidemiológicas comparadas para os pacientes que compõem o *cluster* C01 vs. os pacientes restantes *cluster* e não *cluster*.

**Tabela 4.17. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram no *cluster* 01 e os pacientes que não estão em *cluster*, a partir das análises com 13 VNTR.**

		Cluster 01		Não Cluster		Total		p-valor
		N	%	N	%	N	%	
Classificação IB	Paucibacilares	1	8,3	24	14,7	25	14,3	0,7478
	Multibacilares	9	75,0	121	74,2	130	74,3	
	Negativos	2	16,7	18	11,0	20	11,4	>0,9999
	Paucibacilares+Negativos	3	25,0	42	25,8	45	25,7	
	Multibacilares	9	75,0	121	74,2	130	74,3	
Sexo	Feminino	2	16,7	45	27,6	47	26,9	0,5183
	Masculino	10	83,3	118	72,4	128	73,1	
	TOTAL	12	100,0	163	100,0	175	100,0	-
Idade média		32,1 anos		43 anos		37,6 anos		-
Classificação etária	< 15 anos	2	22,2	45	33,3	47	32,6	0,8202
	15 – 59 Anos	6	66,7	82	60,7	88	61,1	
	≥ 60 anos	1	11,1	7	5,2	8	5,6	
Raça/Cor	Branca	2	22,2	45	33,3	47	32,6	0,9253
	Parda	6	66,7	82	60,7	88	61,1	
	Preta	1	11,1	7	5,2	8	5,6	
	Amarela	0	0,0	1	0,7	1	0,7	
Escolaridade	Analfabeto	2	16,7	20	12,7	22	12,9	0,86
	EFI - Completo	1	8,3	20	12,7	21	12,4	
	EFI - Incompleto	2	16,7	22	13,9	24	14,1	
	EFII - Completo	0	0,0	8	5,1	8	4,7	
	EFII - Incompleto	2	16,7	44	27,8	46	27,1	
	EM - Completo	4	33,3	40	25,3	44	25,9	
	EM - Incompleto	0	0,0	2	1,3	2	1,2	
ES - Incompleto	1	8,3	2	1,3	3	1,8		
Classificação terapêutica	CN	11	91,7	286	93,5	297	93,4	0,8836
	R/R	0	0,0	11	3,6	11	3,5	
	FT	1	8,3	8	2,6	9	2,8	
	AB	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
Ano da coleta/entrevista	2012	3	25,0	38	23,2	41	23,3	0,3526
	2013	4	33,3	26	15,9	30	17,0	
	2014	3	25,0	44	26,8	47	26,7	
	2015	1	8,3	30	18,3	31	17,6	
	2016	0	0,0	23	14,0	23	13,1	
	2017	1	8,3	3	1,8	4	2,3	
Presença de lesões	Sim	7	58,3	128	78,0	135	76,7	0,1535
	Não	5	41,7	36	22,0	41	23,3	
Pacientes com ração		0	0,0	1	100,0	1	100,0	-
Município de residência	Recife	9	75,0	118	72,0	127	72,2	>0,9999
	Outros Municípios	3	25,0	46	28,0	49	27,8	
Tempo de residência no endereço informado na entrevista	0-10 anos	3	27,3	39	25,0	42	25,1	0,8622
	11-20 anos	2	18,2	47	30,1	49	29,3	
	21-30 anos	2	18,2	25	16,0	27	16,2	
	31 ou mais anos	4	36,4	45	28,8	49	29,3	
GERES	I	10	90,9	130	86,7	140	87,0	0,9976
	II	0	0,0	2	1,3	2	1,2	
	III	1	9,1	8	5,3	9	5,6	
	IV	0	0,0	3	2,0	3	1,9	
	VIII	0	0,0	1	0,7	1	0,6	
	IX	0	0,0	1	0,7	1	0,6	
	XI	0	0,0	1	0,7	1	0,6	
	XII	0	0,0	4	2,7	4	2,5	

Os percentuais foram calculados por característica epidemiológica, para realizar as análises estatísticas da mesma forma, sendo o total o 100% como valor de referência. Foram aplicados o teste G ou Qui-Quadrado de independência (pós-teste análise de resíduos) ou teste exato de Fisher, conforme o caso. Ensino fundamental 1=EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.

**Tabela 4.18. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram no *cluster* 01 e os pacientes restantes que estão ou não em *cluster*, a partir das análises com 13 VNTR.**

		Cluster 01		Clusters e Não Clusters		Total		p-valor
		N	%	N	%	N	%	
Classificação IB	Paucibacilares	1	8,3	45	13,7	46	13,5	0,6057
	Multibacilares	9	75,0	258	78,4	267	78,3	
	Negativos	2	16,7	26	7,9	28	8,2	
		Paucibacilares+Negativos	3	25,0	71	21,6	74	21,7
	Multibacilares	9	75,0	258	78,4	267	78,3	
Sexo	Feminino	2	16,7	80	24,4	82	24,1	0,7378
	Masculino	10	83,3	248	75,6	258	75,9	
		TOTAL	12	100,0	328	100,0	340	100,0
	Idade média	32,1 anos		43,5 anos		37,8 anos		-
Classificação etária	< 15 anos	1	8,3	16	5,0	17	5,1	0,8529
	15 – 59 Anos	9	75,0	235	73,2	244	73,3	
	≥ 60 anos	2	16,7	70	21,8	72	21,6	
Raça/Cor	Branca	2	22,2	89	33,0	91	32,6	0,9298
	Parda	6	66,7	164	60,7	170	60,9	
	Preta	1	11,1	15	5,6	16	5,7	
	Amarela	0	0,0	2	0,7	2	0,7	
Escolaridade	Não escolar	0	0,0	1	0,3	1	0,3	0,993
	Analfabeto	2	16,7	41	12,9	43	13,0	
	EFI - Completo	1	8,3	41	12,9	42	12,7	
	EFI - Incompleto	2	16,7	51	16,0	53	16,0	
	EFII - Completo	0	0,0	10	3,1	10	3,0	
	EFII - Incompleto	2	16,7	88	27,6	90	27,2	
	EM - Completo	4	33,3	74	23,2	78	23,6	
	EM - Incompleto	0	0,0	7	2,2	7	2,1	
	ES - Completo	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
	ES - Incompleto	1	8,3	5	1,6	6	1,8	
Classificação terapêutica	CN	11	91,7	306	92,7	317	92,7	0,9106
	R/R	0	0,0	12	3,6	12	3,5	
	FT	1	8,3	11	3,3	12	3,5	
	AB	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
Ano da coleta/entrevista	2012	3	25,0	79	23,9	82	24,0	0,5248
	2013	4	33,3	69	20,9	73	21,3	
	2014	3	25,0	101	30,6	104	30,4	
	2015	1	8,3	47	14,2	48	14,0	
	2016	0	0,0	30	9,1	30	8,8	
	2017	1	8,3	4	1,2	5	1,5	
Presença de lesões	Sim	7	58,3	256	77,6	263	76,9	0,1573
	Não	5	41,7	74	22,4	79	23,1	
	Pacientes com ração	0	0,0	4	100,0	4	100,0	-
Município de residência	Recife	9	75	245	74,2	254	74,3	>0,9999
	Outros Municípios	3	25	85	25,8	88	25,7	
Tempo de residência no endereço informado na entrevista	0-10 anos	3	27,3	88	28,3	91	28,3	0,8703
	11-20 anos	2	18,2	89	28,6	91	28,3	
	21-30 anos	2	18,2	46	14,8	48	14,9	
	31 ou mais anos	4	36,4	88	28,3	92	28,6	
GERES	I	10	90,9	275	88,4	285	88,5	0,9998
	II	0	0,0	7	2,3	7	2,2	
	III	1	9,1	13	4,2	14	4,3	
	IV	0	0,0	4	1,3	4	1,2	
	VIII	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
	IX	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
	X	0	0,0	2	0,6	2	0,6	
	XI	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
XII	0	0,0	7	2,3	7	2,2		

Os percentuais foram calculados por característica epidemiológica, para realizar as análises estatísticas da mesma forma, sendo o total o 100% como valor de referência. Foram aplicados o teste G ou Qui-Quadrado de independência (pós-teste análise de resíduos) ou teste exato de Fisher, conforme o caso. Ensino fundamental 1= EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.

## Cluster 9

Na Tabela 4.19 comparou-se os valores das porcentagens das características epidemiológicas dos nove isolados que compõem o *cluster* C09 com os isolados que não se encontram em *cluster*. Desta comparação a maior quantidade de isolados obtidos corresponderam em cada caso; *cluster* C09 e não *clusters*, respectivamente: à 8 isolados do *cluster* C09 e 121 isolados que não se encontram em *cluster* (88,9% e 74,2%) de pacientes MB, 8 e 118 (88,9% e 72,4%) do sexo masculino, 6 e 116 (66,7% e 73,4%) apresentaram idades de 15 até 59 anos, 6 e 82 (75,0% e 60,7%) autodeclararam-se pardos, 4 e 44 (44,4% e 27,8%) possuíam ensino fundamental 2 incompleto, 8 e 155 (88,9% e 94,5%) foram classificados como CN e 1 (11,1%) como possíveis casos de FT em os isolados do *cluster* C09 e 5 (3,0%) como possíveis casos de R/R nos isolados que não encontram-se em *cluster*, 3 e 44 (33,3% e 26,8%) amostras foram coletadas dos pacientes no ano 2014, 7 e 128 (77,8% e 78,0%) apresentaram lesões, 0 e 1 (0% e 100%) foram pacientes com reação, 6 e 118 (66,7% e 72,0%) foram pacientes com residência no município de Recife, 5 e 39 (62,5% e 25,0%) tinham tempo de zero a 10 anos de residência no endereço informado na entrevista e 8 e 130 (88,9% e 86,7%) localizavam-se no GERES I. Não se registrou significância estatística em nenhuma das características epidemiológicas comparadas para os pacientes que compõem o *cluster* C09 vs. os pacientes restantes *cluster* e não *cluster*.

Na Tabela 4.20 comparou-se os valores das porcentagens das características epidemiológicas dos isolados que compõem o *cluster* C09 com os isolados restantes que estão em outros *clusters* ou não estão em *cluster*. Desta comparação a maior quantidade de isolados obtidos corresponderam em cada caso; *cluster* C09 e outros isolados em *clusters* ou não, respectivamente: 8 isolados do *cluster* C09 e 259 isolados restantes (88,9% e 78,0%) de pacientes MB, 8 e 250 (88,9% e 75,5%) do sexo masculino, 6 e 238 (66,7% e 73,5%) apresentam idades de 15 até 59 anos, 6 e 164 (75,0% e 60,5%) autodeclararam-se pardos, 4 e 86 (44,4% e 26,7%) possuíam ensino fundamental 2 incompleto, 8 e 309 (88,9% e 92,8%) classificados como CN e 1 (11,1%) classificado como possíveis casos de FT para os isolados que compõem o *cluster* C09, 12 (3,6%) identificado como possível caso de R/R para os restantes isolados em *cluster* ou não, 3 e 101 (33,3% e 30,3%) amostras foram coletadas dos pacientes no ano 2014, 7 e 256 (77,8% e 76,9%) apresentaram lesões, 0 e 4 (0% e 100%) foram pacientes com reação, 6 e 248 (66,7% e 74,5%) pacientes com residência no município de Recife, 5 (62,5%) tinham cerca de 10 anos de residência no endereço informado na entrevista para os isolados do *cluster* C09 e 91 (29,0%) tinham um tempo de 31 ou mais anos de residência

no endereço informado na entrevista para o restante dos isolados que estão ou não em *cluster*, e 8 e 277 (88,9% e 88,5%) localizavam-se no GERES I. Não se registrou significância estatística em nenhuma das características epidemiológicas comparadas para os pacientes que compõem o *cluster* C09 vs. os pacientes restantes.



**Tabela 4.19. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram no *cluster* 09 e os pacientes que não estão em *cluster*, a partir das análises com 13 VNTR.**

		Cluster C09		Não Clusters		Total		p-valor
		N	%	N	%	N	%	
Classificação IB	Paucibacilares	0	0,0	24	14,7	24	14,0	0,2958
	Multibacilares	8	88,9	121	74,2	129	75,0	
	Negativos	1	11,1	18	11,0	19	11,0	0,4533
	Paucibacilares+Negativos	1	11,1	42	25,8	43	25,0	
	Multibacilares	8	88,9	121	74,2	129	75,0	
Sexo	Feminino	1	11,1	45	27,6	46	26,7	0,4475
	Masculino	8	88,9	118	72,4	126	73,3	
	TOTAL	9	100,0	163	100,0	172	100,0	-
Idade média		48,8 anos		43 anos		45,9 anos		-
Classificação etária	< 15 anos	0	0,0	7	4,4	7	4,2	0,6122
	15 - 59 Anos	6	66,7	116	73,4	122	73,1	
	≥ 60 anos	3	33,3	35	22,2	38	22,8	
Raça/Cor	Branca	1	12,5	45	33,3	46	32,2	0,7945
	Parda	6	75,0	82	60,7	88	61,5	
	Preta	1	12,5	7	5,2	8	5,6	
	Amarela	0	0,0	1	0,7	1	0,7	
Escolaridade	Analfabeto	1	11,1	20	12,7	21	12,6	0,76
	EFI - Completo	2	22,2	20	12,7	22	13,2	
	EFI - Incompleto	1	11,1	22	13,9	23	13,8	
	EFII - Completo	1	11,1	8	5,1	9	5,4	
	EFII - Incompleto	4	44,4	44	27,8	48	28,7	
	EM - Completo	0	0,0	40	25,3	40	24,0	
	EM - Incompleto	0	0,0	2	1,3	2	1,2	
	ES - Incompleto	0	0,0	2	1,3	2	1,2	
Classificação terapêutica	CN	8	88,9	155	94,5	163	94,2	0,8154
	R/R	0	0,0	5	3,0	5	2,9	
	FT	1	11,1	3	1,8	4	2,3	
	AB	0	0,0	1	0,6	1	0,6	
Ano da coleta/entrevista	2012	2	22,2	38	23,2	40	23,1	0,5838
	2013	3	33,3	26	15,9	29	16,8	
	2014	3	33,3	44	26,8	47	27,2	
	2015	0	0,0	30	18,3	30	17,3	
	2016	1	11,1	23	14,0	24	13,9	
	2017	0	0,0	3	1,8	3	1,7	
Presença de lesões	Sim	7	77,8	128	78,0	135	78,0	>0,9999
	Não	2	22,2	36	22,0	38	22,0	
Pacientes com ração		0	0,0	1	100,0	1	100,0	-
Município de residência	Recife	6	66,7	118	72,0	124	71,7	0,714
	Outros Municípios	3	33,3	46	28,0	49	28,3	
Tempo de residência no endereço informado na entrevista	0-10 anos	5	62,5	39	25,0	44	26,8	0,1231
	11-20 anos	2	25	47	30,1	49	29,9	
	21-30 anos	0	0	25	16,0	25	15,2	
	31 ou mais anos	1	12,5	45	28,8	46	28,0	
GERES	I	8	88,9	130	86,7	138	86,8	0,9987
	II	0	0,0	2	1,3	2	1,3	
	III	1	11,1	8	5,3	9	5,7	
	IV	0	0,0	3	2,0	3	1,9	
	VIII	0	0,0	1	0,7	1	0,6	
	IX	0	0,0	1	0,7	1	0,6	
	XI	0	0,0	1	0,7	1	0,6	
XII	0	0,0	4	2,7	4	2,5		

Os percentuais foram calculados por característica epidemiológica, para realizar as análises estatísticas da mesma forma, sendo o total o 100% como valor de referência. Foram aplicados o teste G ou Qui-Quadrado de independência (pós-teste análise de resíduos) ou teste exato de Fisher, conforme o caso. Ensino fundamental 1= EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.

**Tabela 4.20. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram no *cluster* 09 e os pacientes restantes que estão ou não em *cluster*, a partir das análises com 13 VNTR.**

	Cluster C09		Cluster e Não Clusters		Total		p-valor	
	N	%	N	%	N	%		
Classificação IB	Paucibacilares	0	0,0	46	13,9	46	13,5	0,4785
	Multibacilares	8	88,9	259	78,0	267	78,3	
	Negativos	1	11,1	27	8,1	28	8,2	0,69
	Paucibacilares+Negativos	1	11,1	73	22,0	74	21,7	
	Multibacilares	8	88,9	259	78,0	267	78,3	
Sexo	Feminino	1	11,1	81	24,5	82	24,1	0,6928
	Masculino	8	88,9	250	75,5	258	75,9	
	TOTAL	9	100	331	100,0	340	100,0	-
Idade média		48,8 anos		42,9 anos		45,9 anos		-
Classificação etária	< 15 anos	0	0,0	17	5,2	17	5,1	0,5729
	15 - 59 Anos	6	66,7	238	73,5	244	73,3	
	≥ 60 anos	3	33,3	69	21,3	72	21,6	
Raça/Cor	Branca	1	12,5	90	33,2	91	32,6	0,7928
	Parda	6	75,0	164	60,5	170	60,9	
	Preta	1	12,5	15	5,5	16	5,7	
	Amarela	0	0,0	2	0,7	2	0,7	
Escolaridade	Não escolar	0	0,0	1	0,3	1	0,3	0,97
	Analfabeto	1	11,1	42	13,0	43	13,0	
	EFI - Completo	2	22,2	40	12,4	42	12,7	
	EFI - Incompleto	1	11,1	52	16,1	53	16,0	
	EFII - Completo	1	11,1	9	2,8	10	3,0	
	EFII - Incompleto	4	44,4	86	26,7	90	27,2	
	EM - Completo	0	0,0	78	24,2	78	23,6	
	EM - Incompleto	0	0,0	7	2,2	7	2,1	
	ES - Completo	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
ES - Incompleto	0	0,0	6	1,9	6	1,8		
Classificação terapêutica	CN	8	88,9	309	92,8	317	92,7	0,9218
	R/R	0	0,0	12	3,6	12	3,5	
	FT	1	11,1	11	3,3	12	3,5	
	AB	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
Ano da coleta/entrevista	2012	2	22,2	80	24,0	82	24,0	0,7719
	2013	3	33,3	70	21,0	73	21,3	
	2014	3	33,3	101	30,3	104	30,4	
	2015	0	0,0	48	14,4	48	14,0	
	2016	1	11,1	29	8,7	30	8,8	
	2017	0	0,0	5	1,5	5	1,5	
Presença de lesões	Sim	7	77,8	256	76,9	263	76,9	>0,9999
	Não	2	22,2	77	23,1	79	23,1	
Pacientes com ração		0	0,0	4	100,0	4	100,0	-
Município de residência	Recife	6	66,7	248	74,5	254	74,3	0,6995
	Outros Municípios	3	33,3	85	25,5	88	25,7	
Tempo de residência no endereço informado na entrevista	0-10 anos	5	62,5	86	27,4	91	28,3	0,1495
	11-20 anos	2	25	89	28,3	91	28,3	
	21-30 anos	0	0	48	15,3	48	14,9	
	31 ou mais anos	1	12,5	91	29,0	92	28,6	
GERES	I	8	88,9	277	88,5	285	88,5	0,9999
	II	0	0,0	7	2,2	7	2,2	
	III	1	11,1	13	4,2	14	4,3	
	IV	0	0,0	4	1,3	4	1,2	
	VIII	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
	IX	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
	X	0	0,0	2	0,6	2	0,6	
	XI	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
	XII	0	0,0	7	2,2	7	2,2	

Os percentuais foram calculados por característica epidemiológica, para realizar as análises estatísticas da mesma forma, sendo o total o 100% como valor de referência. Foram aplicados o teste G ou Qui-Quadrado de independência (pós-teste análise de resíduos) ou teste exato de Fisher, conforme o caso. Ensino fundamental 1=EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.

## Cluster 10

Na Tabela 4.21 comparou-se os valores das porcentagens das características epidemiológicas dos 36 isolados que compõem o *cluster* C10 com os isolados que não estão em *cluster*. Desta comparação a maior quantidade de isolados obtidos corresponderam em cada caso; *cluster* C10 e não *clusters*, respectivamente: 27 isolados do *cluster* C10 e 121 isolados que não estão em *cluster* (75,0% e 74,2%) de pacientes MB, 25 e 118 (69,4% e 72,4%) provenientes de pacientes do sexo masculino, 24 e 116 (68,6% e 73,4%) apresentam idades de 15 até 59 anos, 17 e 82 (60,7% e 60,7%) autodeclararam-se pardos, 11 e 44 (31,4% e 27,8%) possuem ensino fundamental 2 incompleto, 31 e 155 (86,1% e 94,5%) foram classificados como CN e 4 (11,1%) como possíveis casos de FT em os isolados do *cluster* C10, e 5 (3,0%) como possíveis casos de R/R nos isolados que não encontram-se em *cluster*, 14 e 44 (38,9% e 26,8%) amostras foram coletadas dos pacientes no ano 2014, 30 e 128 (83,3% e 78,0%) apresentaram lesões, 0 e 1 (0% e 100%) foram pacientes com reação, 25 e 118 (69,4% e 72,0%) foram pacientes com residência no município de Recife, 15 e 39 (45,5% e 25,0%) tinham um tempo de cerca a 10 anos de residência no endereço informado na entrevista, e 30 e 130 (83,3% e 86,7%) localizavam-se no GERES I. Se observaram significâncias estatísticas na característica epidemiológica de ano da coleta/entrevista registrando um valor de  $p=0,0041$ ; para o ano 2013 (36,1%  $n=13/36$ ) nos pacientes que compõem o *cluster* C10 e para o ano 2015 (18,3%  $n=30/164$ ) nos pacientes não *cluster*, também para a característica epidemiológica de tempo de residência no endereço informado na entrevista se registro um valor de  $p=0,048$ , observando uma associação positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso) para a categoria de zero a dez anos para os pacientes que compõem o *cluster* C10 (45,5%  $n=15/33$ ), mostrado em amarelo na tabela 4.21.

Na Tabela 4.22 comparam-se os valores das porcentagens das características epidemiológicas dos isolados que compõem o *cluster* C10 com os isolados restantes que estão em outros *clusters* ou não estão em *cluster*. Desta comparação a maior quantidade de isolados obtidos corresponderam em cada caso; *cluster* C10 e outros isolados em *clusters* ou não, respectivamente: à 27 isolados do *cluster* C10 e 240 isolados restantes (75,0% e 78,7%) de pacientes MB, 25 e 233 (69,4% e 76,6%) do sexo masculino, 2 e 15 (5,7% e 5,0%) apresentaram idades menores a 15 anos e 24 e 220 (68,6% e 73,8%) apresentam idades de 15 até 59 anos, 17 e 153 (60,7% e 61,0%) autodeclararam-se pardos, 11 e 79 (31,4% e 26,7%) possuem ensino fundamental 2 incompleto, 31 e 286 (86,1% e 93,5%) foram classificados como CN e 4 (11,1%) como possíveis casos de FT para os isolados que compõem o *cluster* C10, e 11 (3,6%) como

possíveis casos de R/R para os isolados restantes, 14 e 90 (38,9% e 29,4%) amostras foram coletadas dos pacientes no ano 2014, 30 e 233 (83,3% e 76,1%) apresentaram lesões, 0 e 4 (0% e 100%) foram pacientes com reação, 25 e 229 (69,4% e 74,8%) foram pacientes com residência no município de Recife, 15 (45,5%) tinham um tempo de zero a 10 anos de residência no endereço informado na entrevista para os isolados do *cluster* C10, e 87 (30,1%) tinham tempo de 31 o mais anos de residência no endereço informado na entrevista para os isolados restantes, e 30 e 268 (83,3% e 87,6%) localizavam-se no GERES I. Foram observaram significâncias estatísticas na característica epidemiológica de ano da coleta/entrevista registrando um valor de  $p=0,0328$ ; para o ano 2013 (36,1%  $n=13/36$ ) nos pacientes que compõem o *cluster* C10 e para o ano 2015 (15,4%  $n=47/306$ ) nos pacientes restantes, também para a característica epidemiológica de tempo de residência no endereço informado na entrevista se registrou um valor de  $p=0,0355$  foi observada uma associação positiva/direta (frequência maior que a esperada ao acaso) para o tempo de residência no endereço informado na entrevista de zero a dez anos para os pacientes que compõem o *cluster* C10 (45,5%  $n=15/33$ ), mostrado em amarelo na tabela 4.22.

**Tabela 4.21. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram no *cluster 10* e os pacientes que não estão em *cluster*, a partir das análises com 13 VNTR.**

		Cluster 10		Não Clusters		Total		p-valor
		N	%	N	%	N	%	
Classificação IB	Paucibacilares	8	22,2	24	14,7	32	16,1	0,2077
	Multibacilares	27	75,0	121	74,2	148	74,4	
	Negativos	1	2,8	18	11,0	19	9,5	>0,9999
	Paucibacilares+Negativos	9	25,0	42	25,8	51	25,6	
Sexo	Multibacilares	27	75,0	121	74,2	148	74,4	0,6885
	Feminino	11	30,6	45	27,6	56	28,1	
	Masculino	25	69,4	118	72,4	143	71,9	
	TOTAL	36	100,0	163	100,0	199	100,0	-
	Idade média	44 anos		43 anos		43,5 anos		-
Classificação etária	< 15 anos	2	5,7	7	4,4	9	4,7	0,838
	15 - 59 Anos	24	68,6	116	73,4	140	72,5	
	≥ 60 anos	9	25,7	35	22,2	44	22,8	
Raça/Cor	Branca	9	32,1	45	33,3	54	33,1	0,9424
	Parda	17	60,7	82	60,7	99	60,7	
	Preta	2	7,1	7	5,2	9	5,5	
	Amarela	0	0,0	1	0,7	1	0,6	
Escolaridade	Analfabeto	5	14,3	20	12,7	25	13,0	0,359
	EFI - Completo	5	14,3	20	12,7	25	13,0	
	EFI - Incompleto	8	22,9	22	13,9	30	15,5	
	EFII - Completo	1	2,9	8	5,1	9	4,7	
	EFII - Incompleto	11	31,4	44	27,8	55	28,5	
	EM - Completo	3	8,6	40	25,3	43	22,3	
	EM - Incompleto	0	0,0	2	1,3	2	1,0	
	ES - Completo	1	2,9	0	0,0	1	0,5	
Classificação terapêutica	ES - Incompleto	1	2,9	2	1,3	3	1,6	0,2395
	CN	31	86,1	155	94,5	186	93	
	R/R	1	2,8	5	3,0	6	3	
	FT	4	11,1	3	1,8	7	3,5	
Ano da coleta/entrevista	AB	0	0,0	1	0,6	1	0,5	0,0041
	2012	7	19,4	38	23,2	45	22,5	
	2013	13	36,1	26	15,9	39	19,5	
	2014	14	38,9	44	26,8	58	29,0	
	2015	1	2,8	30	18,3	31	15,5	
	2016	1	2,8	23	14,0	24	12,0	
Presença de lesões	2017	0	0,0	3	1,8	3	1,5	0,6517
	Sim	30	83,3	128	78,0	158	79	
	Não	6	16,7	36	22,0	42	21	
	Pacientes com ração	0	0,0	1	100,0	1	100,0	-
Município de residência	Recife	25	69,4	118	72,0	143	71,5	0,8388
	Outros Municípios	11	30,6	46	28,0	57	28,5	
Tempo de residência no endereço informado na entrevista	0-10 anos	15	45,5	39	25,0	54	28,6	0,048
	11-20 anos	11	33,3	47	30,1	58	30,7	
	21-30 anos	2	6,1	25	16,0	27	14,3	
	31 ou mais anos	5	15,2	45	28,8	50	26,5	
GERES	I	30	83,3	130	86,7	160	86,0	0,7607
	II	3	8,3	2	1,3	5	2,7	
	III	2	5,6	8	5,3	10	5,4	
	IV	1	2,8	3	2,0	4	2,2	
	VIII	0	0,0	1	0,7	1	0,5	
	IX	0	0,0	1	0,7	1	0,5	
	XI	0	0,0	1	0,7	1	0,5	
	XII	0	0,0	4	2,7	4	2,2	

Os percentuais foram calculados por característica epidemiológica, para realizar as análises estatísticas da mesma forma, sendo o total o 100% como valor de referência. Foram aplicados o teste G ou Qui-Quadrado de independência (pós-teste análise de resíduos) ou teste exato de Fisher, conforme o caso. Em vermelho as associações negativas/inversas (frequência menor que a esperada em acaso) e em amarelo as positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso). Ensino fundamental 1=EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.

**Tabela 4.22. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram no *cluster* 10 e os pacientes restantes que estão ou não em *cluster*, a partir das análises com 13 VNTR.**

		Cluster 10		Clusters e Não Clusters		Total		p-valor
		N	%	N	%	N	%	
Classificação IB	Paucibacilares	8	22,2	38	12,5	46	13,5	0,1512
	Multibacilares	27	75,0	240	78,7	267	78,3	
	Negativos	1	2,8	27	8,9	28	8,2	0,6689
	Paucibacilares+Negativos	9	25	65	21,3	74	21,7	
	Multibacilares	27	75	240	78,7	267	78,3	
Sexo	Feminino	11	30,6	71	23,4	82	24,1	0,4091
	Masculino	25	69,4	233	76,6	258	75,9	
	TOTAL	36	100,0	304	100,0	340	100,0	-
Idade média		44 anos		44 anos		44 anos		-
Classificação etária	< 15 anos	2	5,7	15	5,0	17	5,1	0,7987
	15 - 59 Anos	24	68,6	220	73,8	244	73,3	
	≥ 60 anos	9	25,7	63	21,1	72	21,6	
Raça/Cor	Branca	9	32,1	82	32,7	91	32,6	0,9407
	Parda	17	60,7	153	61,0	170	60,9	
	Preta	2	7,1	14	5,6	16	5,7	
	Amarela	0	0,0	2	0,8	2	0,7	
Escolaridade	Não escolar	0	0,0	1	0,3	1	0,3	0,4555
	Analfabeto	5	14,3	38	12,8	43	13,0	
	EFI - Completo	5	14,3	37	12,5	42	12,7	
	EFI - Incompleto	8	22,9	45	15,2	53	16,0	
	EFII - Completo	1	2,9	9	3,0	10	3,0	
	EFII - Incompleto	11	31,4	79	26,7	90	27,2	
	EM - Completo	3	8,6	75	25,3	78	23,6	
	EM - Incompleto	0	0,0	7	2,4	7	2,1	
	ES - Completo	1	2,9	0	0,0	1	0,3	
ES - Incompleto	1	2,9	5	1,7	6	1,8		
Classificação terapêutica	CN	31	86,1	286	93,5	317	92,7	0,3801
	R/R	1	2,8	11	3,6	12	3,5	
	FT	4	11,1	8	2,6	12	3,5	
	AB	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
Ano da coleta/entrevista	2012	7	19,4	75	24,5	82	24,0	0,0328
	2013	13	36,1	60	19,6	73	21,3	
	2014	14	38,9	90	29,4	104	30,4	
	2015	1	2,8	47	15,4	48	14,0	
	2016	1	2,8	29	9,5	30	8,8	
	2017	0	0,0	5	1,6	5	1,5	
Presença de lesões	Sim	30	83,3	233	76,1	263	76,9	0,4071
	Não	6	16,7	73	23,9	79	23,1	
Pacientes com ração		0	0,0	4	100,0	4	100,0	-
Município de residência	Recife	25	69,4	229	74,8	254	74,3	0,5455
	Outros Municípios	11	30,6	77	25,2	88	25,7	
Tempo de residência no endereço informado na entrevista	0-10 anos	15	45,5	76	26,3	91	28,3	0,0355
	11-20 anos	11	33,3	80	27,7	91	28,3	
	21-30 anos	2	6,1	46	15,9	48	14,9	
	31 ou mais anos	5	15,2	87	30,1	92	28,6	
GERES	I	30	83,3	268	87,6	298	87,1	0,8884
	II	3	8,3	7	2,3	10	2,9	
	III	2	5,6	13	4,2	15	4,4	
	IV	1	2,8	4	1,3	5	1,5	
	VIII	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
	IX	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
	X	0	0,0	2	0,7	2	0,6	
	XI	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
XII	0	0,0	9	2,9	9	2,6		

Os percentuais foram calculados por característica epidemiológica, para realizar as análises estatísticas da mesma forma, sendo o total o 100% como valor de referência. Foram aplicados o teste G ou Qui-Quadrado de independência (pós-teste análise de resíduos) ou teste exato de Fisher, conforme o caso. Em vermelho as associações negativas/inversas (frequência menor que a

esperada em acaso) e em amarelo as positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso). Ensino fundamental 1=EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.

## **Cluster 11**

Na Tabela 4.23 comparou-se os valores das porcentagens das características epidemiológicas dos 38 isolados que compõem o *cluster* C11 com os isolados que não estão em *cluster*, obtidos mediante análises com 13 VNTR. Desta comparação a maior quantidade de isolados corresponderam em cada caso; *cluster* C11 e não *clusters*, respectivamente: à 32 isolados do *cluster* C11 e 121 isolados que não estão em *cluster* (84,2% e 74,2%) de pacientes MB, 32 e 118 (86,5% e 72,4%) do sexo masculino, 5 e 7 (13,5% e 4,4%) apresentaram idades menores a 15 anos, e 29 e 116 (78,4% e 73,4%) apresentam idades de 15 até 59 anos, 18 e 82 (62,1% e 60,7%) autodeclararam-se pardos, 13 e 44 (35,1% e 27,8%) possuem ensino fundamental 2 incompleto, 37 e 155 (97,4% e 94,5%) foram classificados como CN, 1 e 5 (2,6% e 3,0%) como possíveis casos de R/R, 12 (31,6%) amostras foram coletadas dos pacientes no ano 2013 para os isolados que compõem o *cluster* C11, e 44 (26,8%) em no 2014 para os isolados que não encontram-se em *cluster*, 25 e 128 (65,8% e 78,0%) apresentaram lesões, 1 e 1 (50,0% e 50,0%) foram pacientes com reação, 31 e 118 (81,6% e 72,0%) foram pacientes com residência no município de Recife, 14 (41,2%) tinham um tempo de 31 o mais anos de tempo de residência no endereço informado na entrevista para os isolados do *cluster* C11, e 47 (30,1%) tinham um tempo de 11 a 20 anos de residência no endereço informado na entrevista para os isolados que não estão em *cluster*, e 35 e 130 (92,1% e 86,7%) localizavam-se no GERES I. Foram observadas significâncias estatísticas na característica epidemiológica de idade apresentando um valor de  $p=0,0346$ , foi observada uma associação positiva/direta (frequência maior que a esperada ao acaso) para menores de 15 anos (13,5%  $n=5/37$ ), foi também registrado para a característica de ano da coleta/entrevista um valor de  $p=0,0457$ ; para o ano 2013 (31,6%  $n=12/38$ ) entre os pacientes que compõem o *cluster* C11 e para o ano 2016 (14,0%  $n=23/164$ ) entre os pacientes que não estão em *cluster*, como mostrado em amarelo na Tabela 4.23.

Na Tabela 4.24 comparam-se os valores das porcentagens das características epidemiológicas dos isolados que compõem o *cluster* C11 com os isolados restantes que estão ou não em *cluster*, obtidos mediante análises com 13 VNTR. Desta comparação a maior quantidade de isolados obtidos correspondeu em cada caso; *cluster* C11 e os isolados restantes, respectivamente: à 32 isolados do *cluster* C11 e 235 isolados restantes (84,2% e 77,6%) de pacientes MB, 32 e 226 (86,5% e 74,6%) do sexo masculino, 5 e 12 (13,5% e 4,05%) apresentaram idades menores a 15 anos, e 29 e 215 (78,4% e 72,64%) apresentam idades de 15

até 59 anos, 18 e 152 (62,1% e 60,8%) autodeclararam-se pardos, 13 e 77 (35,1% e 26,2%) possuem ensino fundamental 2 incompleto, 37 e 280 (97,4% e 92,1%) foram classificados como CN e 1 (2,6%) como possíveis casos de R/R para os isolados que compõem o *cluster* C11, e 12 (3,9%) como possíveis casos de FT para os isolados restantes, 12 (31,6%) amostras foram coletadas em no ano 2013 para os isolados do *cluster* C11, e 93 (30,6%) amostras foram coletadas em no ano 2014 para os isolados restantes, 25 e 238 (65,8% e 78,3%) apresentaram lesões, 1 e 3 (25% e 75%) foram pacientes com reação, 31 e 223 (81,6% e 73,4%) foram pacientes com residência no município de Recife, 14 (41,2%) tinham um tempo de 31 ou mais anos de residência no endereço informado na entrevista para os isolados do *cluster* C11, e 84 (29,2%) tinham um tempo de 11 a 20 anos de residência no endereço informado na entrevista para os isolados restantes, e 35 e 263 (92,1% e 86,5%) localizavam-se no GERES I. Foi observada significância estatística na característica epidemiológica de classificação etária registrando um valor de  $p=0,0152$ ; para os menores de 15 anos (13,5%  $n=5/37$ ) nos pacientes que compõem o *cluster* C11 e para os idosos de 60 anos o mais (23,31%  $n=69/296$ ) nos pacientes restantes, observando uma associação positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso) mostrado em amarelo na Tabela 4.24.



**Tabela 4.23. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram no *cluster* 11 e os pacientes que não estão em *cluster*, a partir das análises com 13 VNTR.**

	Cluster 11		Não Clusters		Total		p-valor	
	N	%	N	%	N	%		
Classificação IB	Paucibacilares	5	13,2	24	14,7	29	14,4	0,2513
	Multibacilares	32	84,2	121	74,2	153	76,1	
	Negativos	1	2,6	18	11,0	19	9,5	0,0926
	Paucibacilares+Negativos	6	15,8	42	25,8	48	23,9	
	Multibacilares	32	84,2	121	74,2	153	76,1	
Sexo	Feminino	5	13,5	45	27,6	50	25	-
	Masculino	32	86,5	118	72,4	150	75	
	TOTAL	37	100,0	163	100,0	200	100	
Idade média		39 anos		43 anos		41 anos		-
Classificação etária	< 15 anos	5	13,5	7	4,4	12	6,2	0,0346
	15 - 59 Anos	29	78,4	116	73,4	145	74,4	
	≥ 60 anos	3	8,1	35	22,2	38	19,5	
Raça/Cor	Branca	8	27,6	45	33,3	53	32,3	0,7501
	Parda	18	62,1	82	60,7	100	61,0	
	Preta	2	6,9	7	5,2	9	5,5	
	Amarela	1	3,4	1	0,7	2	1,2	
Escolaridade	Não escolar	1	2,7	0	0,0	1	0,5	0,2868
	Analfabeto	4	10,8	20	12,7	24	12,3	
	EFI - Completo	5	13,5	20	12,7	25	12,8	
	EFI - Incompleto	6	16,2	22	13,9	28	14,4	
	EFII - Completo	0	0,0	8	5,1	8	4,1	
	EFII - Incompleto	13	35,1	44	27,8	57	29,2	
	EM - Completo	5	13,5	40	25,3	45	23,1	
	EM - Incompleto	2	5,4	2	1,3	4	2,1	
	ES - Incompleto	1	2,7	2	1,3	3	1,5	
Classificação terapêutica	CN	37	97,4	155	94,5	192	95,0	0,76
	R/R	1	2,6	5	3,0	6	3,0	
	FT	0	0,0	3	1,8	3	1,5	
	AB	0	0,0	1	0,6	1	0,5	
Ano da coleta/entrevista	2012	11	28,9	38	23,2	49	24,3	0,0457
	2013	12	31,6	26	15,9	38	18,8	
	2014	11	28,9	44	26,8	55	27,2	
	2015	3	7,9	30	18,3	33	16,3	
	2016	1	2,6	23	14,0	24	11,9	
	2017	0	0,0	3	1,8	3	1,5	
Presença de lesões	Sim	25	65,8	128	78,0	153	75,7	0,1408
	Não	13	34,2	36	22,0	49	24,3	
Pacientes com ração		1	50,0	1	50,0	2	100,0	-
Município de residência	Recife	31	81,6	118	72,0	149	73,8	0,3062
	Outros Municípios	7	18,4	46	28,0	53	26,2	
Tempo de residência no endereço informado na entrevista	0-10 anos	8	23,5	39	25,0	47	24,7	0,5257
	11-20 anos	7	20,6	47	30,1	54	28,4	
	21-30 anos	5	14,7	25	16,0	30	15,8	
	31 ou mais anos	14	41,2	45	28,8	59	31,1	
GERES	I	35	92,1	130	86,7	165	87,8	0,9324
	II	1	2,6	2	1,3	3	1,6	
	III	1	2,6	8	5,3	9	4,8	
	IV	0	0,0	3	2,0	3	1,6	
	VIII	0	0,0	1	0,7	1	0,5	
	IX	0	0,0	1	0,7	1	0,5	
	XI	0	0,0	1	0,7	1	0,5	
	XII	1	2,6	4	2,7	5	2,7	

Os percentuais foram calculados por característica epidemiológica, para realizar as análises estatísticas da mesma forma, sendo o total o 100% como valor de referência. Foram aplicados o teste G ou Qui-Quadrado de independência (pós-teste análise de resíduos) ou teste exato de Fisher, conforme o caso. Em vermelho as associações negativas/inversas (frequência menor que a esperada em acaso) e em amarelo as positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso). Ensino fundamental 1=EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.

**Tabela 4.24. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram no *cluster* 11 e os pacientes restantes que estão ou não em *cluster*, a partir das análises com 13 VNTR.**

		Cluster 11		Clusters e Não Clusters		Total		p-valor
		N	%	N	%	N	%	
Classificação IB	Paucibacilares	5	13,2	41	13,5	46	13,5	0,4034
	Multibacilares	32	84,2	235	77,6	267	78,3	
	Negativos	1	2,6	27	8,9	28	8,2	0,41
	Paucibacilares+Negativos	6	15,8	68	22,4	74	21,7	
	Multibacilares	32	84,2	235	77,6	267	78,3	
Sexo	Feminino	5	13,5	77	25,4	82	24,1	0,1528
	Masculino	32	86,5	226	74,6	258	75,9	
	TOTAL	37	100,0	303	100,0	340	100,0	-
Classificação etária	Idade média		39 anos		45 anos		42 anos	-
	< 15 anos	5	13,5	12	4,05	17	5,1	0,0152
	15 - 59 Anos	29	78,4	215	72,64	244	73,3	
	≥ 60 anos	3	8,1	69	23,31	72	21,6	
Raça/Cor	Branca	8	27,6	83	33,2	91	32,6	0,6222
	Parda	18	62,1	152	60,8	170	60,9	
	Preta	2	6,9	14	5,6	16	5,7	
	Amarela	1	3,4	1	0,4	2	0,7	
Escolaridade	Não escolar	1	2,7	0	0,0	1	0,3	0,498
	Analfabeto	4	10,8	39	13,3	43	13,0	
	EFI - Completo	5	13,5	37	12,6	42	12,7	
	EFI - Incompleto	6	16,2	47	16,0	53	16,0	
	EFII - Completo	0	0,0	10	3,4	10	3,0	
	EFII - Incompleto	13	35,1	77	26,2	90	27,2	
	EM - Completo	5	13,5	73	24,8	78	23,6	
	EM - Incompleto	2	5,4	5	1,7	7	2,1	
	ES - Completo	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
	ES - Incompleto	1	2,7	5	1,7	6	1,8	
Classificação terapêutica	CN	37	97,4	280	92,1	317	92,7	0,562
	R/R	1	2,6	11	3,6	12	3,5	
	FT	0	0,0	12	3,9	12	3,5	
	AB	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
Ano da coleta/entrevista	2012	11	28,9	71	23,4	82	24,0	0,2411
	2013	12	31,6	61	20,1	73	21,3	
	2014	11	28,9	93	30,6	104	30,4	
	2015	3	7,9	45	14,8	48	14,0	
	2016	1	2,6	29	9,5	30	8,8	
	2017	0	0,0	5	1,6	5	1,5	
Presença de lesões	Sim	25	65,8	238	78,3	263	76,9	0,1018
	Não	13	34,2	66	21,7	79	23,1	
Município de residência	Pacientes com ração	1	25,0	3	75,0	4	100,0	-
	Recife	31	81,6	223	73,4	254	74,3	0,3288
	Outros Municípios	7	18,4	81	26,6	88	25,7	
Tempo de residência no endereço informado na entrevista.	0-10 anos	8	23,5	83	28,8	91	28,3	0,3929
	11-20 anos	7	20,6	84	29,2	91	28,3	
	21-30 anos	5	14,7	43	14,9	48	14,9	
	31 ou mais anos	14	41,2	78	27,1	92	28,6	
GERES	I	35	92,1	263	86,5	298	87,1	0,9907
	II	1	2,6	9	3,0	10	2,9	
	III	1	2,6	14	4,6	15	4,4	
	IV	0	0,0	5	1,6	5	1,5	
	VIII	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
	IX	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
	X	0	0,0	2	0,7	2	0,6	
	XI	0	0,0	1	0,3	1	0,3	
XII	1	2,6	8	2,6	9	2,6		

Os percentuais foram calculados por característica epidemiológica, para realizar as análises estatísticas da mesma forma, sendo o total o 100% como valor de referência. Foram aplicados o teste G ou Qui-Quadrado de independência (pós-teste análise de resíduos) ou teste exato de Fisher, conforme o caso. Em vermelho as associações negativas/inversas (frequência menor que a esperada em acaso) e em amarelo as positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso). Ensino fundamental 1=EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.

## **Clusters 10 e 11**

Na Tabela 4.25 comparam-se os valores das porcentagens das características epidemiológicas dos 74 isolados que compõem os *clusters* C10 e C11 com os isolados que não estão em *cluster*, obtidos mediante análises com 13 VNTR. Desta comparação a maior quantidade de isolados obtidos corresponderam em cada caso; *clusters* C10 e C11 e não *clusters*, respectivamente: à 59 isolados dos *clusters* C10 e C11 e 121 isolados que não estão em *cluster* (79,7% e 74,2%) de pacientes MB, 57 e 118 (78,1% e 72,4%) do sexo masculino, 7 em ambos casos (9,7% e 4,4%) apresentaram idades menores a 15 anos, e 53 e 116 (73,6% e 73,4%) apresentam idades de 15 até 59 anos, 35 e 82 (61,4% e 60,7%) autodeclararam-se pardos, 24 e 44 (33,3% e 27,8%) possuem ensino fundamental 2 incompleto, 68 e 155 (91,9% e 94,5%) foram classificados como CN, 2 e 5 (2,7% e 3,0%) como possíveis casos de R/R, 25 e 44 (33,8% e 26,8%) amostras foram coletadas dos pacientes no ano 2014, 55 e 128 (74,3% e 78,0%) apresentaram lesões, 1 e 1 (50,0% e 50,0%) foram pacientes com reação, 56 e 118 (75,7% e 72,0%) foram pacientes com residência no município de Recife, 19 (28,4%) tinham um tempo de 31 ou mais anos de residência no endereço informado na entrevista para os isolados dos *clusters* 10 e 11, e 47 (30,1%) tinham um tempo de 11 a 20 anos de residência no endereço informado na entrevista para os isolados que não estão em *cluster*, e 65 e 130 (87,8% e 86,7%) localizavam-se no GERES I. Foram observadas significâncias estatísticas na característica epidemiológica de classificação pelo IB apresentando-se uma associação positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso) para pacientes PB e negativos (*cluster* 10 e 11 = 20,3% n=15/74; não *cluster* = 25,8% n=42/163), também para a característica de ano da coleta/entrevista registrando um valor de  $p=0,0002$ ; para o ano 2013 (33,8% n=25/74) nos pacientes que compõem o *cluster* C10 e C11 e para o ano 2015 e 2016 (18,3% n=30/164 e 14,0% n=23/164; respectivamente) nos pacientes que não estão em *cluster*, mostrado em amarelo na tabela 4.25.

Na tabela 4.26 comparam-se os valores das porcentagens das características epidemiológicas dos isolados que compõem os *clusters* C10 e C11 com os isolados restantes que estão ou não em *cluster*, obtidos mediante análises com 13 VNTR. Desta comparação a maior quantidade de isolados obtidos corresponderam em cada caso; *clusters* C10 e C11 e os isolados restantes em *clusters* ou não, respectivamente: à 59 isolados dos *clusters* C10 e C11 e 208 isolados restantes (79,7% e 77,9%) de pacientes MB, 57 e 201 (78,1% e 75,3%) do sexo masculino, 7 e 10 (9,7% e 3,8%) apresentaram idades menores a 15 anos, e 53 e 191 (73,6% e 73,2%) apresentam idades de 15 até 59 anos, 35 e 135 (61,4% e 60,8%) autodeclararam-se pardos,

24 e 66 (33,3% e 25,5%) possuem ensino fundamental 2 incompleto, 68 e 249 (91,9% e 92,9%) foram classificados como CN e 2 e 10 (2,7% e 3,7%) como possíveis casos de R/R, e 4 e 8 (5,4% e 3,0%) como possíveis casos de FT, 25 e 79 (33,8% e 29,5%) amostras foram coletadas em no ano 2014, 55 e 208 (74,3% e 77,6%) apresentaram lesões, 1 e 3 (25% e 75%) foram pacientes com reação, 56 e 198 (75,7% e 73,9%) foram pacientes com residência no município de Recife, 19 e 73 (28,4% e 28,6%) tinham um tempo de 31 ou mais anos de residência no endereço informado na entrevista, e 73 (28,6%) tinham um tempo de 11 a 20 anos de residência no endereço informado na entrevista para os isolados restantes, e 65 e 233 (87,8% e 86,9%) localizavam-se no GERES I. Foram observadas significâncias estatísticas na característica epidemiológica de classificação pelo IB apresentando-se uma associação positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso) para pacientes PB e negativos (*cluster* 10 e 11 = 20,3% n=15/74; pacientes restantes 22,1% (n=59/267), também para a característica de ano da coleta/entrevista registrando um valor de  $p=0,0017$ ; para o ano 2013 (33,8% n=25/74) nos pacientes que compõem o *cluster* C10 e C11 e para o ano 2015 e 2016 (16,4% n=44/268 e 10,4% n=28/268; respectivamente) nos pacientes restantes *cluster* e não *cluster*, mostrado em amarelo na tabela 4.26.

**Tabela 4.25. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram nos *clusters* 10 e 11 e os pacientes que não estão em *cluster*, a partir das análises com 13 VNTR.**

		Cluster 10 e 11		Não Clusters		Total		p-valor
		N	%	N	%	N	%	
Classificação IB	Paucibacilares	13	17,6	24	14,7	37	15,6	0,0972
	Multibacilares	59	79,7	121	74,2	180	75,9	
	Negativos	2	2,7	18	11,0	20	8,4	0,414
	Paucibacilares+Negativos	15	20,3	42	25,8	57	24,1	
Sexo	Multibacilares	59	79,7	121	74,2	180	75,9	0,4223
	Feminino	16	21,9	45	27,6	61	25,8	
	Masculino	57	78,1	118	72,4	175	74,2	
TOTAL		73	100,0	163	100,0	236	100,0	-
Idade média		41,5 anos		43 anos		42,3 anos		-
Classificação etária	< 15 anos	7	9,7	7	4,4	14	6,1	0,2227
	15 - 59 Anos	53	73,6	116	73,4	169	73,5	
	≥ 60 anos	12	16,7	35	22,2	47	20,4	
Raça/Cor	Branca	17	29,8	45	33,3	62	32,3	0,8826
	Parda	35	61,4	82	60,7	117	60,9	
	Preta	4	7,0	7	5,2	11	5,7	
	Amarela	1	1,8	1	0,7	2	1,0	
Escolaridade	Não escolar	1	1,4	0	0,0	1	0,4	0,1894
	Analfabeto	9	12,5	20	12,7	29	12,6	
	EFI - Completo	10	13,9	20	12,7	30	13,0	
	EFI - Incompleto	14	19,4	22	13,9	36	15,7	
	EFII - Completo	1	1,4	8	5,1	9	3,9	
	EFII - Incompleto	24	33,3	44	27,8	68	29,6	
	EM - Completo	8	11,1	40	25,3	48	20,9	
	EM - Incompleto	2	2,8	2	1,3	4	1,7	
	ES - Completo	1	1,4	0	0,0	1	0,4	
ES - Incompleto	2	2,8	2	1,3	4	1,7		
Classificação terapêutica	CN	68	91,9	155	94,5	223	93,7	0,5248
	R/R	2	2,7	5	3,0	7	2,9	
	FT	4	5,4	3	1,8	7	2,9	
	AB	0	0,0	1	0,6	1	0,4	
Ano da coleta/entrevista	2012	18	24,3	38	23,2	56	23,5	0,0002
	2013	25	33,8	26	15,9	51	21,4	
	2014	25	33,8	44	26,8	69	29,0	
	2015	4	5,4	30	18,3	34	14,3	
	2016	2	2,7	23	14,0	25	10,5	
	2017	0	0,0	3	1,8	3	1,3	
Presença de lesões	Sim	55	74,3	128	78,0	183	76,9	0,6184
	Não	19	25,7	36	22,0	55	23,1	
Pacientes com ração		1	50,0	1	50,0	2	100	-
Município de residência	Recife	56	75,7	118	72,0	174	73,1	0,6364
	Outros Municípios	18	24,3	46	28,0	64	26,9	
Tempo de residência no endereço informado na entrevista	0-10 anos	23	34,3	39	25,0	62	27,8	0,4474
	11-20 anos	18	26,9	47	30,1	65	29,1	
	21-30 anos	7	10,4	25	16,0	32	14,3	
	31 ou mais anos	19	28,4	45	28,8	64	28,7	
GERES	I	65	87,8	130	86,7	195	87,1	0,7157
	II	4	5,4	2	1,3	6	2,7	
	III	3	4,1	8	5,3	11	4,9	
	IV	1	1,4	3	2,0	4	1,8	
	VIII	0	0,0	1	0,7	1	0,4	
	IX	0	0,0	1	0,7	1	0,4	
	XI	0	0,0	1	0,7	1	0,4	
XII	1	1,4	4	2,7	5	2,2		

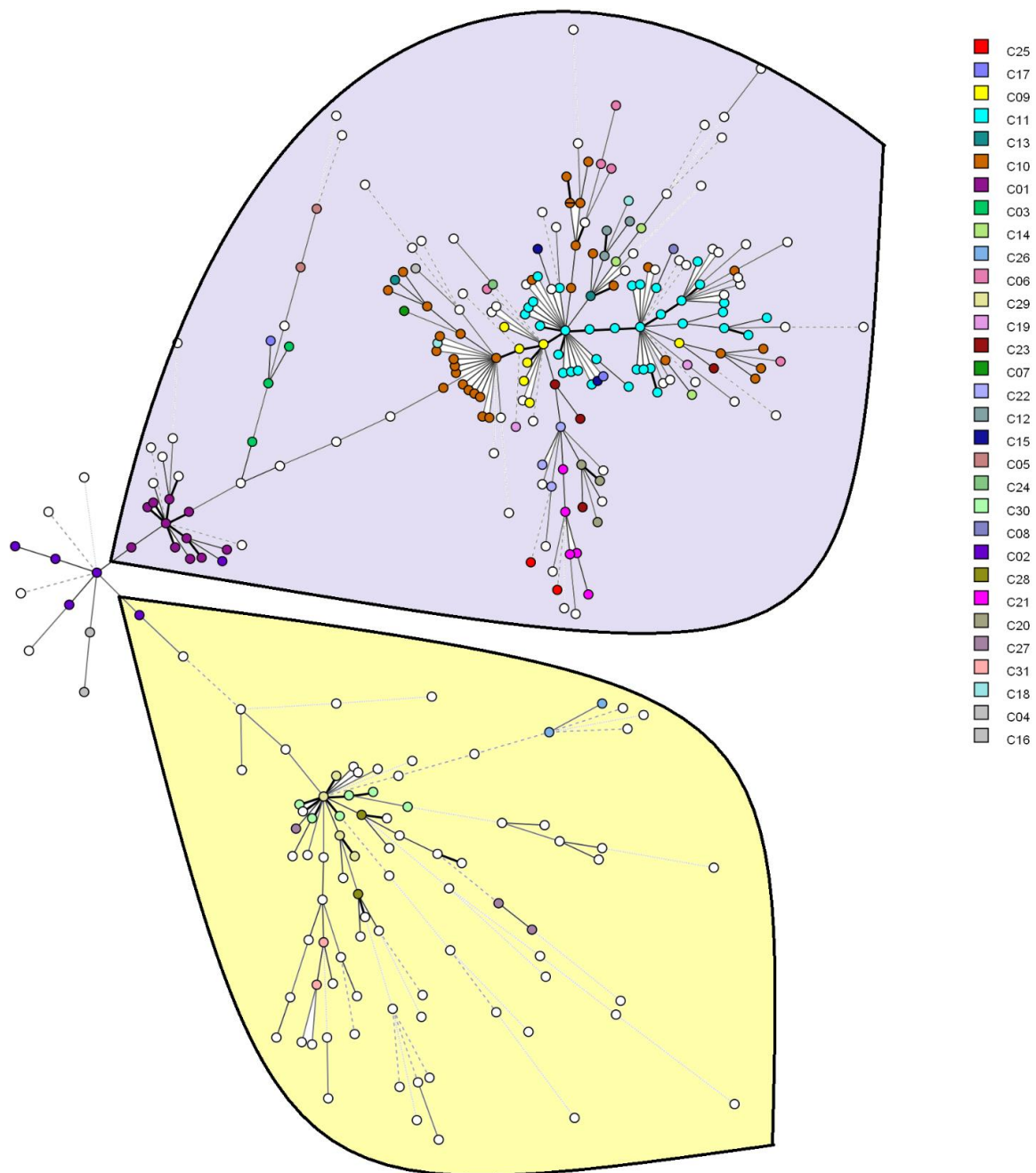
Os percentuais foram calculados por característica epidemiológica, para realizar as análises estatísticas da mesma forma, sendo o total o 100% como valor de referência. Foram aplicados o teste G ou Qui-Quadrado de independência (pós-teste análise de resíduos) ou teste exato de Fisher, conforme o caso. Em vermelho as associações negativas/inversas (frequência menor que a esperada em acaso) e em amarelo as positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso). Ensino fundamental 1=EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.

**Tabela 4.26. Fatores epidemiológicos dos pacientes que se encontram nos *clusters* 10 e 11 e os pacientes restantes que estão ou não em *cluster*, a partir das análises com 13 VNTR.**

		Cluster 10 e 11		Clusters e Não Clusters		Total		p-valor
		N	%	N	%	N	%	
Classificação IB	Paucibacilares	13	17,6	33	12,4	46	13,5	0,0962
	Multibacilares	59	79,7	208	77,9	267	78,3	
	Negativos	2	2,7	26	9,7	28	8,2	0,874
	Paucibacilares+Negativos	15	20,3	59	22,1	74	21,7	
		59	79,7	208	77,9	267	78,3	
Sexo	Feminino	16	21,9	66	24,7	82	24,1	0,7576
	Masculino	57	78,1	201	75,3	258	75,9	
	TOTAL	73	100,0	267	100,0	340	100,0	
Idade média		41,5 anos		43,8 anos		42 anos		-
Classificação etária	< 15 anos	7	9,7	10	3,8	17	5,1	0,0871
	15 - 59 Anos	53	73,6	191	73,2	244	73,3	
	≥ 60 anos	12	16,7	60	23,0	72	21,6	
Raça/Cor	Branca	17	29,8	74	33,3	91	32,6	0,7869
	Parda	35	61,4	135	60,8	170	60,9	
	Preta	4	7,0	12	5,4	16	5,7	
	Amarela	1	1,8	1	0,5	2	0,7	
Escolaridade	Não escolar	1	1,4	0	0,0	1	0,3	0,1326
	Analfabeto	9	12,5	34	13,1	43	13,0	
	EFI - Completo	10	13,9	32	12,4	42	12,7	
	EFI - Incompleto	14	19,4	39	15,1	53	16,0	
	EFII - Completo	1	1,4	9	3,5	10	3,0	
	EFII - Incompleto	24	33,3	66	25,5	90	27,2	
	EM - Completo	8	11,1	70	27,0	78	23,6	
	EM - Incompleto	2	2,8	5	1,9	7	2,1	
	ES - Completo	1	1,4	0	0,0	1	0,3	
ES - Incompleto	2	2,8	4	1,5	6	1,8		
Classificação terapêutica	CN	68	91,9	249	92,9	317	92,7	0,7585
	R/R	2	2,7	10	3,7	12	3,5	
	FT	4	5,4	8	3,0	12	3,5	
	AB	0	0,0	1	0,4	1	0,3	
Ano da coleta/entrevista	2012	18	24,3	64	23,9	82	24,0	0,0017
	2013	25	33,8	48	17,9	73	21,3	
	2014	25	33,8	79	29,5	104	30,4	
	2015	4	5,4	44	16,4	48	14,0	
	2016	2	2,7	28	10,4	30	8,8	
	2017	0	0,0	5	1,9	5	1,5	
Presença de lesões	Sim	55	74,3	208	77,6	263	76,9	0,5373
	Não	19	25,7	60	22,4	79	23,1	
Pacientes com ração		1	25,0	3	75,0	4	100	-
Município de residência	Recife	56	75,7	198	73,9	254	74,3	0,8807
	Outros Municípios	18	24,3	70	26,1	88	25,7	
Tempo de residência no endereço informado na entrevista	0-10 anos	23	34,3	68	26,7	91	28,3	0,5144
	11-20 anos	18	26,9	73	28,6	91	28,3	
	21-30 anos	7	10,4	41	16,1	48	14,9	
	31 ou mais anos	19	28,4	73	28,6	92	28,6	
GERES	I	65	87,8	233	86,9	298	87,1	0,9019
	II	4	5,4	6	2,2	10	2,9	
	III	3	4,1	12	4,5	15	4,4	
	IV	1	1,4	4	1,5	5	1,5	
	VIII	0	0,0	1	0,4	1	0,3	
	IX	0	0,0	1	0,4	1	0,3	
	X	0	0,0	2	0,7	2	0,6	
	XI	0	0,0	1	0,4	1	0,3	
XII	1	1,4	8	3,0	9	2,6		

Os percentuais foram calculados por característica epidemiológica, para realizar as análises estatísticas da mesma forma, sendo o total o 100% como valor de referência. Foram aplicados o teste G ou Qui-Quadrado de independência (pós-teste análise de resíduos) ou teste exato de Fisher, conforme o caso. Em vermelho as associações negativas/inversas (frequência menor que a esperada em acaso) e em amarelo as positivas/diretas (frequência maior que a esperada ao acaso). Ensino fundamental 1=EFI; Ensino fundamental 2=EFII; Ensino Médio=EM; Ensino Superior=ES.

Na Figura 4.13, apresentam-se os isolados que formam os *cluster* obtidos com 13 VNTR, localizados na árvore MST para 17 VNTR, observa-se, que os *clusters* C11 (n=39), C10 (n=36), C01 (n=12) e C09 (n=9) encontram-se localizados no ramo superior (roxo), e no ramo inferior (amarelo) apresentam-se uma menor quantidade de isolados em *cluster* obtidos com a análise com 13 VNTR; com esta figura podemos visualizar a distribuição dos agrupamentos obtidos com a análises com 13 VNTR na árvore MST das análises obtidas com 17 VNTR e corroboramos que a estrutura de agrupamento dos *clusters* com 13 VNTR se mantém quando utilizada a estrutura de 17 VNTR.

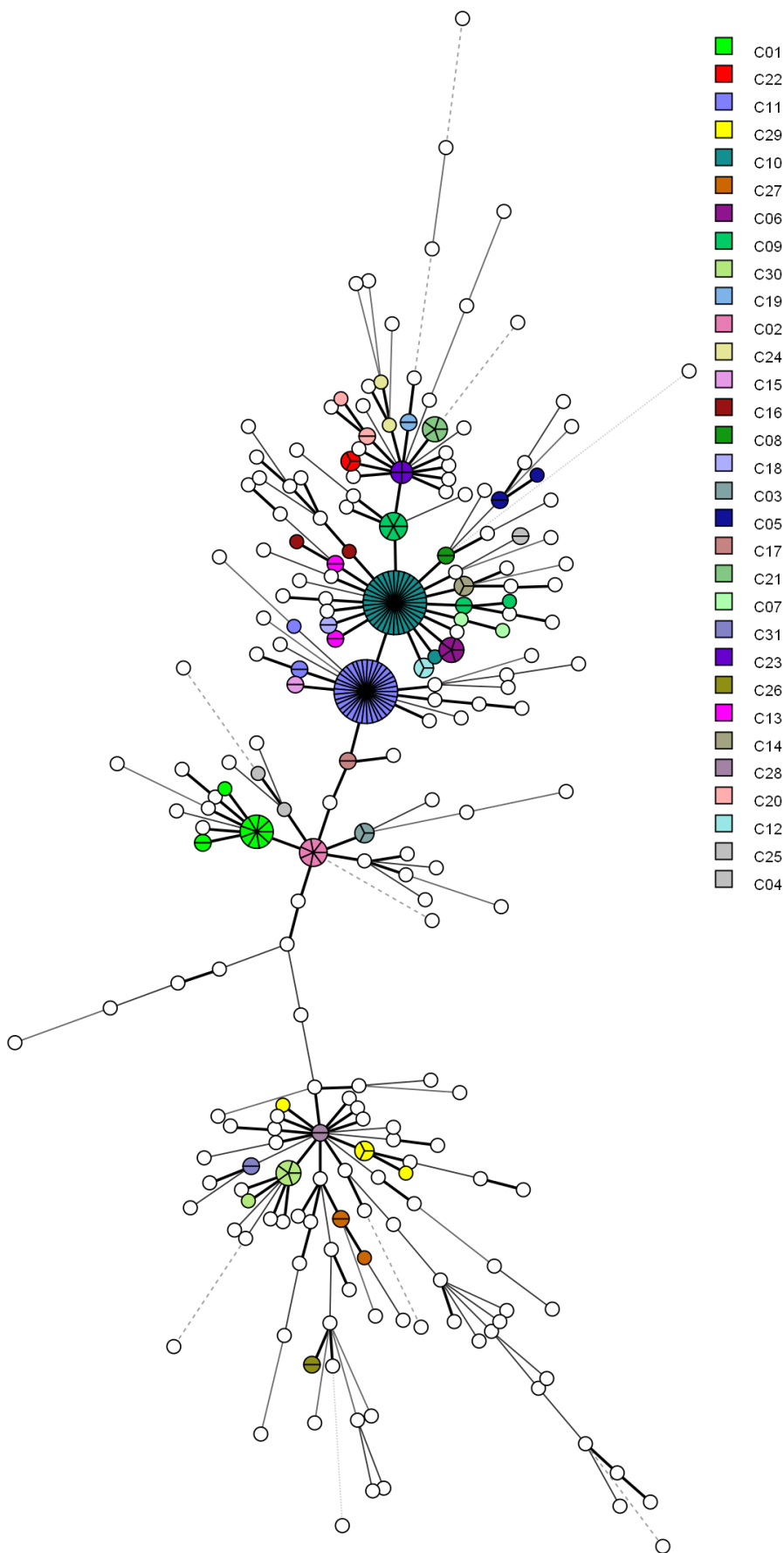


**Figura 4.13.** Árvore MST utilizando 16/17 VNTRs com base em os *clusters* formados com 13 VNTRs. São identificados com diferentes cores os isolados que conformam os *cluster*

obtidos com 13 VNTR, localizados baixo o padrão de distribuição da árvore MST para 17 VNTR, observando-se, que os *clusters* C11 (o maior com 39 isolados), C10 (composto com 36 isolados), C01 (com 12 isolados) e C09 (com 9 isolados) encontram-se localizados no ramo roxo. Esta figura foi realizada para observar a distribuição dos agrupamentos obtidos com a análises com 13 VNTR na Árvore MST das análises obtidas com 17 VNTR.

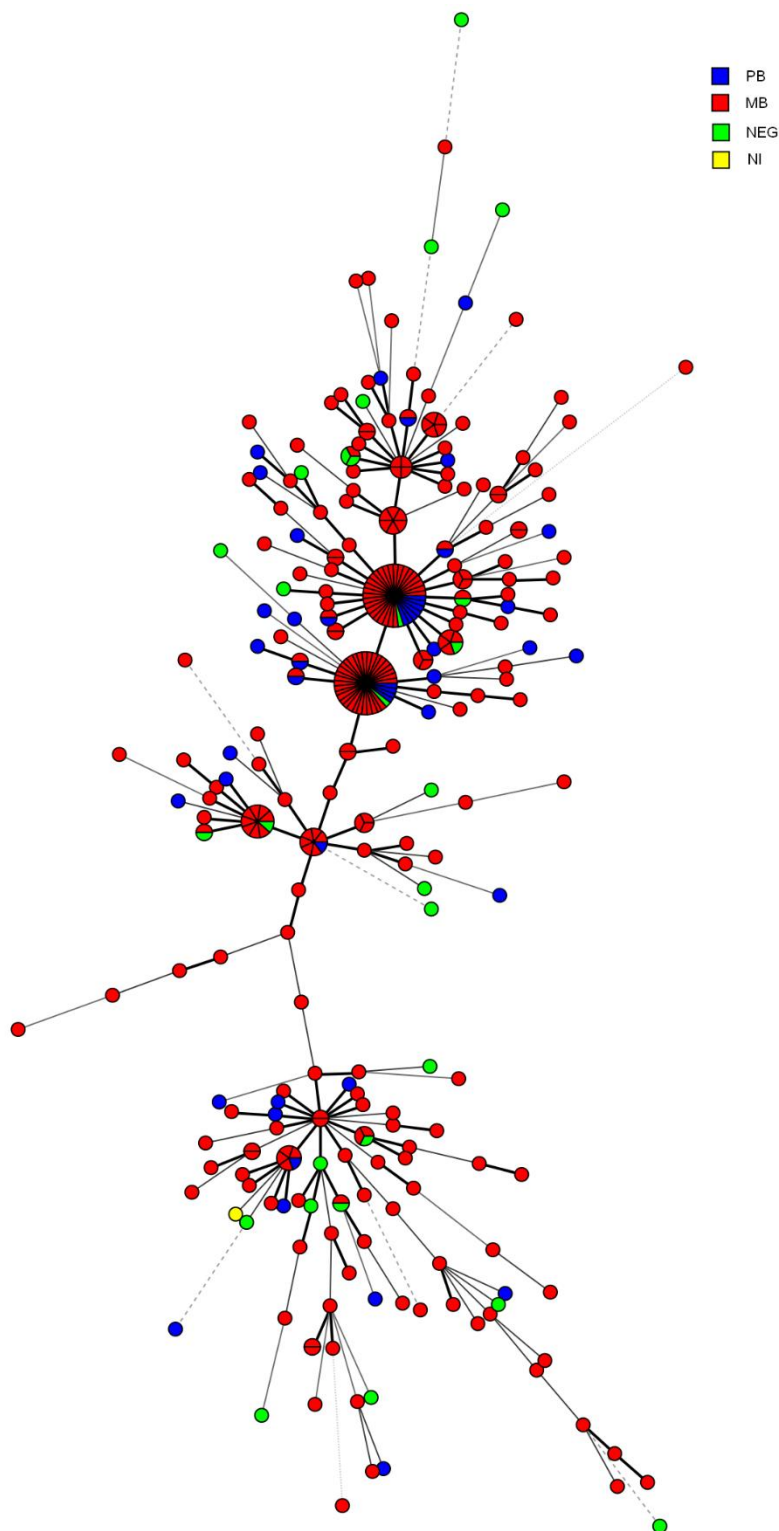
Na árvore MST com 13 *loci*, observamos que o ramo superior concentra a maior quantidade de isolados em *cluster* e os maiores *clusters*, esses podem ser visualizados nas cores verde escuro (C10) e roxo (C11), (Figura 4.14).





**Figura 4.14.** Árvore MST utilizando 13 VNTRs apresentando os *clusters* formados. Cores diferentes para cada *cluster* obtido na análise com 13 VNTRs.

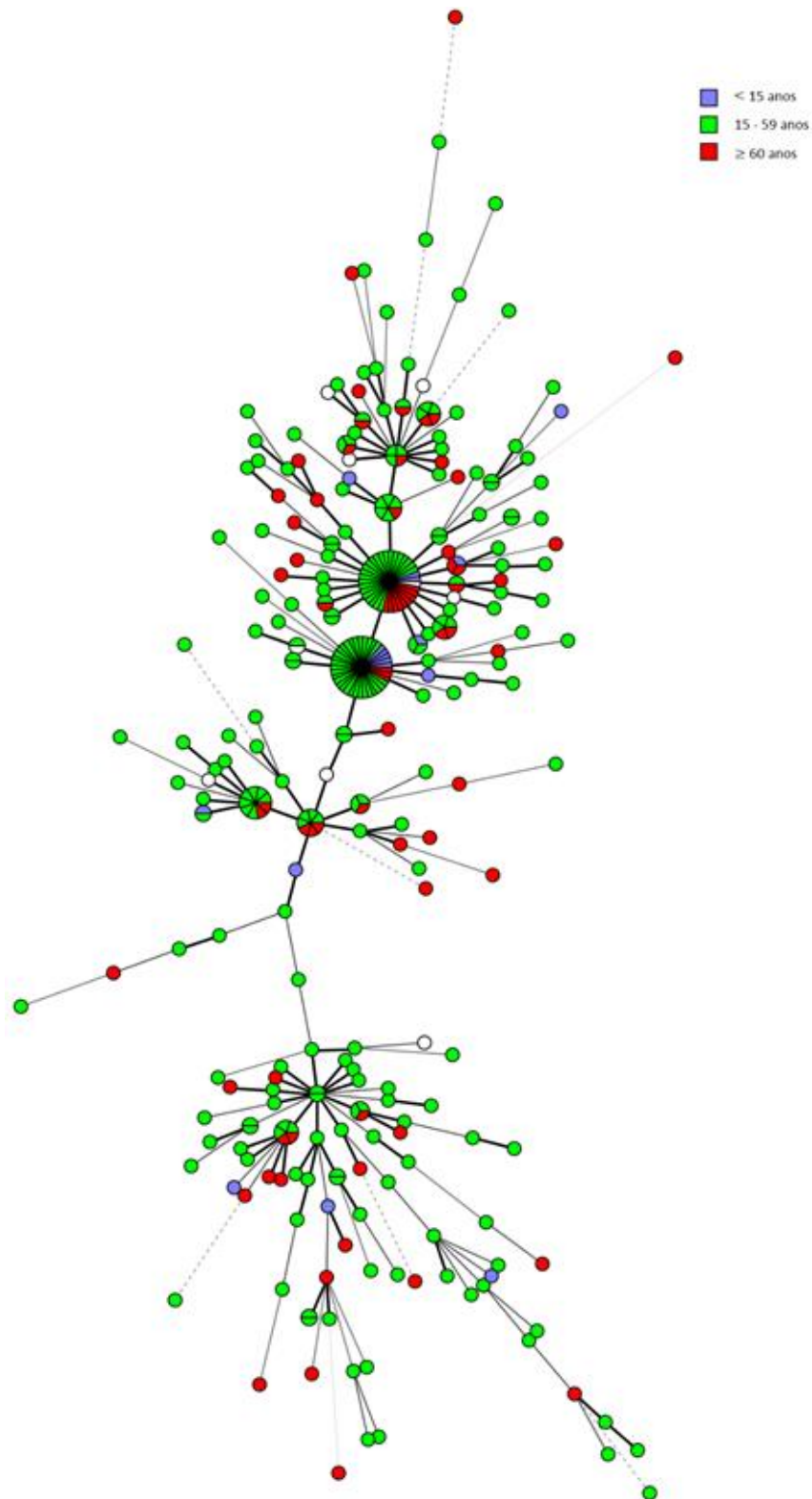
Podemos observar na Figura 4.15, a distribuição dos isolados de acordo com a classificação por índice baciloscópico, notamos que os *clusters* são compostos por pacientes multibacilares em sua maioria, entretanto, sete dos trinta e dois *clusters* (22,6%) abrigam pacientes com IB=0 e dez *clusters* com pacientes paucibacilar (32,2%). Observamos também dois casos de pacientes negativos, cada um localizado nos maiores *clusters*, C10 e C11. No ramo inferior a maior quantidade dos pacientes são multibacilares, entretanto, um paciente não foi classificado por IB apresentado em cor amarela.



**Figura 4.15.** Árvore MST com base nos *clusters* formados utilizando 13 VNTRs correlacionado com à classificação de IB para pacientes paucibacilares (PB), multibacilares (MB) e negativos (NEG). Distribuição dos *clusters* gerados pela análise com 13 VNTR. Foram identificados pacientes PB em cor azul, MB em vermelho, negativos em verde e os que não apresentaram dados de IB em amarelo,

Na figura 4.15 não foi possível observar *cluster* com genótipos específicos para as classificações de PB ou MB.

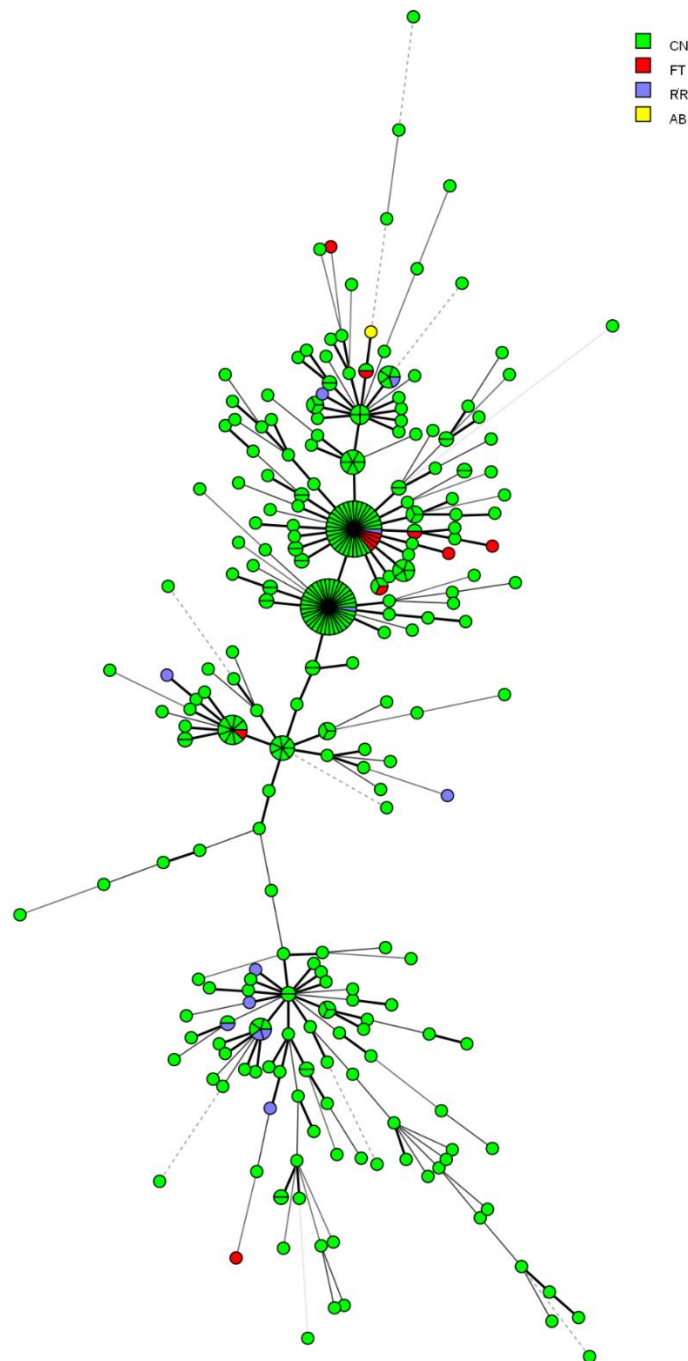
Na Figura 4.16, apresenta-se a classificação por idade, observamos que os pacientes menores de 15 anos (41,2%; n=7/17) e o e maiores de 60 (16,7% n=12/72) concentram-se nos dois *clusters* maiores.



**Figura 4.16.** Árvore MST com base nos *clusters* formados utilizando 13 VNTRs correlacionado com o intervalo de idade. Em cor roxa pacientes com idade menor a 15 anos, em verde com idade entre 15 até 59 anos e pacientes com idade maior ou igual a 60 anos em vermelho.

Observou-se na figura 4.16 maioritariamente pacientes com idade entre 15 até 59 anos entre os grandes *clusters*, mas não foi possível visualizar um *cluster* com genótipo específico para esta classificação.

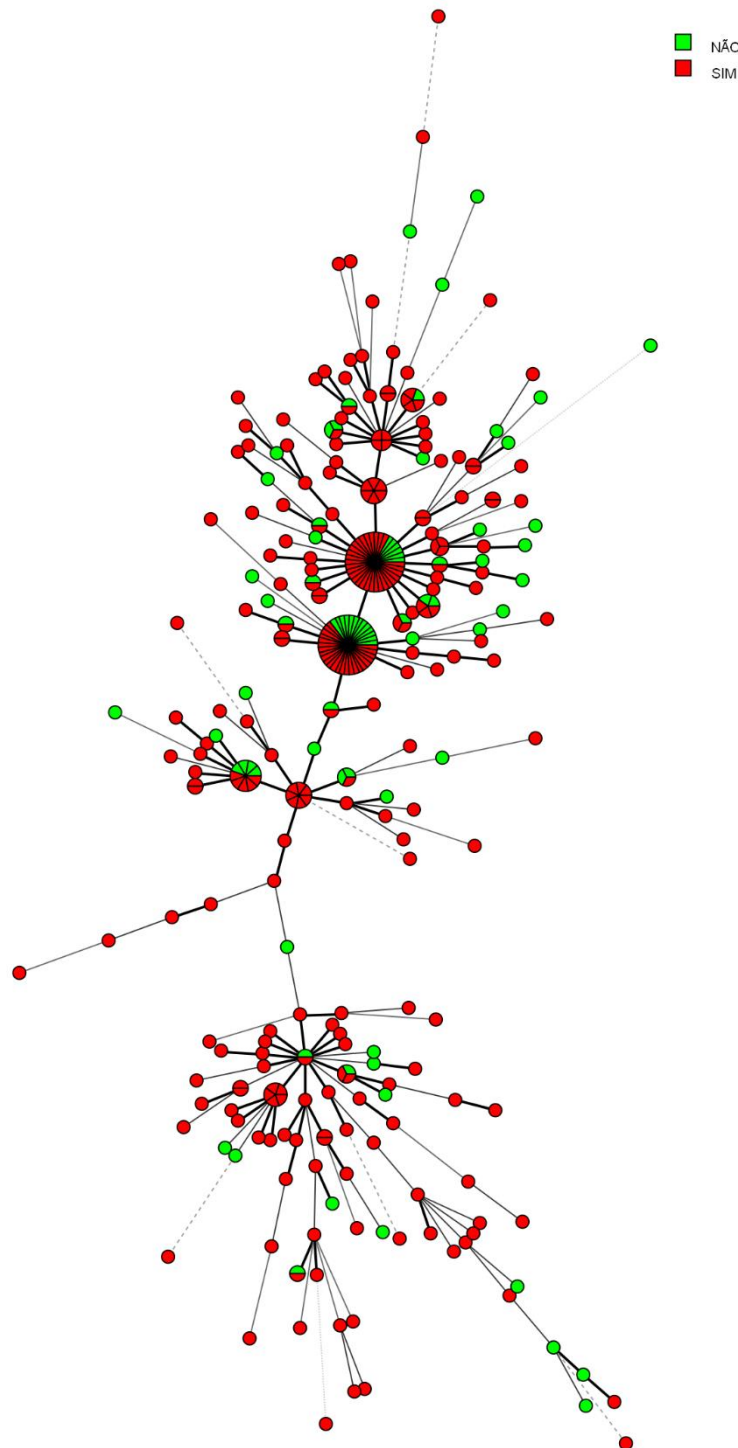
A Figura 4.17, mostra a árvore MST para 13 VNTR com a distribuição das diferentes classificações terapêuticas. Foi evidenciado que 33,3% (n=4/12) dos casos de FT apresentavam-se no *cluster* C10, e 16,7% dos casos de R/R (n=2/12) apresentavam-se distribuídos entre os dois maiores *clusters* C10 e C11. O caso de AB localiza-se também no ramo superior, mas não se encontra em nenhum *cluster*.



**Figura 4.17.** Árvore MST com base nos *clusters* formados utilizando 13 VNTRs correlacionado com sua classificação terapêutica (FT: falha terapêutica; R/R: recidiva ou reinfeção; AB: abandono; CN: casos novos). Pacientes descritos como CN apresentam-se

em verde, pacientes classificados com FT são apresentados em vermelho, os possíveis pacientes com R/R são apresentados em roxo e o paciente classificado com AB é apresentado em cor amarelo.

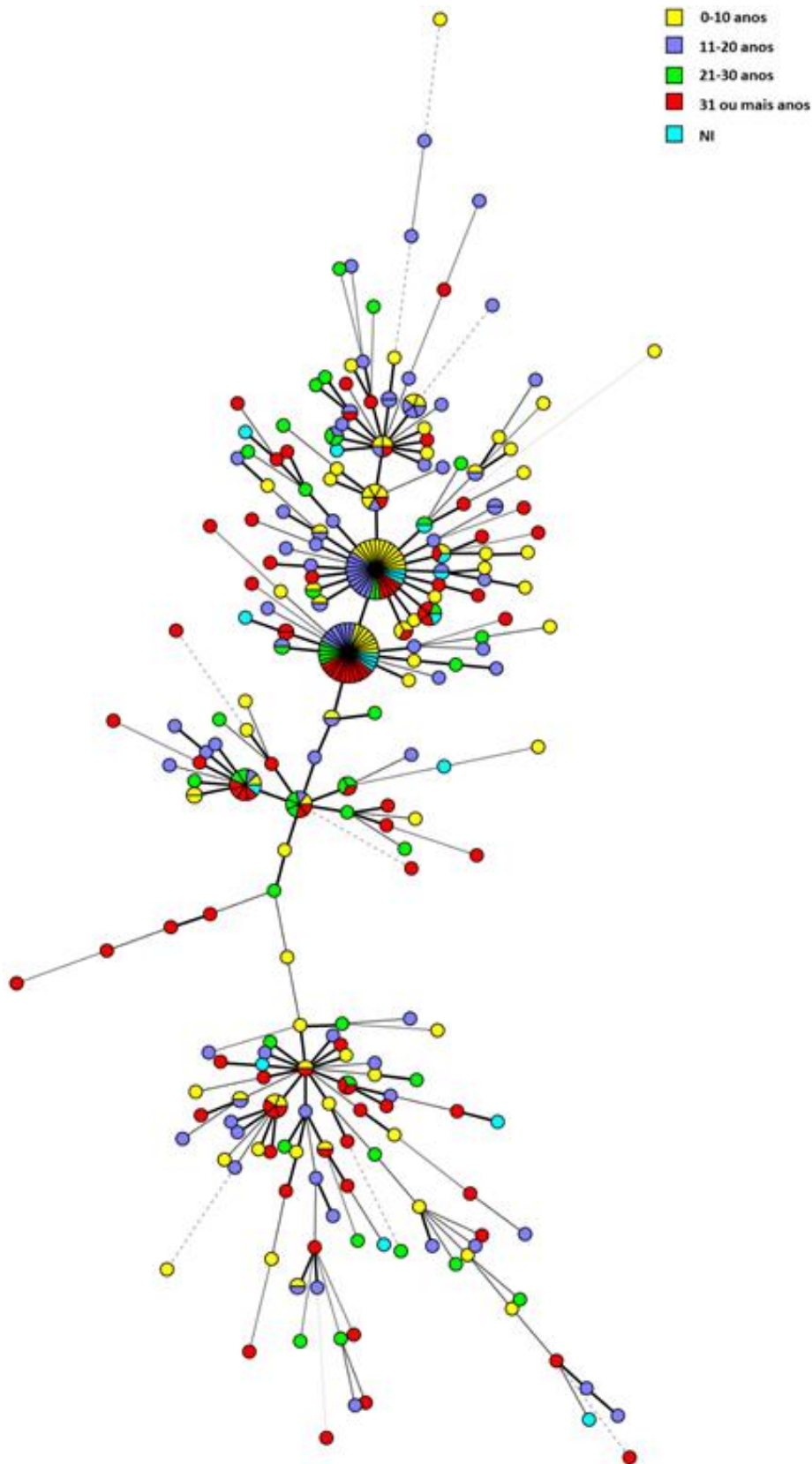
Na figura 4.18 observa-se a MST gerada com base nos pacientes que relataram ou não presença de lesões, sendo que o 20,9% (n=55/263) dos casos com lesões concentram-se nos *cluster* 10 e 11.



**Figura 4.18.** Árvore MST com base nos *clusters* formados utilizando 13 VNTRs correlacionado com os pacientes que relataram ou não presença de lesões. Pacientes que

relataram presença de lesões apresentam-se em cor vermelho e os que não apresentaram lesões em verde.

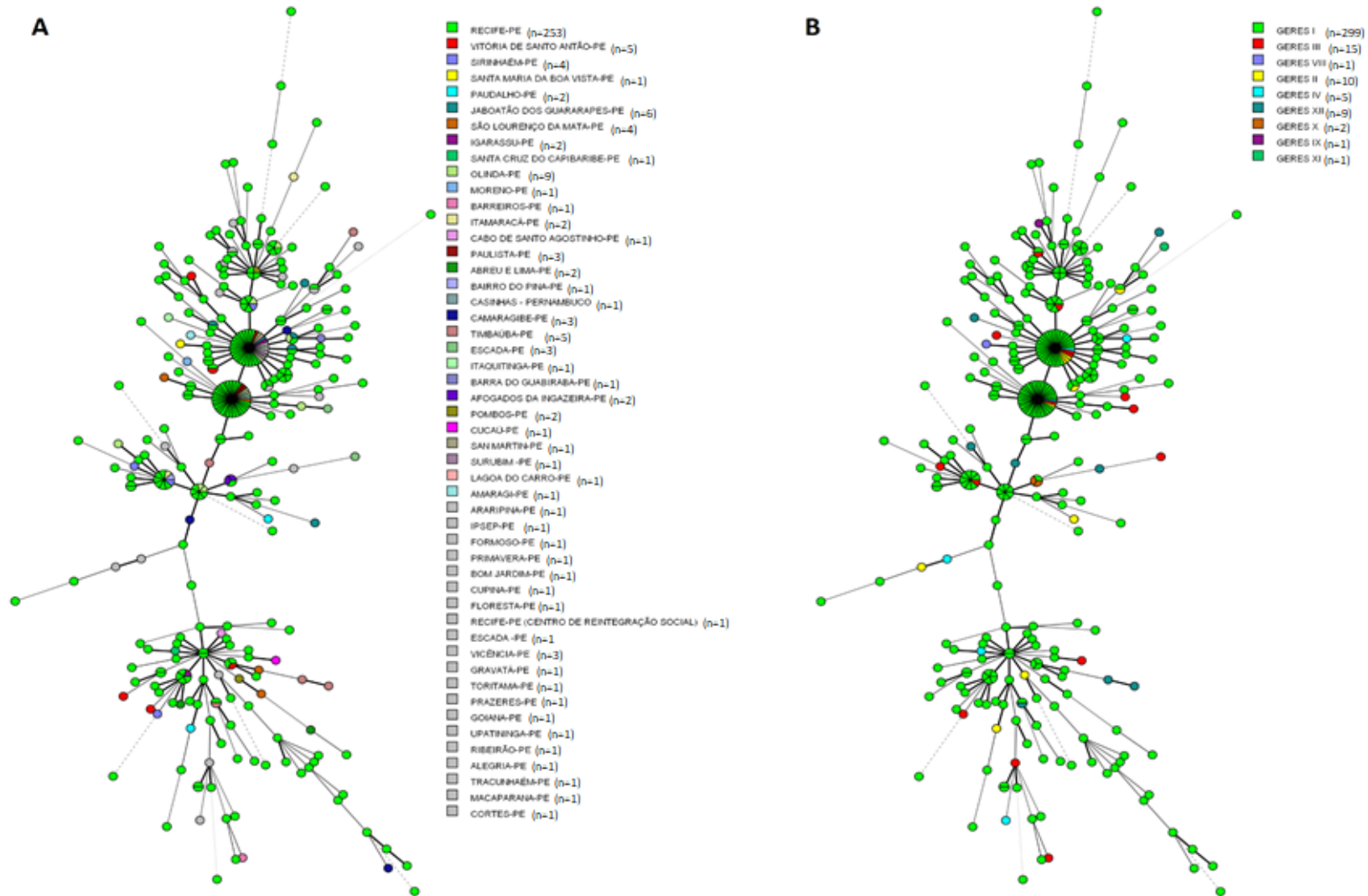
Na Figura 4.19 apresenta-se a MST com base ao tempo de residência no endereço informado na entrevista dos pacientes avaliados, sendo que o 25,3% (n=23/91) dos casos que residem entre zero a 10 anos no mesmo endereço concentram-se nos *cluster* C10 e C11, seguido dos casos com 31 o mais anos o 20,7% (n=19/92) e dos casos com 11 a 20 anos de residência no endereço informado na entrevista com o 19,8% (n=18/91).



**Figura 4.19.** Árvore MST com base nos *clusters* formados utilizando 13 VNTRs mostrando o tempo de residência no endereço informado na entrevista dos pacientes do estudo. O tempo de residência de zero a dez anos mostrasse em cor amarelo, de 11 até 20 anos em cor roxo, de 21 até 30 anos em cor verde, de 31 ou mais anos em cor vermelho, os casos que não informaram dados para esta característica em cor azul.



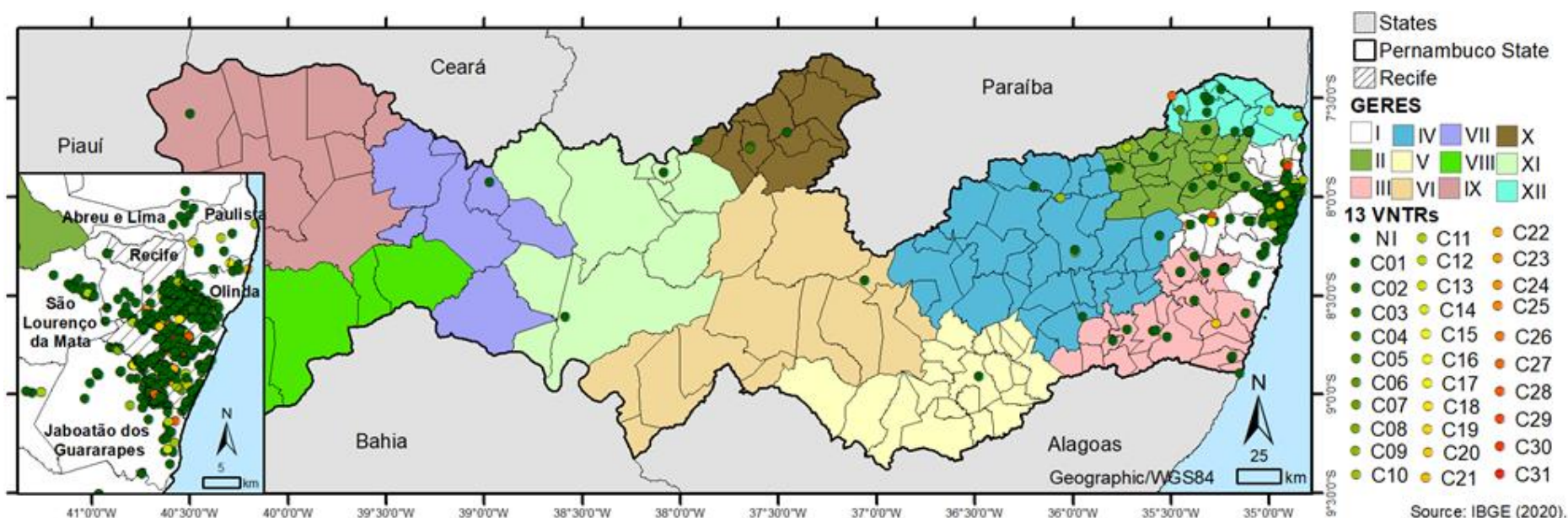
A Figura 4.20 mostra a MST com base no município de residência dos pacientes (A) e pelas Gerencias Regionais de Saúde – GERES (B), podemos observar que nos dois maiores *clusters* (C10 e C11) a participação de pacientes que residem em outros municípios (C10: 30,5%; n=11/36 e C11: 20,5%; n= 8/39) e GERES (C10: 16,6%; n=6/36 e C11: 10,3%; n=4/39).



**Figura 4.20.** Árvores MST com base nos *clusters* formados utilizando 13 VNTRs mostrando: (A) pacientes com relato de residência no Recife e outros estados do Pernambuco, (B) localização pelas gerencias regionais de saúde - GERES. Na figura (A) apresentam-se todos os municípios de onde provieram os pacientes do estudo, na figura (B) apresentam-se as GERES para Pernambuco de onde localizam-se os pacientes.

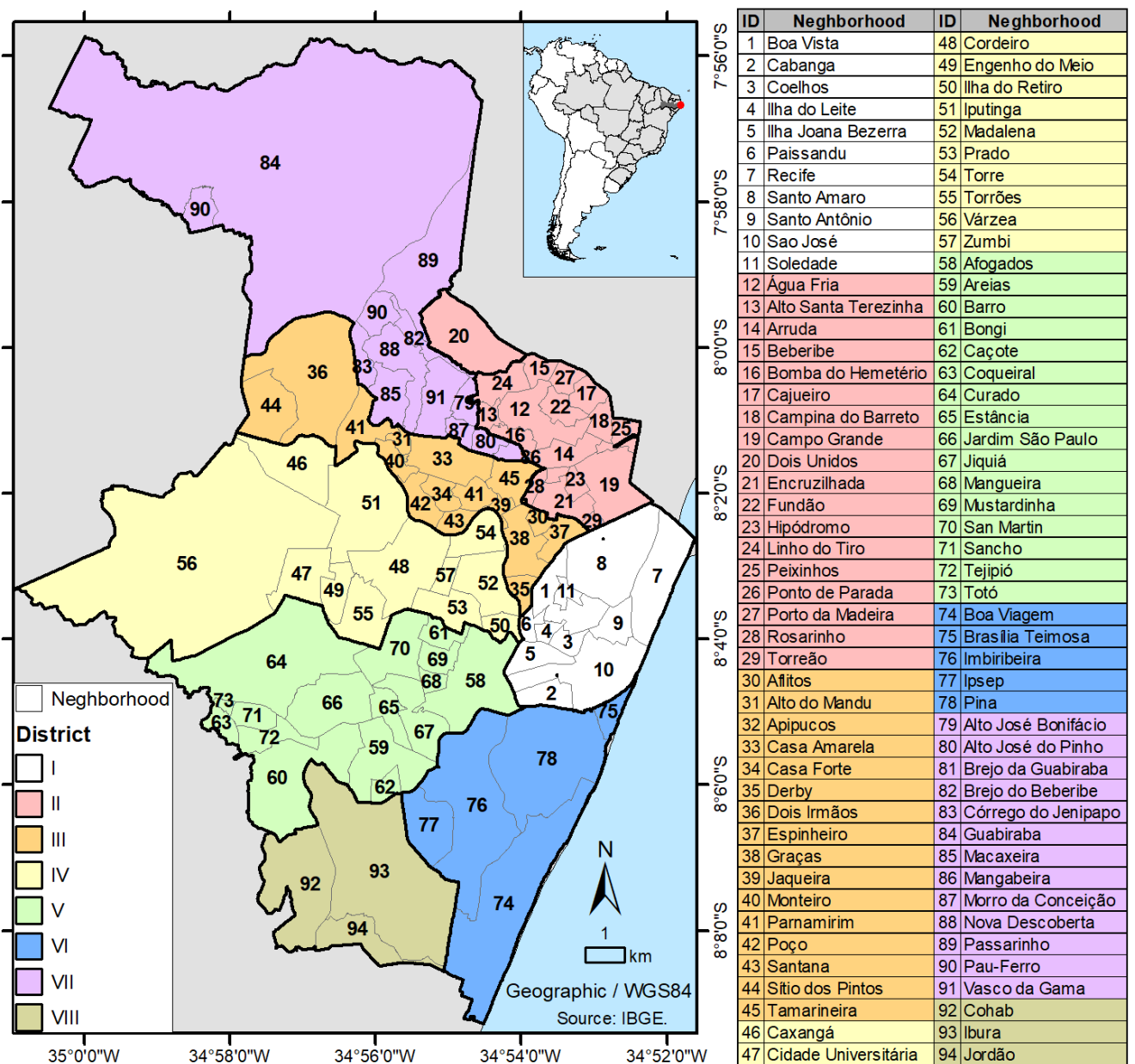
#### 4.3.3.2. Análises de geolocalização considerando o estudo de 13 VNTRs

A Figura 4.21 mostra os 31 *clusters* obtidos mediante análises com 13 VNTRs (em escala de cor de verde até laranja) organizados de acordo com as GERES no estado de Pernambuco, pode-se visualizar a maior concentração destes *clusters* nos municípios de Recife, Olinda, Jaboatão dos Guararapes, São Lourenço da mata, Abreu e Lima e Paulista.



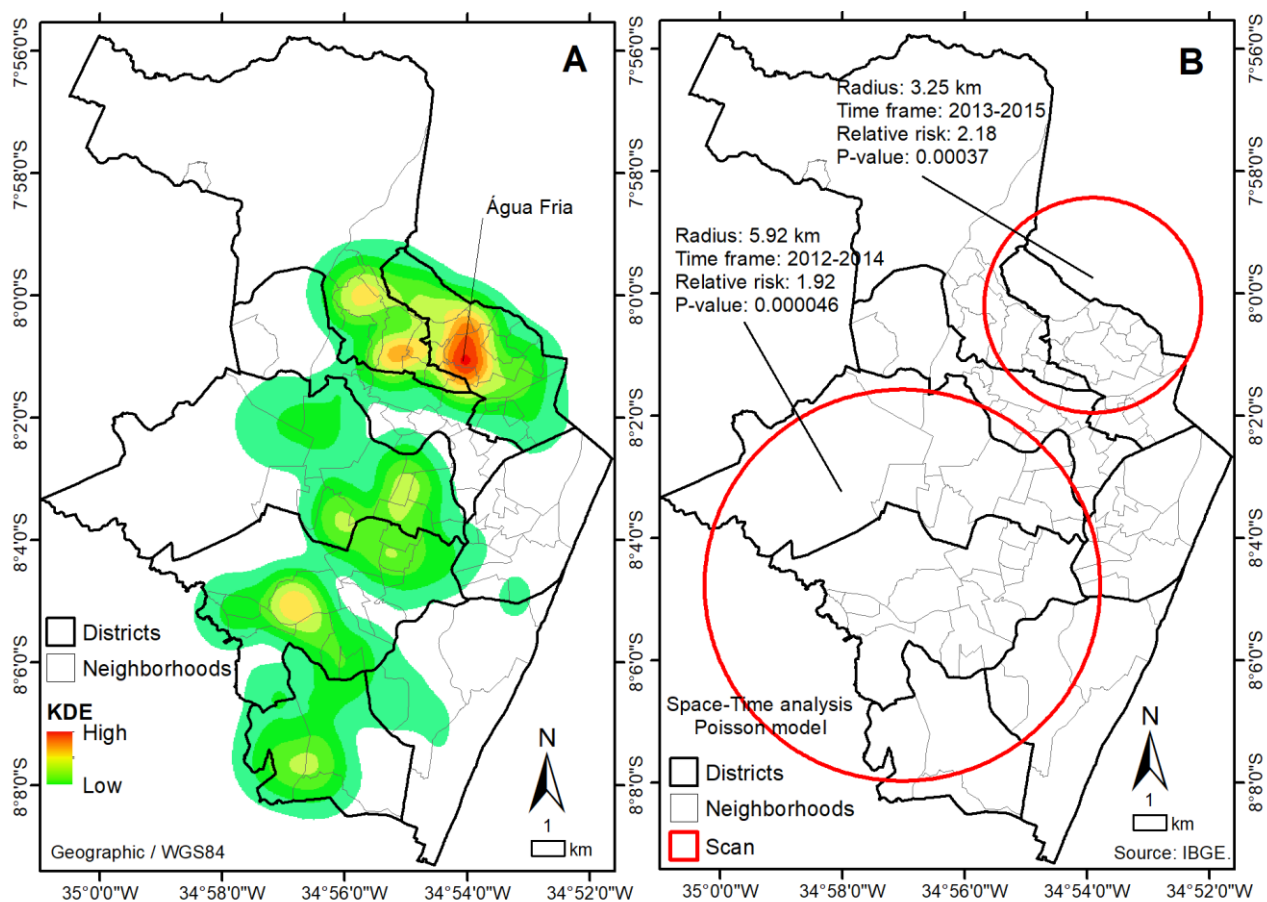
**Figura 4.21. Pacientes em *cluster* e não *cluster* com 13 VNTR localizados espacialmente no estado de Pernambuco pelas GERES.** Apresentam-se diferentes cores e intensidades para os diversos *clusters* obtidos com a análise com 13 VNTRs, NI corresponde a pacientes sem informação para esta classificação. Também se apresentam com diferentes cores as delimitações no mapa referentes aos GERES para Pernambuco.

As próximas imagens são referentes apenas aos pacientes que moram em Recife (n=254/343) para a análise com 13 VNTRs, o município de Recife possui 94 Bairros que estão distribuídos em 8 Distritos Sanitários (DS) como apresentados na figura 4.22, a partir deste ponto as análises serão baseadas nesta distribuição apresentando a delimitação dos distritos sanitários.



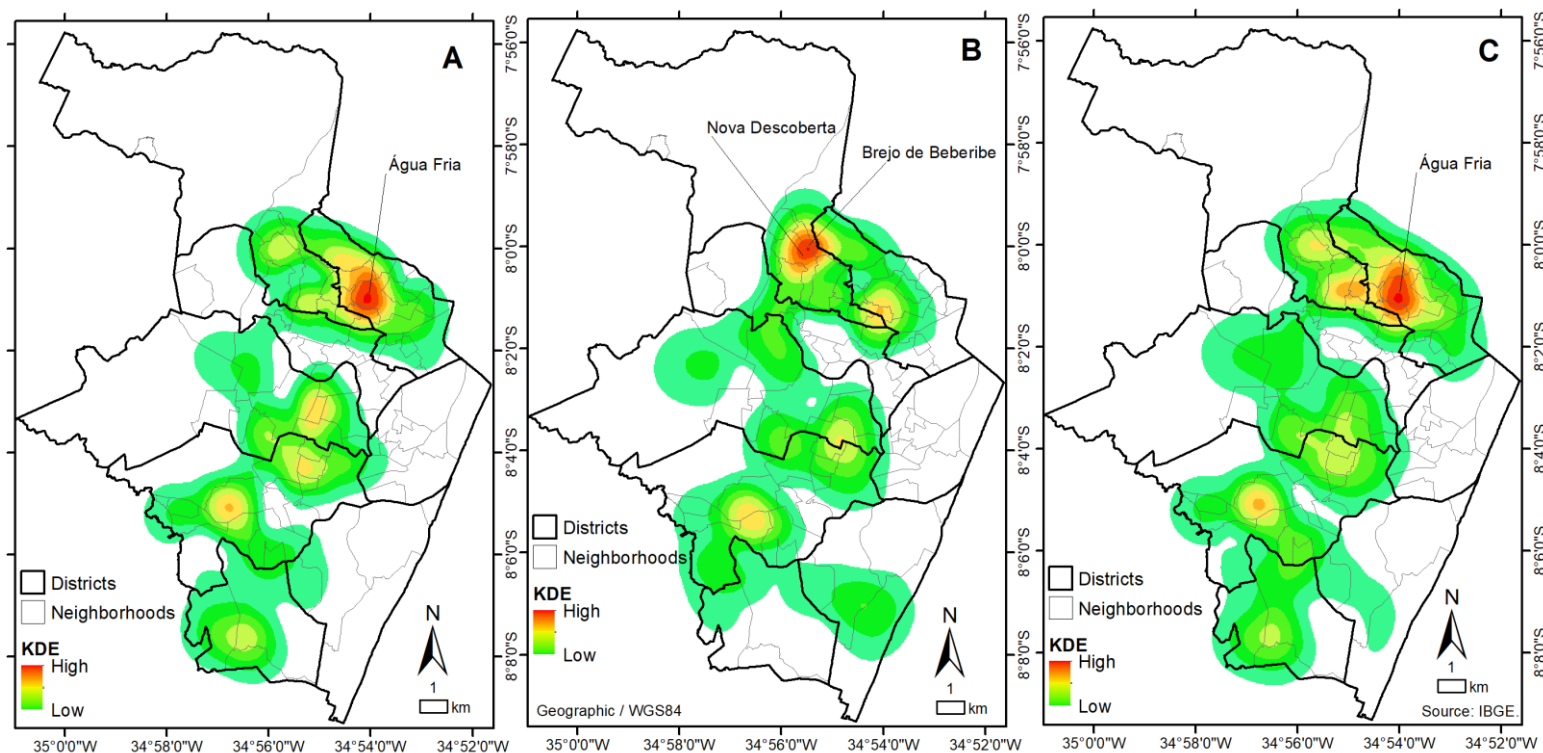
**Figura 4.22.** Mapa de área de estudo por Distrito e bairros do Recife. Apresentam-se em diferentes cores os distritos de Recife e os números mostram a localização dos bairros de Recife no mapa.

Na figura 4.23-A se mostra um aglomerado de alta densidade (em cor vermelho) mediante a ferramenta de análise de densidade de aglomerados de Kernel, no bairro Água Fria localizado no DS II do Recife; referente a totalidade de pacientes que relataram residir em Recife. Na figura 4.23-B apresenta-se um estudo de varredura espacial mediante ao uso da ferramenta de geolocalização espacial Scan, mostrando a presença de dois aglomerados (círculos vermelhos); sendo o primeiro localizado nos distritos IV, V, VI e VIII - no período de 2012-2014 e o segundo entre os distritos II e VII - no período de 2013-2015 dos anos do estudo.



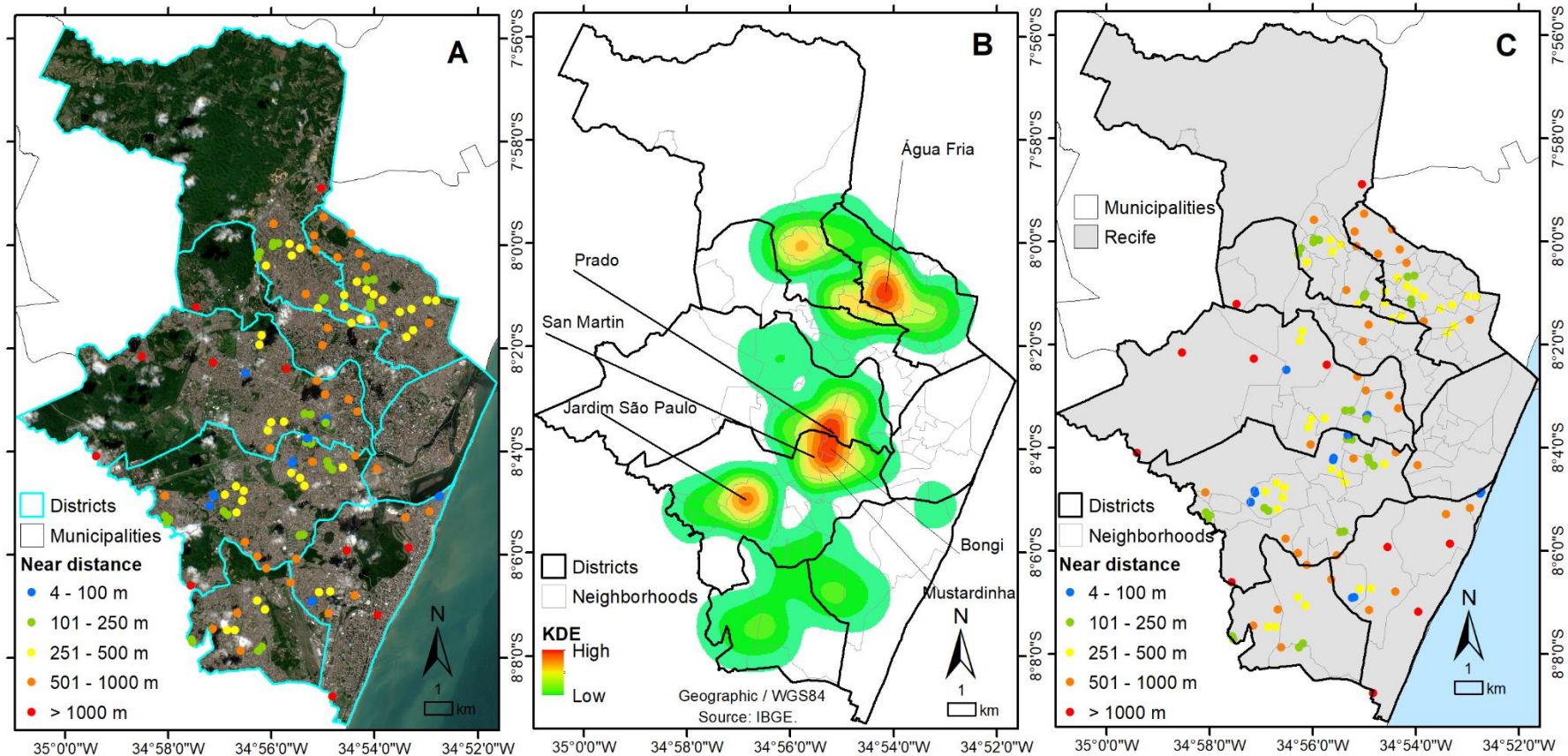
**Figura 4.23. Análises dos pacientes avaliados neste estudo concentrados no Recife; A:** aplicação da análise do Kernel apresentando aglomerados de alta densidade, **B:** aplicação da análise de varredura espacial – Scan, apresentando aglomerados nos períodos de 2012-2014 e de 2013-2015 dos anos do estudo, no Recife com a delimitado pelos DS.

Na figura 4.24-A foi observado um aglomerado de alta densidade (vermelho) no bairro da Água Fria/Distrito II para os casos MB; outros aglomerados de média densidade (amarelo/laranja) nos distritos IV, V e VIII. Na figura 4.24-B pode-se observar um aglomerado de alta densidade dos casos PB nos bairros Brejo de Beberibe e Nova Descoberta/Distrito VII; outros aglomerados de média densidade (amarelo/laranja) nos distritos II, IV e V. Na figura 53-C apresentasse um aglomerado de alta densidade dos casos com presença de lesões no bairro da Água Fria/Distrito II; outros aglomerados de média densidade (amarelo/laranja) nos distritos V e VIII.



**Figura 4.24. Análises de Kernel para os pacientes deste estudo localizados no Recife segundo classificação pelo IB e presença de lesões; A: pacientes MB, B: pacientes PB e C: pacientes com presença de lesões. Mostra-se em cada caso a densidade de aglomerados de pacientes da análise com 13 VNTRs respeito as características antes descritas, localizados no Recife com a delimitado pelos DS.**

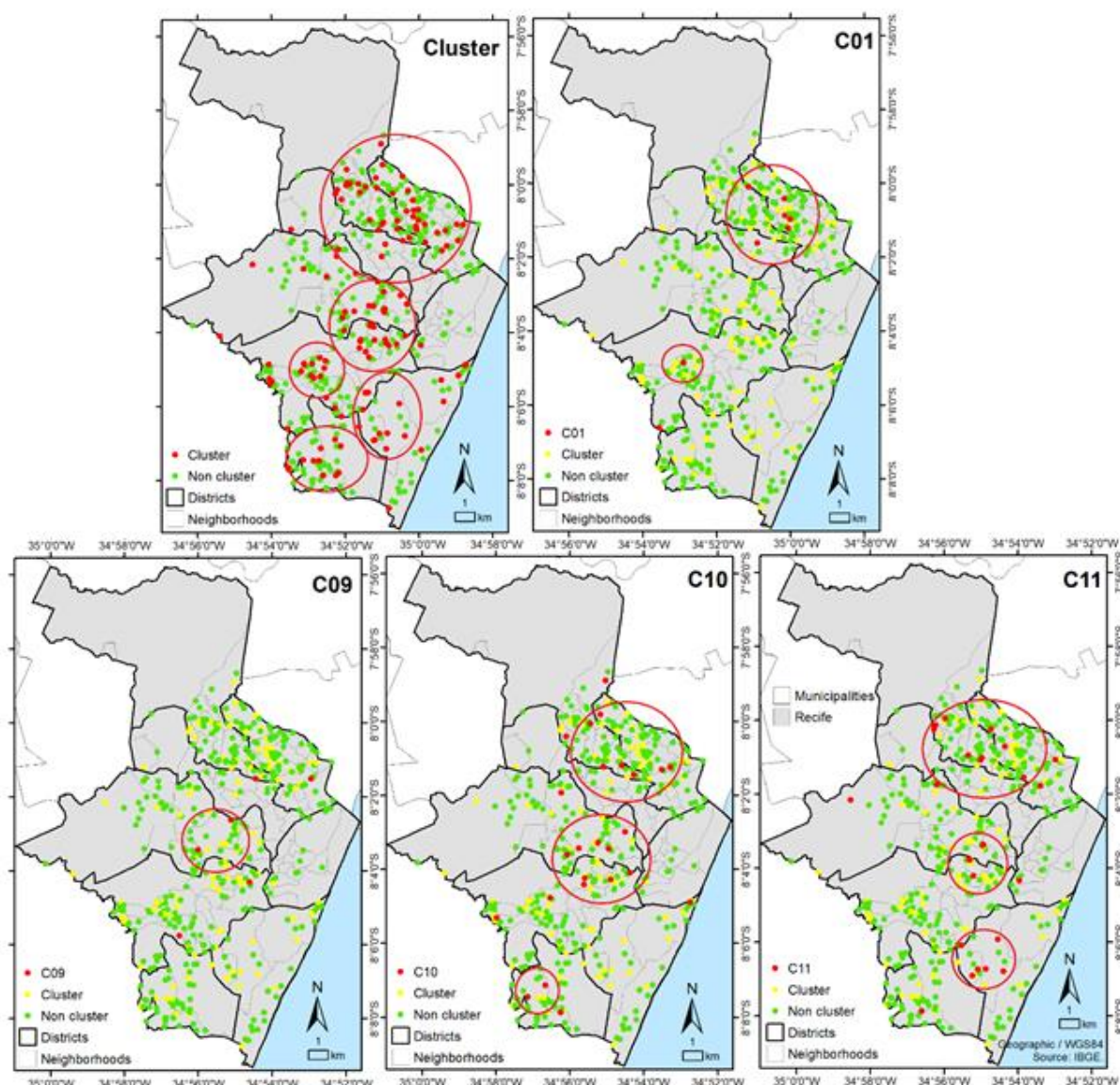
Na figura 4.25-A se observa um mapa de distância com imagem de satélite que varia entre 1 caso de os pacientes em *cluster* com análise de 13 VNTRs, até o seguinte *cluster* mais próximo, com distância mínima observada de: 4.8 m, média: 470.6 m e máxima: 2.986,5 m, considerando uma distância de desviação estandar de 493.5 m. O padrão de distância de 100m apresentada na figura, foi proposta devido a que seria a medida de um "quarteirão/quadra/ou bloco residencial" no Brasil. Na figura 4.25-B se mostra um mapa com análise de Kernel para os *clusters* obtidos com a análise de 13 o mais VNTRs identificando-se aglomerado de alta densidade no bairro Água Fria/Distrito II; Prado/Distrito IV; Bongoi, San Martin, Mustardinha e Jardim São Paulo/Distrito V. Na figura 4.25-C se observa o mesmo mapa da figura 54-A sem imagem de satélite para visualizar claramente os distritos e bairros onde localizam-se os pacientes em *cluster* para a análise com 13 o mais VNTRs.



**Figura 4.25.** Análise espacial dos isolados em *cluster* mediante avaliação de 13 o mais VNTRs, A; mapa de distância com imagem de satélite, B; análises de Kernel apresentando aglomerados de alta densidade, C; mapa de distância com delimitação de distritos do Recife. Nas imagens A e C foi calculada e apresentada as diferentes distâncias entre os isolados em *cluster* para a análise com 13 VNTRs, localizados no Recife. Na imagem B só se apresenta a análise de densidade de Kernel para os isolados em *cluster* com a análise de 13 VNTRs, localizados no Recife.

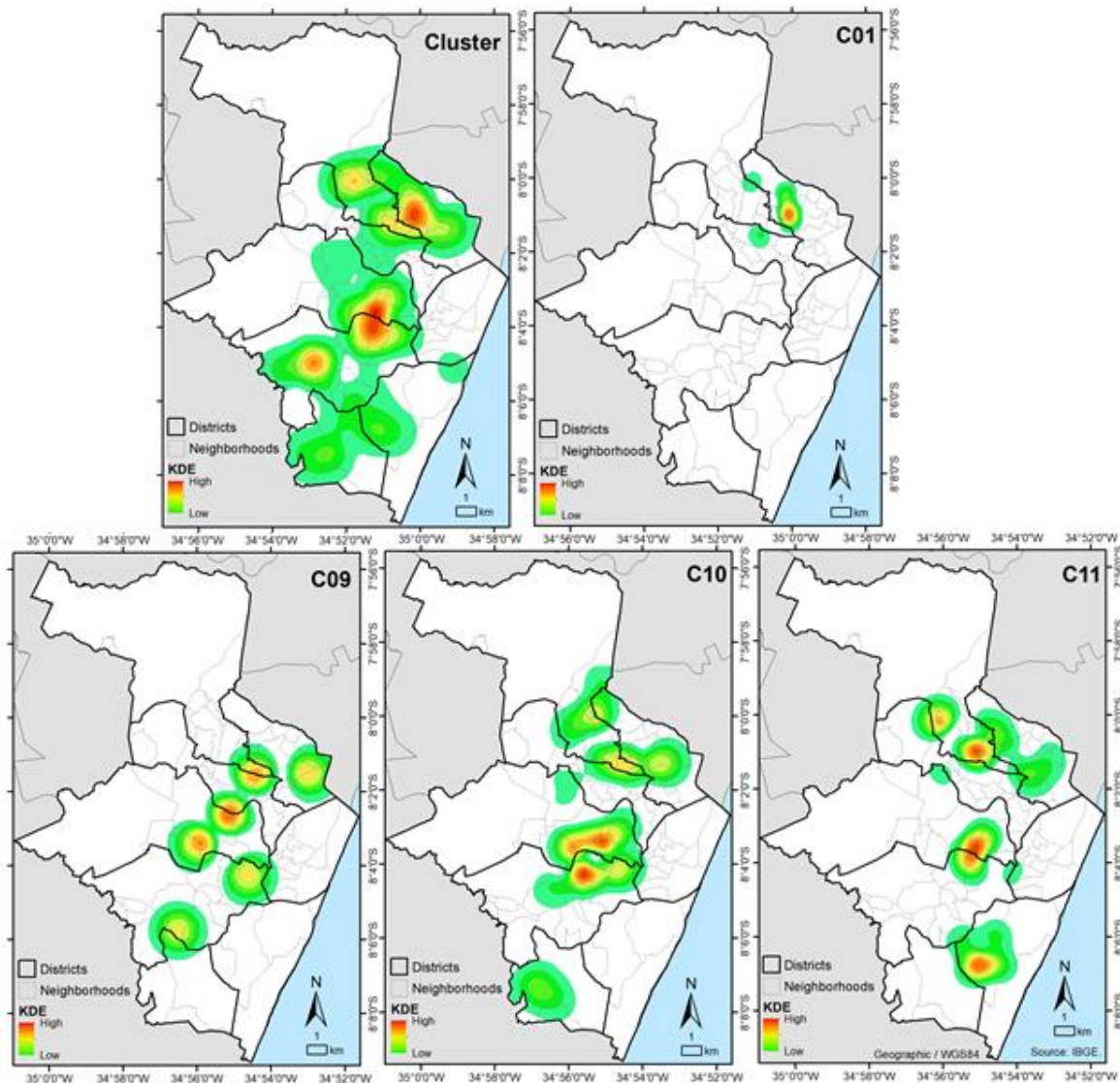


Na figura 4.26 pode-se observar os mapas de localização espacial para os cinco maiores *clusters* e para os pacientes que não estão em *clusters*; obtidos a partir da análise com 13 VNTRs. Pode se verificar da esquerda para a direita e de cima para baixo, nos círculos vermelhos as áreas de concentração e localização mais comuns para os isolados que compõem cada um dos quatro maiores *clusters*, como o mencionado na figura 4.25 os bairros com maior densidade deglomeração são; Água Fria, Prado, San Martín Bongi e Mustardinha.



**Figura 4.26. Distribuição espacial dos *clusters* obtidos mediante análise com 13 o mais VNTRs: todos os *clusters* e os quatro maiores *clusters*; C01, C09, C10 e C11. Com os círculos vermelhos destacasse as regiões nas que apresentam comunmente aglomerados de todos os pacientes em *cluster* e os pacientes que compõem cada um destes quatro maiores *clusters*, localizados no Recife.**

Na figura 4.27 se observam os mapas de formação de aglomerados mediante análise de Kernel para todos os *clusters* e os quatro maiores *clusters* obtidos na análise com 13 VNTRs, da esquerda para a direita e de cima para baixo, apresentando-se as áreas de maior localização de aglomerados em vermelho correspondente com o sinalizado na figura 4.26, sendo comumente os bairros de Água Fria, Prado, San Martín Bongi e Mustardinha os que apresentam maior densidade populacional de doentes. No caso do *cluster* C01 os aglomerados de alta densidade parecem estar restritos apenas ao bairro de Água Fria, localizado no distrito sanitário II, segundo a figura 4. 22, já para o *cluster cluster* C09 os aglomerados de alta densidade se apresentam nos bairros Cordeiro, Torrões, Afogados e Alto José do Pinho, pertencentes aos distritos sanitários IV, V e VII. No caso do *cluster* C10 os aglomerados de alta densidade se apresentam nos bairros Prado, Torrões, San Martín e Alto José do Pinho, pertencentes aos distritos sanitários IV, V e VII, e para o último *cluster* C11 os aglomerados de alta densidade se distribuem entre os bairros Prado e Zumbi, Imbiribeira e Ipsep, Córrego do Jenipapo e Nova descoberta, Morro da Conceição e Vasco da Gama, localizados nos distritos sanitários IV, VI e VII.



**Figura 4.27.** Análise de Kernel de formação de aglomerados dos *clusters* obtidos mediante análise com 13 o mais VNTRs: todos os *clusters* e os quatro maiores *clusters*; C01, C09, C10 e C11. A cor vermelha na análise de Kernel indica a maior densidade de aglomerados no local, assim para cada caso avaliado; todos os pacientes em *cluster* e cada um dos quatro maiores *cluster*, se corrobora mediante esta ferramenta de georreferenciamento os focos de concentração de pacientes em *clusters* para a análise com 13 VNTRs.

O desenvolvimento deste trabalho teve como foco compreender as características clínicas e epidemiológicas da hanseníase no estado de Pernambuco, especialmente na Cidade de Recife capital do estado. O conjunto de pacientes com diagnóstico de hanseníase que foram convidados e aceitaram participar deste estudo, apresentaram características clínico epidemiológicas semelhantes tanto para o estado de Pernambuco como um todo quanto para a cidade de Recife segundo Boletim Epidemiológico de Saúde (Boletim Epidemiológico de Saúde, 2020). Os resultados mostraram que em alguns casos os dados foram comparáveis ou semelhantes com dados globais como por exemplo, em relação a prevalência mundial de hanseníase (Figura 1.2), que teve nos anos de 2013 e 2014 o maior número de casos notificados, similar resultado foi apresentado em nossa população de estudo (Tabela 4.2). Os anos da coleta/entrevista com a maior frequência de casos registrados foram de 2012 até 2015 (23,0%; 18,5%; 21,8%; 19,5%; porcentagem de pacientes incluídos no estudo, respectivamente para cada ano). O Boletim Epidemiológico de 2021 do Ministério da Saúde, apresenta maior semelhança com nossos dados (Figura 1.4), mostrando uma taxa de detecção geral de casos novos de hanseníase por 100.000 habitantes para a região nordeste maior entre os anos 2010 até 2015, nosso estudo teve início no ano 2012, e observamos os maiores registros de casos até 2015 (Tabela 4.2).

Em nosso estudo a maior frequência de casos de acordo com o índice baciloscópico (Tabela 4.2) foi de multibacilares (56,4%), compatíveis com a proporção de casos novos multibacilares para a região nordeste do Brasil, entre os anos 2010 até 2019 (Figura 1.6), e a quantidade de número de casos novos de hanseníase segundo classificação operacional em Recife entre 2018 a 2020, foi similar ao observado na região nordeste de acordo com dados do Boletim epidemiológico (Figura 1.4).

Para este estudo, as maiores frequências dos casos são de homens (73,3%) pardos (59,8%) com uma faixa etária de 15 a 59 anos (74,3%), sendo estes dados compatível aos apresentados no Brasil entre 2015 e 2019, como apresentado no Boletim Epidemiológico (Figura 1.7).

Para o indicador epidemiológico de escolaridade, as maiores frequências de casos declararam ter ensino fundamental 2 incompleto (26,7%), com uma alta frequência de analfabetos (14%), similar ao registrado no Guia para o Controle da Hanseníase do Ministério de Saúde do Brasil de 2013 e 2020, com a maior proporção de casos novos de hanseníase com

ensino fundamental incompleto (35,4%) seguido de casos com ensino médio completo (11,2%) e analfabetos (7,7%).

Em nosso estudo, 3,9% (n=27/685) dos pacientes que informaram sua idade tinham menos de 15 anos; semelhante aos dados de menores de 15 anos (Figura 1.24) obtidos de registros do Boletim Epidemiológico, para 2018 até 2021 (Figura 1.8). Pernambuco é o quarto estado com o maior número de casos totais de menores de 15 anos com hanseníase no Brasil (Figura 1.9), segundo Boletim Epidemiológico, 2021. A existência de menores de 15 anos com a doença indica comumente a ocorrência de transmissão recente da infecção, em alguns casos devido ao contato domiciliar com pacientes com as formas multibacilares da hanseníase que não estão sendo devidamente tratados (Cambau, Saunderson e Gillini, 2019).

O indicador de frequência de casos em município de residência, mostra um maior número de casos registrados no Recife (74,4%) isto deve-se ao fato da coleta das amostras ter sido realizadas exclusivamente no Laboratório Municipal de Saúde Pública do Recife, que atende toda a região metropolitana de Recife. Os outros casos (25,6%) apresentados na figura 4.20-A mostram 67 outros municípios o que representa 36,2 % dos municípios de Pernambuco. No período do estudo os anos com os maiores números de casos foram 2012 e 2014, similar ao observado nos dados mostrados nos Boletim Epidemiológicos de 2018, 2019 e 2020.

Antes de iniciarmos as análises dos dados dos pacientes do presente estudo, acreditávamos que a coleta do material biológico fosse exclusivamente de pacientes com primeiro diagnóstico, entretanto, cerca de 10% dos pacientes relataram tratamento(s) anterior(es) para hanseníase, para estes casos consideramos falha terapêutica, aqueles pacientes que declararam ter tratado a doença em um intervalo superior há 12 meses e inferior a 24 meses antes da data de coleta/entrevista (5,6% n=40/708) e, como recidiva/reinfecção pacientes que relataram tratamento anterior superior há 24 meses antes da coleta/entrevista (4,3% n=31/708). Outra ressalva importante foi o achado de quatro casos classificados como abandono terapêutico (0,6% n=4/708). Importante ressaltar casos como os dos pacientes que compõe a classificação do cluster C0.1.1 na análise de 16/17 VNTRs que relataram primeiro tratamento aos 19 anos de idade (26 anos entre os dois diagnósticos). Estes valores são compatíveis ao registrado na Guia para o controle da hanseníase do ministério de saúde do brasil de 2013 e 2020, que relatou uma maior quantidade e proporção de casos de hanseníase para Pernambuco segundo modo de entrada: casos novos (78,6%; n=11.441), seguido de outros ingressos 7,7% (n=1.127) e de casos de recidivas 6,2% (n=902), similar ao apresentado no Boletim Epidemiológico para os anos 2018, 2019 e 2020, tanto na população geral como nos menores de 15 anos (Figura 1.23), em que a maior proporção são casos novos seguido de casos de

recidiva e outros ingressos o que sugere que estas classificações de pacientes podem ser resultado de falha terapêutica e/ou abandono terapêutico.

---

Devido ao fato de *M. leprae* não poder ser cultivado *in vitro*, a doença não pode ser diagnosticada por técnicas baseadas no crescimento do microrganismo, e o diagnóstico da hanseníase depende dos achados clínicos e histopatológicos e da observação microscópica após coloração de BAAR. Na hanseníase da forma paucibacilar ou em estágio inicial o diagnóstico torna-se difícil devido ao baixo número de bacilos ou até ausência deles. Em geral, o limite de detecção para contagem microscópica direta é  $\sim 1 \times 10^4$  bacilos; no entanto, mesmo quando diagnosticada, a detecção da bactéria é difícil e os achados histopatológicos podem ser inespecíficos (Yan, e col., 2014). Para pacientes com BAAR negativo, a sensibilidade e a especificidade do diagnóstico podem ser melhoradas significativamente por meio de testes moleculares, um deles o PCR em tempo real (qPCR) (Martinez e col., 2006).

Quando comparamos neste estudo os resultados da quantificação do DNA bacteriano por qPCR e a BAAR dos esfregaços intradérmicos, obtivemos uma alta proporção de casos positivos para qPCR para isolados com IB=0 (85,6%; n=149), confirmando o potencial de qPCR para ajudar no diagnóstico (Manta e col., 2022 e 2019). Entretanto, observamos que ao agruparmos os pacientes descritos na baciloscopia como IB negativos e PB (IB  $\leq$  2) a positividade diminui ficando em 88,6% (Tabela 4.8), quando comparado com a média calculada (89,8%) entre os pacientes negativos (85,6%) e os PB (94%) que seria de 89,8% (dado calculado a partir da tabela 4,7), concordando dessa maneira com o dado apresentado na tabela 4.10, onde o coeficiente Kappa foi de 0,627481 quando consideramos no mesmo grupo os pacientes negativos e PB vs. MB. Desta maneira podemos concluir que o diagnóstico em pacientes com IB=0 é muito mais difícil para confirmar, entretanto, a separação entre este grupo e os PB apresenta maior evidência de confiabilidade significativa para o estudo. Estes dados são inéditos considerando o tipo de amostra clínica utilizada, pois, a maioria dos trabalhos achados na literatura utilizam biópsias de pacientes multibacilares com hanseníase (Martinez e col., 2006; Yan e col., 2014). Por exemplo, Martinez e colaboradores (2006), identificaram mediante qPCR DNA de *M. leprae* nas biópsias de pacientes com hanseníase PB, com uma taxa de detecção de 79,2%. Outro trabalho de Yan e colaboradores (2014), que obteve resultado semelhante mostrou uma taxa de 70,8% com o teste de PCR em tempo real em biópsia de pele de pacientes PB incluídas em parafina. Barbieri e colaboradores (2019), mostra que no 58% dos casos analisados nesse estudo, não foi possível um diagnóstico conclusivo por meio de análise histopatológica; no entanto, 30% desses casos tiveram qPCR positivo (*DNA-based*

*Mycobacterium leprae* qPCR-targeting 16S gene) e a análise mostrou que a sensibilidade do teste histopatológico foi muito baixa (35%), comparada com uma análise de qPCR único, que foi mais eficaz para identificar presença de DNA de *M. leprae*, com sensibilidade de 57%.

É importante mencionar que no caso de menores de 15 anos de acordo com a recomendação da OMS, não pode ser empregada a coleta de amostra mediante biópsias (OMS, 2020). Portanto, mediante aos dados obtidos neste estudo, a possibilidade de utilizar esfregaços intradérmicos para a coleta de amostra, tanto em menores de idade como em adultos, seria extremamente interessante por ser muito menos invasivo. Importante ressaltar que ao utilizar esfregaços intradérmicos fixados em lâmina de microscópio, pode-se destacar: menor manutenção e transporte mais simples e eficiente das amostras coletadas dos pacientes, além disso, o processo de extração seria de baixo custo quando comparado aos kits empregados para a extração de DNA bacteriano a partir de biópsias ou de linfa coletada em etanol. Além disso, supomos (e inferimos a partir dos dados apresentados no trabalho de Fontes e colaboradores de 2012) que este tipo de coleta e extração do DNA pode evitar as dificuldades inerentes a presença de quantidade considerável de DNA humano que interfere na pureza da amostra que será avaliada nos testes moleculares para a detecção e genotipagem da micobactéria causadora da enfermidade (Fontes e col., 2012). Utilização deste tipo de amostra também facilitaria o monitoramento da transmissão da infecção em locais com alta endemicidade e possível transmissão intradomiciliar da hanseníase.

Os resultados atuais apontam que o qPCR permite avaliar a quantidade de DNA, estimando número de bacilos na amostra (genomas), o que o torna uma ferramenta de triagem não somente para o MLVA, que foi o objetivo inicial da utilização desta técnica no presente estudo, mas também para seleção de amostras a serem submetidas a técnicas moleculares em geral, inclusive para detecção de resistência drogas por sequenciamento convencional ou até para métodos desenvolvidos baseados em sequenciamento de nova geração. Tal fato torna esta tecnologia eficiente para o estudo de uma população com frequência alta de amostras paucibacilares (incluindo ou não os BAAR negativos).

Da mesma forma a avaliação massiva em um grupo tão grande de pacientes (n=709), permitiu inferir valores que contribuíram para a confirmação do diagnóstico clínico; considerados como amostras positivas as que apresentaram para um ou os dois alvos (*16S* e *Rlep*),  $Ct \leq 38,5$  para *16S* e  $Ct \leq 35,5$  para *Rlep* (correspondente a aproximadamente (~3) três genomas segundo ao alvo *16S*), tornando-as validas para próximos estudos moleculares (Manta e col., 2022; Martinez e col., 2006).

Testes moleculares para detecção de resistência seguindo recomendações do OMS inicialmente descartavam a inclusão de amostras com  $IB \leq 2$  (Tabela 4.7), considerado

desnecessários por incrementar o custo do inquérito, já que importância da resistência neste grupo não era clara (OMS, 2020). Entretanto, reuniões e publicações mais recentes já sugeriram a inclusão de amostras com IB <2 (Li e col., 2021). Portanto, destaca-se a importância da qPCR, uma vez que pode ser uma ferramenta auxiliar para definir elegibilidade de amostras para continuidade das análises epidemiológicas, evitando o desperdício de amostras e insumos utilizados em técnicas moleculares de tipagem como o MLVA.

---

A sabida existência da baixa variabilidade genética para o genoma de *M. leprae* como inicialmente relatado nos trabalhos de Matsuoka e colaboradores (2000) e de Shin e colaboradores (2000), com o recente refinamento feito pelo trabalho de Benjak e colaboradores, que revelou nove linhagens distintas ou ramos de *M. leprae*, e subdivisão de alguns dos 16 subtipos SNP anteriormente descritos (Benjak e col., 2018; Avanzi e col., 2020) deu início a estudos de genoma que levaram ao reconhecimento da complexa estrutura filogenética desta espécie. Em vez de realizar sequenciamento de genomas completos, a análise combinada de alguns tipos de marcadores (basicamente SNPs, InDels e micro e minissatélites), se mostrou válido como base metodológica para o estudo tanto da genética quanto da biologia de *M. leprae*, possibilitando a descrição da existência de genótipos geográficos específicos e estudos de transmissão, tanto entre familiares (Xing e col., 2009) quanto na sociedade ou comunidades (de Fontes e colaboradores (2017). Além de comprovar transmissão recente através da detecção de pacientes infectados por bacilos com mesmo genótipo, busca-se nas divergências genéticas entre populações de bacilos que infectam diversos pacientes estabelecer grupos associáveis a características epidemiológicas, clínicas ou geográficas de indivíduos possivelmente relacionados.

Fontes e colaboradores (2017) relataram que, embora estudos sobre a variabilidade genética do *M. leprae* tenham sido conduzidos em várias regiões endêmicas para hanseníase, na maioria dos casos as informações epidemiológicas detalhadas encontravam falhas, com algumas exceções, como o trabalho de Xing e colaboradores (2009), em Qiubei - China, que demonstraram a presença de tipos de cepas intrafamiliares, o trabalho de Weng e colaboradores (2011), também apresentou diferenças regionais no agrupamento. O trabalho de Fontes e colaboradores foi uma tentativa pioneira para a compreensão dos fatores de risco para transmissão da hanseníase, utilizando a análise combinada de 17 VNTR e 4 SNP para a tipagem de *M. leprae* em amostras de biópsia de pele de casos novos de hanseníase multibacilar, estes



diagnosticados em um Centro de Referência em uma das cidades da região nordeste do Brasil (Fortaleza-Ceará).

No presente estudo a diferença no nível de agrupamento usando os 17 VNTRs vs. uma restrição com 13 VNTRs é notável (0,2% vs. 25,2% respectivamente) dessa maneira pode-se sugerir que o alto nível de agrupamento pode representar transmissão recente e, sendo, portanto, o principal fator para o desenvolvimento da hanseníase entre os pacientes avaliados entre os anos 2012 até 2017 em Recife-Pernambuco. A restrição proposta para este estudo corresponde aos quatro *loci* [(TA)18, (AT)15, (AT)17 e (TTC/ GAA)21] que apresentaram um alto poder discriminatório, com um HGDI superior à 0,8.

O número de bacilos de *M. leprae* no corpo humano pode chegar a  $10^{12}$ , portanto, diferenças no número de cópias devido ao maior número de ciclos de replicação durante o desenvolvimento da hanseníase é uma realidade. Assim, o rigor na definição da estringências da análise para definição de genótipos idênticos depende de alguns fatores e merece uma análise região-endêmica- específica. Nossos dados atingiram uma estringências parecida a de Fontes e colaboradores (2017), possivelmente por se tratar de estudos parecidos em regiões próximas do Brasil, mas diferente daqueles usados por Sharma e colaboradores (2015) e Lavania e colaboradores (2015), que consideraram para cluster um número de VNTR menores. Por outro lado, Lavania e colaboradores, ao usarem uma abordagem de tipagem idêntica, observaram 66 perfis ou genótipos diferentes entre 70 pacientes com hanseníase. Conforme sugerido antes, embora a representatividade da amostra e outras variáveis possam influenciar fortemente os níveis de agrupamento, a diferença entre os dois estudos é notável e pode ser devido a diferenças na dinâmica de transmissão.

No trabalho de Fontes e colaboradores, o 87% dos 157 pacientes eram do SNP tipo 4, e dos 17VNTR, se apresentaram 156 genótipos diferentes e somente três pares com genótipos idênticos foram observados; nenhuma relação epidemiológica foi observada entre os indivíduos desses pares. Os marcadores com maior  $h > 0.8$  foram os mesmos do presente estudo [(AT)15, (TA)18, (AT)17 e (GAA)21]. Já foi demonstrado ao comparar genótipos de isolados presentes em muco nasal e biópsia de pele de um mesmo paciente, que estes *loci* apresentam diferenças no número de cópias (Fontes e col., 2017), o que sugere que estes marcadores podem atrapalhar, quando utilizados para verificar transmissão recente. A exclusão desses marcadores da análise, no trabalho de Fontes e colaboradores, resultou em 83 genótipos, 20 dos quais incluíram 96 dos pacientes (60,3%). Esses *clusters* eram compostos por dois (n=8), três (n=6), quatro (n=1), cinco (n=2), seis (n=1), 19 (n=1) e 23 (n=1) indivíduos, fazendo com que os investigadores sugerissem que essa transmissão recente estaria contribuindo para a manutenção da hanseníase em Fortaleza. Apesar da taxa de grupamento alto, Fontes e colaboradores relataram dificuldade

para estabelecer associações específicas entre as características clínico-epidemiológicas dos pacientes e dos genótipos em cluster, devido a algumas limitações do estudo, como a ausência de pacientes PB na amostragem, falhas na coleta da informação dos pacientes, cobertura relativamente baixa da coleta. Dos 998 pacientes diagnosticados como multibacilares entre 2009 e 2010, apenas 160 foram genotipados no estudo de Fontes e col., sendo que 16,8% e 15% dos pacientes MB recém-diagnosticados para 2009 e 2010, respectivamente.

Devido a maior cobertura da presente amostragem, que abrange 709 pacientes dos quais 672 foram submetidas à PCR para amplificação dos 17 *loci* MLVA, correspondente ao 94,6% de todos os casos, (destes 48,4%; n=343/709, apresentaram genótipos com 13 o mais VNTRs) e por termos incluído pacientes com baciloscopia negativas e PB (totalizando quase o 50% da amostragem) e termos coletado material de pacientes de uma mesma região durante quatro anos, acreditamos que o presente estudo em conjunto com a abordagem utilizada, poderemos definir fatores de risco para agrupamentos.

No presente estudo, **em primeira instância**, verificamos os isolados com genótipos completos para 17 VNTRs (n=294) e verificamos a formação de 293 *singletons* e de um único cluster composto por dois isolados. Os pacientes analisados possuem moradia em Recife e Paulista, municípios com uma distância de aproximadamente 18,9 km, conforme apresentado na Figura 4.5, mediante análise de estimação de densidade de Kernel, e não apresentam relação familiar. Quando baixamos um pouco a estringências para definição de cluster em relação a este único genótipo compartilhado, observamos mais sete isolados com sete genótipos com pequenas variações, sendo um (n=1), dois (n=3) ou três (n=3) *loci* que apresentaram diferença na relação genética. A maioria destes residiam no momento da entrevista no Recife (um deste sendo o paciente que compõe o cluster C01.1, classificado como possível caso de recidiva/reinfecção, que pode se possível precursor de outros genótipos com exceção de um paciente que morava em Sirinhaém (Quadro 4.1 e figura 4.6).

As características clínico-epidemiológicas dos 294 isolados avaliados pela análise com 17 VNTR apresentaram os mesmos comportamentos em comparação aos 709 pacientes de nosso estudo, observamos também uma compatibilidade com os dados apresentados no Boletim Epidemiológico (2018 até 2020) e a Guia para o Controle da Hanseníase do Ministério de Saúde do Brasil (2013 e 2020), para Brasil, Pernambuco e Recife; pacientes hansenianos masculinos (75,2%; n=221; p=0,0032), com predominância de idades de 15 até 59 anos (73,4%; n=210), de raça parda (61,5%; n=147), com ensino fundamental 2 incompleto (28,3% n=80), relatando o primeiro diagnóstico (92,5%; n=272), mas com presença de casos recidiva/reinfecção (4,1%; n=12) e de falha terapêutica (3,1% n=9), majoritariamente diagnosticados no ano 2014 (32,7%; n=96), com presença de lesões (100% para esta categoria;

n=231), moradores de Recife (73,5%; n=216), com e com tempo de tempo de residência no endereço informado na entrevista de 11 a 20 anos (28,9%; n=80). Entre os pacientes MB também foi observada uma associação positiva/direta (frequência maior que a esperada ao acaso) para o tempo de moradia de 0-10 anos no momento do diagnóstico/entrevista (32,6%; n=72/221), com uma significância estatística para esta característica epidemiológica, com um valor de  $p=0,0242$ . O que reforça a ideia de transmissão recente no local, especificamente para casos MB, já que a progressão da doença é lenta e em média um paciente pode levar 7 anos para apresentar sintomatologia após a infecção.

As árvores de abrangência mínima para as análises com 17 VNTR mostraram a formação de três ramos com a localização do cluster no ramo superior (Figura 4.7). O que parece ser interessante, é que neste ramo também se concentram os pacientes com falha terapêutica (Figura 4.9), além dos menores de 15 anos e maiores de 60 anos (Figura 4.10). Isto sugere que a falha terapêutica e transmissão recente colaboram para a formação de agrupamento de certos genótipos e para manutenção da hanseníase nessa localidade.

Em segunda instância, estudamos as características clínico-epidemiológicas, composição genética, formação de cluster e os possíveis fatores associados à população bacteriana. Observamos genótipos formados por 13 VNTRs (exclusão dos quatro marcadores com ID > 0.8 (Tabela 4.11), além de 164 *singletons* e a formação 31 *clusters*. Os isolados em *clusters* representam 25,2% dos isolados dos totais avaliados (n=179/709) e 52,2% (n=179/343) dos genotipados com 13 o mais VNTRs. Os 31 *clusters* foram compostos por 2 até 39, 39 (n=1), 36 (n=1), 12 (n=1), nove (n=1), sete (n=1), seis (n=1), cinco (n=3), quatro (n=2), três (n=7) e dois (n=13), indivíduos.

Destacamos que alguns dos genótipos também foram reportados em outros estudos de genotipagem de *M. leprae* no Brasil, comparamos os genótipos observados e achamos correspondência com genótipos de isolados de Ceará, Pará, Rondônia e Mato Grosso (banco de dados do LABMAM). Um exemplo foi o maior cluster composto por 39 isolados com genótipo compartilhado com isolados de pacientes do Rio de Janeiro e de Ceará. Os segundo, terceiro e quarto maiores *clusters* com 36, 12 e 9 isolados, respectivamente, compartilham o mesmo genótipo com isolados de Ceará (Tabela 4.14), sugerindo a ocorrência de transmissão (recente) da hanseníase entre a população de Pernambuco e Ceará, estados que compartilham uma fronteira.

As características clínico-epidemiológicas dos 343 pacientes com 13 VNTRs analisadas estão localizados espacialmente na Figura 4.12 e apresentaram os mesmos comportamentos quando avaliados os 709 pacientes de nosso estudo, assim como com os dados apresentados no Boletim Epidemiológico (2018 até 2020) e a Guia para o Controle da Hanseníase do Ministério

de Saúde do Brasil (2013 e 2020), para Brasil, Pernambuco e o Recife, sendo em sua maioria pacientes: masculinos (76,1%; n=258), corroborando uma significância estatística com um valor de  $p=0,001$ , com idades dentre 15 até 59 anos (73,5%; n=244), de raça parda (60,8%; n=169), com ensino fundamental 2 incompleto (27,0%; n=89), em sua maioria casos novos (92,7%; n=316), com presença de casos de recidiva/reinfecção e falha terapêutica (3,5%; n=12 em ambos casos), diagnosticados principalmente no ano 2014 (30,5%; n=104), com presença de lesões (100% para esta categoria; n=263), moradores de Recife (74,5%; n=254), com um maior tempo de residência no endereço informado na entrevista de 31 ou mais anos (28,7%; n=92), mas apresentou também uma associação positiva/direta (frequência maior que a esperada ao acaso) para o início provável da doença de 0-10 anos em pacientes multibacilares (32,8%; n=82/250), apresentando uma significância estatística para esta característica epidemiológica, com um valor de  $p=0,014$ , reforçando novamente a ideia de transmissão recentes no local, e finalmente foram localizados maioritariamente pacientes no GERES I (88,5%; n=284) (Tabela 4.13).

Além da análise das características clínicas-epidemiológicas dos pacientes incluídos no grupo de “13 VNTRs”, verificamos possíveis diferenças das mesmas entre (i) pacientes pertencentes a qualquer cluster versus pacientes que não pertencem a cluster e (ii) os grupos pertencentes a seleção de cada um dos maiores cluster versus (iia) grupos de isolados que não estão nestes *clusters* em particular (iib) pacientes que não pertencem a nenhum cluster. Com esta abordagem, acreditamos que esgotamos todos os tipos de análises possíveis para achar fatores de risco para (i) transmissão recente em geral e (ii) visualizar possíveis razões por pertencer a determinados cluster. Acreditamos que esta primeira abordagem (i) poderia revelar qualquer fator de risco, apesar de correr o risco de que os dados (a través destas comparações), que indicassem que uma das características avaliadas poderia ser um fator de risco, poderiam ter sido “diluídos” devido a fatores de risco próprios dos *clusters* individuais, acreditamos que todas estas comparações (ii) permitiriam detectar razões específicas para pertencer a um surto mais específico, os chamados “*outbreaks*” observados em outras doenças micobacterianas.

Inicialmente a abordagem do estudo estava focada em achar a possível formação de um cluster que estivesse associado a uma ou várias das características clínico-epidemiológicas desta população de pacientes, mas mediante do desenvolvimento do trabalho foram visualizados diversos *clusters* e por isso (i), foi proposta a comparação de cada um dos maiores *clusters* com as diversas variáveis populacionais acima mencionadas, a fim de tentar identificar alguma diferença estatisticamente significativa que nos permitisse justificar a presença, formação e transmissão deste grupo de genótipos entre esses pacientes. Durante a abordagem

quando realizamos a comparação de cada um dos grupos de maiores cluster vs. grupos de isolados em cluster e não cluster restantes, todos apresentaram em cada uma de suas características as mesmas distribuições antes mencionadas para o total de isolados com 13 VNTRs, com significância estatísticas para as características epidemiológicas de ano da coleta/entrevista (quando comparados todos os pacientes em cluster vs. não cluster), o que pode indicar que nesses anos foi feita uma notificação adequada da doença, diferente dos outros anos em que poderia haver baixa notificação. Quando comparamos os pacientes em cluster C10 vs. não cluster, se registrou significância estatística para a característica de tempo de tempo de residência no endereço informado na entrevista, resultado similar ao observado quando comparado os pacientes que compõem o cluster C10 vs. os pacientes restantes do cluster e não cluster. No caso do cluster C11 observou-se significância estatística para a característica epidemiológica de idade e ano da coleta/entrevista, quando comparados os pacientes que compõem o cluster C11 vs. pacientes em cluster e não cluster restantes, observa-se significância estatística só na característica epidemiológica de idade, o que pode indicar que transmissão ativa o recente da enfermidade entre os pacientes que compõem o cluster.

Finalmente ao comparar os pacientes que compõem os cluster C10 e C11 vs. pacientes não *clusters* e vs. pacientes em cluster e não cluster restantes, observou-se significância estatística ao agrupar os pacientes PB com os negativos comparados com os MB, também na classificação terapêutica de ano da coleta/entrevista, o que corrobora o fato de correlação entre estes dois grandes *clusters*, permitindo-nos pensar que possivelmente um desses *clusters* seja o grupo ancestral do outro, devido a sua alta semelhança e relação estatística entre as características dos pacientes que os compõem (como apresentado nas tabelas 4.15 até 4.26) mantendo sua semelhança com os dados do Boletim Epidemiológico (2018 até 2020) e a Guia para o Controle da Hanseníase do Ministério de Saúde do Brasil (2013 e 2020), para Brasil, Pernambuco e o Recife.

Com as análises realizadas utilizando as árvores de abrangência mínima apresentou-se na Figura 4.13, a localização dos *clusters* obtidos com a análises com 13 VNTRs na distribuição da árvore de abrangência mínima para a análises com 17 VNTRs, mostrando-se a concentração da maioria destes *clusters* no ramo superior onde apresentou-se o cluster da análise com 17 VNTR, corroborando com a estrutura de agrupamentos dos *clusters* com 13 VNTR que se mantem quando utilizada a estrutura de 17 VNTR, permitindo garantir que a seleção proposta de (13 VNTR) não modifique o comportamento da população com a análise original de 17 VNTRs. Além disto, na MST para 13 VNTRs apresenta-se um ramo superior (Ramo I) que apresenta similaridade com os genótipos de isolados classificados como SNP tipo 4 (SNP-4) o

ramo inferior (Ramo II) com amostras classificadas de SNP tipo 3 (SNP-3), quando comparamos os perfis do banco nacional e mundial de genótipos construído no LABMAM (dados não publicados), o que sugere maior transmissibilidade no Ramo I (SNP-4) quando comparado com o Ramo II (SNP-3) nesta população de estudo. Os VNTRs que definem e separam estes dois grupos são 12-5, 18-8, 27-5 e TA10, o que sugere relação destes VNTRs com linhagens específicas determinadas por SNPs.

Observamos também neste trabalho as árvores de abrangência mínima utilizando 13 VNTRs mostrando os diferentes *clusters* (Figura 4.14), com o objetivo de verificar como a estrutura das duas árvores se relacionavam. Para isto foi construída a MST utilizando 17 VNTRs com base nos *clusters* formados com 13 VNTRs (figura 4.13), os dados mostraram a que maioria e os maiores *clusters* concentra-se no Ramo I, onde também se concentravam os pacientes MB (Figura 4.15), e os pacientes menores de 15 anos, concentraram-se especificamente nos maiores cluster (C10 e C11; figura 4.16). Em relação aos casos de FT a maioria dos casos concentraram-se C10 (sem relação aparente com os casos MB, já que no C10 concentram-se o 75% dos casos; n=27/36 e no C11 concentram-se o 82,1% dos casos; n=32/39), com a presença de um paciente com R/R. No cluster C11 observou-se também um caso de R/R (Figura 4.17). Estes dados em conjunto sugerem fortemente possíveis características dos pacientes associadas a maior transmissão, indicando a recente transmissibilidade de hanseníase, possivelmente devido a estes dois últimos indivíduos (cada um dos pacientes com R/R presentes em cada cluster), nos quais foram detectado *M. leprae* pelos genótipos (com divergência apenas do *locus* GTA9, entre um e outro). No entanto, para corroborar esta hipótese seriam necessários estudos do real adoecimento destas pacientes neste cluster em função do tempo, assim como a análise de rede social dos mesmos, todavia, estes dados sugerem a existência de um fator importante para continuar a transmissão nesta população.

A característica clínica de presença de lesões nos pacientes da análise com 13 VNTRs foi apresentada na árvore MST da figura 4.18 mostrando que 20,9% (n=55/263) dos casos com lesões concentravam-se nos maiores *clusters* (C10 e C11) e só quatro *clusters* compostos por 4, 5, 6 e 7 isolados eram de pacientes que não relataram lesões, mesmo sendo a maioria destes pacientes classificados com MB. Estes dados abrem novas questões e estimulam uma investigação mais aprofundada sobre as características clínicas dos pacientes hansenianos deste estudo.

A maioria dos *clusters* com 13 VNTRs, especificamente os maiores *clusters* são moradores de Recife e localizam-se no GERES I (Figura 4.20). Isto corrobora com o dado apresentado na Figura 4.21, embora os *clusters* com 13 VNTRs estivessem espalhados pela cidade de Recife e cidades vizinhas (Olinda, Paulista, Abreu e Lima, São Lourenço da Mata e

Jaboatão dos Guararapes), a análise de Kernel revelou que alguns dos pacientes pertencentes aos dois grandes *clusters* estavam espacialmente relacionados a alguns bairros que relatavam pobreza e alta incidência de doenças em crianças (Figura 4.22), como o descrito no trabalho de Fontes e colaboradores (2017), para seu estudo em Fortaleza.

A partir desta análise com 13 VNTRs, pode-se sugerir (i) a necessidade de avaliação regional de VNTRs para genotipagem das diferentes localidades de pacientes infectados por *M. leprae*, com o objetivo de desenvolvimento de tipagem especializado e de "custo mais baixo" específico para as regiões endêmicas com maior número de casos que geralmente são as mais pobres, como o sugerido no trabalho de Fontes e colaboradores (2017), no entanto, mantendo sempre em vista o estudo com o uso de 17 VNTRs para aguçar o entendimento e/ou compreensão da transmissão e filogenia do *M. leprae*.

Mediante as análises de georreferenciamento também constatamos a presença de aglomerados de alta densidade como o visualizado na figura 4.23-A na análise de Kernel para a população total do estudo se concentrou no bairro Água Fria localizado no Distrito II do Recife, e indicou uma possível transmissibilidade nesta localidade, porém na figura 4.23-B de varredura espacial - Scan observamos também dois aglomerados; sendo o primeiro localizado nos distritos IV, V, VI e VIII - no período de coleta de 2012-2014 e o segundo entre os distritos II e VII - no período de 2013-2015 dos anos do estudo, sendo este último correspondente com a análise de Kernel da figura anterior, o qual coincide com os anos que registraram maior números de casos de hanseníase respeito ao Boletim Epidemiológico (2018 até 2020) e a Guia para o Controle da Hanseníase do Ministério de Saúde do Brasil (2013 e 2020).

Com relação a classificação mediante IB apresentada na figura 4.24 mediante análise de Kernel, foi observado a maior concentração de pacientes MB no bairro da Água Fria/Distrito II e outros aglomerados de média densidade (amarelo/laranja) em particular nos distritos IV, V e VIII (Figura 4.24-A). No caso dos pacientes PB os aglomerados de alta densidade foram nos bairros Brejo de Beberibe e Nova Descoberta/Distrito VII e outros aglomerados de média densidade (amarelo/laranja) e nos distritos II, IV e V (Figura 4.24-B). Ao avaliarmos a característica clínica de presença de lesões observou-se um aglomerado de alta densidade no bairro da Água Fria/Distrito II e os outros aglomerados de média densidade (amarelo/laranja) nos distritos V e VIII (Figura 4.24-C), ressaltando uma transmissão ativa da doença nestas localidades, principalmente no bairro Água Fria, o que mostra importância e necessidade de estudos epidemiológicos e de transmissibilidade de hanseníase nesta região.

Especificamente para a análise com 13 VNTRs foram construídos mapas com avaliação de distância, como o apresentado na figura 4.25-A e C com imagem satélite e que permitiram a visualização dos distritos do Recife. O dado mostrou maior proximidade entre pacientes (4 – 100 m) desta análise nos bairros Prado, San Martín e Jardim São Paulo principalmente, corroborando o dado visualizado na figura 4.25-B feita via análise de Kernel que apresentou aglomerados de alta densidade no bairro Água Fria/Distrito II; Prado/Distrito IV; Bongi, San Martín, Mustardinha e Jardim São Paulo/Distrito V, possibilitando uma transmissibilidade nestas áreas.

Pontualmente para os isolados que compõem os cinco maiores *clusters* da análise com 13 VNTRs foram criados os mapas apresentados nas figuras 4.26 e 4.27, com as áreas de localização e as áreas de maior densidade mediante análise de Kernel, mais comum para os isolados que compõem cada um desses *clusters* foram os bairros Água Fria, Prado, San Martín Bongi e Mustardinha, sendo os *clusters* C01, C10 e C11 os que apresentaram isolados com maior proximidade, como indicado com os círculos vermelhos inseridos na figura 4.26. A cor vermelha sugere maior densidade de aglomerados (figura 4.27). Em ambos os casos estas figuras advertem sobre a transmissibilidade de cada um destes genótipos nas áreas antes mencionadas. Estes resultados são descobertos importantes para o controle da propagação da doença no município de Recife.



Os resultados de características clínico-epidemiológicas observados entre as amostras analisadas, reflete semelhanças ao observado no estado de Pernambuco e em linhas gerais aos obtidos no Brasil durante os anos 2012 até 2018 com relação ao comportamento da hanseníase, corroborando assim com o fato de que a seleção dos pacientes e redução do número de casos devido ao sucesso parcial de genotipagem, aparentemente não criou uma amostragem viciada no estudo;

As análises realizadas em esfregaços intradérmicos de linfa de pacientes hansenianos através dos dados de qPCR apresentou uma relação entre valor de Ct e sucesso do MLVA. Logo, consideramos esta técnica uma ferramenta de triagem útil, principalmente em um estudo desta magnitude. Um resultado promissor foi a alta positividade obtida em amostras de pacientes PB e pacientes com IB =0, refletido pela obtenção de genótipos de MLVA de alta qualidade deste tipo de pacientes, permitindo um estudo comparativo com pacientes MB.

Surpreendentemente, o sucesso de genotipagem de *M. leprae* a partir de esfregaços intradérmicos de linfa, tanto em pacientes MB quanto PB, sugere fortemente que este tipo de amostra obtida por técnica pouca invasiva pode tornar a obrigatoriedade da coleta por uma biopsia de pele para realizar estudos de genotipagem menor, mais ainda devido à corroboração da alta sensibilidade da técnica empregado para genotipagem neste estudo (MLVA).

A grande diversidade genética observada entre as amostras dos pacientes que compuseram este estudo, junto a observação de um número considerável de agrupamentos, são as duas características mais importantes para aplicar este tipo de tecnologia em uma comunidade como por exemplo na cidade de Recife. Tal fato se deve a (i) alta cobertura dos pacientes (dados coletados), (ii) ao longo período da coleta das amostras, e (iii) a inclusão de pacientes PB no estudo, que como apresentado na discussão permite definir uma alta representatividade genotípica para este estudo. Dos 709 pacientes do estudo 671 foram submetidas à análise por MLVA, correspondente ao 94,6%, e destes 48,4% (n=343/709) e apresentaram genótipos com 13 o mais VNTRs, que comparados com estudos como o de Fontes e colaboradores a qual só obtiveram um 16,8% e 15% para cada um dos dois anos em que o estudo foi realizado (2009 e 2010), do total de 998 pacientes diagnosticados para esse trabalho, destaca-se a alta cobertura das nossas análises. Ressaltamos a existência de dois agrupamentos grandes de isolados geneticamente relacionados indicando uma transmissão contínua e elevada

na cidade e/ou a circulação dominante de alguns isolados na região durante décadas;

Apesar de que grande parte dos pacientes que compõem este estudo não apresentarem relações clínico-epidemiológicas (estatisticamente significativas), a presença de genótipos idênticos e/ou muito similares entre pacientes de uma mesma região geográfica ou município sugere uma associação entre estes indivíduos, possivelmente devido a transmissão recente, fortemente sugerida também, devido à presença os *clusters* de menores de 15 anos. Entretanto, devido a hanseníase ser uma doença lenta, a possibilidade de pacientes serem infectados por bacilos com genótipos (quase) idênticos, apesar de serem infectados em anos ou até décadas bem diferentes, nos parece uma hipótese a ser cada vez mais considerada

Quando associados fatores clínico-epidemiológicos convencionais dos pacientes à genótipos dos bacilos, observamos algumas características associadas a maior formação de agrupamentos e a transmissão (mais recente) da hanseníase nesta população. Alguns exemplos são: carga bacilar, presença de lesões, faixa etária, ano da coleta (associado a subnotificações em alguns anos) e tempo de residência na região;

No tocante, aos casos de recidiva/reinfecção, falha e abandono terapêutico em hanseníase, estes não se encontram espalhados randomicamente entre os pacientes considerando a distribuição nas arvores de genótipos, similaridade genética população, no entanto, a tendência destes é de se agruparem e pertencerem a um cluster, (localizando se principalmente nos GERES I, II e III de Pernambuco, maioritariamente no Recife - especificamente nos bairros de Água Fria/Distrito II, Prado/Distrito IV; Bongi, San Martin, Mustardinha e Jardim São Paulo/Distrito V- e pertencentes a um dos grandes *clusters* posicionando-se em um braço da árvore, aparentemente pertencendo a um mesmo tipo de bacilo). O fato destes indivíduos mostrarem que cerca de 10% do total de supostos casos novos, já foram previamente tratados para hanseníase, junto a nossa observação a nível de genótipo, nos induz a deixarmos em aberta a possibilidade de que este tipo de doente possa ter uma participação maior na transmissão da hanseníase. A contribuição de resistência a drogas se torna uma prioridade nestes casos;

Observamos um comportamento estrutural diferente dos genótipos neste Estado quando comparado a segundo maior estudo, o que merece uma investigação maior; acreditamos que o presente estudo é um dos maiores investimentos na área de epidemiologia molecular no (ou fora do) país, considerando o alto número de pacientes incluídos, inclusive os PBs, tempo de

coleta longa e utilização de questionário clínico-epidemiológico desenvolvido para o estudo. Este projeto contou com importante investimento em recursos humanos, focou na otimização da tecnologia de genotipagem, aplicou uma gama de análise epidemiológicas, se debruçou na recuperação de DNA e de genótipos, na obtenção de termos com informações bastante completa dos pacientes genotipados, entretanto, temos o sentimento que mesmo assim, a utilização da epidemiologia molecular continua sendo uma abordagem complicada para se descobrir mais características sólidas da transmissão da hanseníase. Esperamos que a interpretação destes dados possa ser melhorada através de estudos com maior delineamento, inserção de questionários mais direcionados para rede social, diagnóstico e possível genotipagem de contatos domiciliares, incluindo a detecção de resistência aos medicamentos nos pacientes, ainda com um tempo de coleta maior e utilização de uma metodologia de genotipagem mais sensível.

## *REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

Abalos RM, Tolentino JG, Bustillo CC. Histochemical study of erythema nodosum leprosum (ENL) lesions. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1974; 42:385-91.

Adams, L.B., Lahiri, R. Cultivation and Viability Determination of *Mycobacterium leprae*, in: *The International Textbook of Leprosy*. 2016.

Amezcuca, M.E., Escobar-Gutiérrez, A., Storrs, E.E., Dhople, A.M., Burchfield, H.P. Wild Mexican armadillo with leprosy-like infection. *Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.* 52, 254–255. 1984.

Andrade V., Moreira T. Soares R.C.F.R. Impacto da descentralização do Programa de Eliminação da hanseníase no Brasil. IN: Yadon Zey e col. *Descentralização e Gestão das Enfermidades Transmissíveis na América Latina*. Organization Panamericana de La Salud. Buenos Aires, Argentina; p.165-185; 2006.

Aquino CMF, e col. Peregrinação (Via Crucis) até o diagnóstico da hanseníase. *Revista enfermagem UERJ*, Rio de Janeiro, v. 23, n. 2, p. 185-190, mar/abr. 2015.

Araújo MG, Machado Pinto J, Pederneiras E. Hanseníase. In: Machado Pinto J. *Doenças infecciosas com manifestações dermatológicas*. 1ª ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 247-63. 1994.

Araujo, S., Freitas, L. O., Goulart, L. R., and Goulart, I. M. Molecular evidence for the aerial route of infection of *Mycobacterium leprae* and the role of asymptomatic carriers in the persistence of leprosy. *Clin. Infect. Dis.* 63, 1412–1420. doi: 10.1093/cid/ciw570. 2016.

Arraes, M.L.B. de M., de Holanda, M.V., Lima, L.N.G.C., Sabadia, J.A.B., Duarte, C.R., Almeida, R.L.F., Kendall, C., Kerr, L.R.S., Frota, C.C. Natural environmental water sources in endemic regions of northeastern Brazil are potential reservoirs of viable *Mycobacterium leprae*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 112, 805–811. <https://doi.org/10.1590/0074-02760170117>. 2017.

Avanzi C, Singh P, Truman RW, Suffys PN. Molecular epidemiology of leprosy: An update. *Infect Genet Evol.* 2020 Dec;86:104581. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104581. Epub 2020 Oct 4. PMID: 33022427.

Avanzi, C., Busso, P., Benjak, A., Loiseau, C., Fomba, A., Doumbia, G., Camara, I., Lamou, A., Sock, G., Drame, T., Kodio, M., Sakho, F., Sow, S.O., Cole, S.T., Johnson, R.C. Transmission of Drug-Resistant Leprosy in Guinea-Conakry Detected Using Molecular

Epidemiological Approaches. Clin Infect Dis 63, 1482–1484.  
<https://doi.org/10.1093/cid/ciw572>. 2016a.

Avanzi C, Del-Pozo J, Benjak A, Stevenson K, Simpson VR, Busso P, McLuckie J, Loiseau C, Lawton C, Schoening J, Shaw DJ, Piton J, Vera-Cabrera L, Velarde-Felix JS, McDermott F, Gordon SV, Cole ST, Meredith AL. Red squirrels in the British Isles are infected with leprosy bacilli. *Science*. Nov 11; 354(6313):744-747. 2016b.

Avanzi, C., Lecorché, E., Rakotomalala, F.A., Benjak, A., Rapelanoro Rabenja, F., Ramarozatovo, L.S., Cauchoix, B., Rakoto-Andrianarivelo, M., Tió-Coma, M., LealCalvo, T., Busso, P., Boy-Röttger, S., Chauffour, A., Rasamoelina, T., Andrianarison, A., Sendradsoa, F.A., Spencer, J.S., Singh, P., Dashatwar, D.R., Narang, R., Berland, J.-L., Jarlier, V., Salgado, C.G., Moraes, M.O., Geluk, A., Randrianantoandro, A., Cambau, E., Cole, S.T., 2020a. Population genomics of *Mycobacterium leprae* reveals a new genotype in Madagascar and Comoros. *Front. Microbiol.* 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00711>.

Bailey T. Spatial statistics methods in health. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v.5, n. 17, p. 1083-1098, 2001.

Bailey T.C., Gatrell A.C. *Interactive Spatial Data Analysis*. Essex: Longman, 1995.

Balamayooran, G., Pena, M., Sharma, R., Truman, R.W. The armadillo as an animal model and reservoir host for *Mycobacterium leprae*. *Clinics in Dermatology, Leprosy: I* 33, 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2014.07.001>. 2015.

Barbieri RR, Manta FSN, Moreira SJM, Sales AM, Nery JAC, Nascimento LPR, Hacker MA, Pacheco AG, Machado AM, Sarno EM, Moraes MO. Quantitative polymerase chain reaction in paucibacillary leprosy diagnosis: A follow-up study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019 Mar 5;13(3):e0007147. doi: 10.1371/journal.pntd.0007147. PMID: 30835722; PMCID: PMC6428338. 2019.

Barbieri, R. R., Manta, F. S. N., Moreira, S. J. M., Sales, A. M., Nery, J. A. C., Nascimento, L. P. R., e col. Quantitative polymerase chain reaction in paucibacillary leprosy diagnosis: a follow-up study. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 13: e0007147. doi: 10.1371/journal.pntd.0007147. 2019.

Barreto, Mauricio L., Pereira, Susan M. e Ferreira, Arlan A. Vacina BCG: eficácia e indicações da vacinação e da revacinação. *Jornal de Pediatria [online]*. 2006, v. 82, n. 3 suppl [Acessado 1

Dezembro 2021], pp. s45-s54. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0021-75572006000400006>>. Epub 01 Abr 2008. ISSN 1678-4782. <https://doi.org/10.1590/S0021-75572006000400006>.

Barrick, J.E., Lenski, R.E. Genome dynamics during experimental evolution. *Nat Rev Genet* 14, 827–839. <https://doi.org/10.1038/nrg3564>. 2013.

Bechelli LM. O tempo de incubação da lepra. *Rev Bras Leprol*; 4:355-360, 1936.

Becx-Bleumink M, Berhe D. Occurrence of reactions, their diagnosis and management in leprosy patients treated with multidrug therapy; experience in the leprosy control program of the All Africa Leprosy and Rehabilitation Training Center (ALERT) in Ethiopia. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1992; 60:173 –84.

Benjak, A., Avanzi, C., Singh, P., Loiseau, C., Girma, S., Busso, P., e col. Phylogenomics and antimicrobial resistance of the leprosy bacillus *Mycobacterium leprae*. *Nat. Commun.* 9:352. doi: 10.1038/s41467-017-02576-z. 2018.

Blok, D.J., Vlas, S.J. de, Richardus, J.H. Finding undiagnosed leprosy cases. *The Lancet Infectious Diseases* 16, 1113. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30370-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30370-X). 2016.

Boletim Epidemiológico hanseníase. Elaboração: Cristina Ratis e Marcia Marcondes. Secretaria de Saúde do Recife. Nº 1. Período de referencia: 01/01 a 31/12/2018. 2019.

Boletim Epidemiológico hanseníase. Elaboração: Cristina Ratis e Marcia Marcondes. Secretaria de Saúde do Recife. Nº 3. Período de referencia: 01/01 a 31/09/2019. 2019.

Boletim Epidemiológico hanseníase. Elaboração: Cristina Ratis e Marcia Marcondes. Secretaria de Saúde do Recife. Nº 1. Período de referencia: 03/01/2021 a 27/03/2021. 2021.

Boletim Epidemiológico. Secretaria de Vigilância em Saúde | Ministério da Saúde. Número Especial | Jan. 2020.

Boletim Epidemiológico. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério de Saúde. Número Especial. Jan.2021.

Boletim hanseníase. Vigilância em Saúde. Diretoria geral de controle de doenças e Agravos. Gerência de Controle de doenças por Micobactérias. Ano 2, Nº 2, 1º Semestre, junho, 2013.

Borrell, S., Gagneux, S. Infectiousness, reproductive fitness and evolution of drugresistant

*Mycobacterium tuberculosis*. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 13, 1456–1466. 2009.

Braet S, Vandelannoote K, Meehan CJ, Brum Fontes AN, Hasker E, Rosa PS, Lucena-Silva N, Rigouts L, Suffys PN, De Jong BC. The Repetitive Element RLEP Is a Highly Specific Target for Detection of *Mycobacterium leprae*. *J Clin Microbiol.* 2018 Feb 22;56(3):e01924-17. doi: 10.1128/JCM.01924-17. PMID: 29305545; PMCID: PMC5824061.

Braet, S., Vandelannoote, K., Meehan, C. J., Brum Fontes, A. N., Hasker, E., Rosa, P. S., e col. The repetitive element RLEP is a highly specific target for detection of *Mycobacterium leprae*. *J. Clin. Microbiol.* 56: e01924-17. doi: 10.1128/jcm.01924-17. 2018.

Braet SM, van Hooij A, Hasker E, Fransen E, Wirdane A, Baco A, Grillone S, Ortuno-Gutierrez N, Assoumani Y, Mzembaba A, Corstjens P, Rigouts L, Geluk A, de Jong BC. Minimally invasive sampling to identify leprosy patients with a high bacterial burden in the Union of the Comoros. *PLoS Negl Trop Dis.* 2021 Nov 10;15(11):e0009924. doi: 10.1371/journal.pntd.0009924. PMID: 34758041; PMCID: PMC8580230.

BRASIL. Decreto-Lei n.º 94.406, de 08 de Junho de 1987.Regulamenta a Lei n.º 7.498, de 25 de Junho de 1986, que dispõe sobre o exercício da enfermagem, e dá outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 09 de junho e 1987. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/1980-1989/D94406.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1980-1989/D94406.htm). Acesso em: 05 fev. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 3.125, de 7 de outubro de 2010. Aprova as diretrizes para Vigilância, Atenção e Controle da hanseníase. Diário Oficial da União, Brasília, 9 out. 2010. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/formularios\\_portaria\\_n3125\\_hansenise.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/formularios_portaria_n3125_hansenise.pdf). Acesso em: 07 jan. 2021.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Vigilância em Saúde: Dengue, Esquistossomose, hanseníase, Malária, Tracoma e Tuberculose. 2ed. Brasília. p. 66-100. 2008.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia para o Controle da hanseníase. Brasília: Ministério da Saúde. 2002.

Brasil. Ministério de Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Hanseníase no Brasil: dados e indicadores selecionados. Brasília. 2009.

BRASIL. Taxa de Detecção de hanseníase em menores de 15 anos Estados e regiões, Brasil, 1994 a 2016. Brasília, 2017b. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/julho/10/Taxa-de-detec----o-geral--dehansen--ase-1990a2016-.pdf>. Acesso em: 05 set. 2017.

BRASIL. Taxa de detecção geral de hanseníase por 100.000 habitantes Estados e regiões, Brasil, 1990 a 2016. Brasília, 2017a. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/julho/10/Taxa-de-detec----o-geral--dehansen--ase-1990a2016-.pdf>. Acesso em: 05 set. 2017.

BRASIL. Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco. 2016. Disponível em: <http://portal.saude.pe.gov.br/secretaria-executiva-de-coordenacao-geral/gerencias-regionais-de-saude>.

Brito e Cabral, P., Junior, J. E., de Macedo, A. C., Alves, A. R., Goncalves, T. B., Brito e Cabral, T. C., e col. Anti-PGL1 salivary IgA/IgM, serum IgG/IgM, and nasal Mycobacterium leprae DNA in individuals with household contact with leprosy. *Int. J. Infect. Dis.* 17, e1005–e1010. doi: 10.1016/j.ijid.2013.05.011. 2013.

Britton WJ. The management of leprosy reversal reactions. *Lepr Rev* 1998; 69: 225-34.

Brosch R, e col. The evolution of mycobacterial pathogenicity: clues from comparative genomics. *Trends Microbiol.* 2001; 9:452–458.

Bryant, J.M., Grogono, D.M., Rodriguez-Rincon, D., Everall, I., Brown, K.P., Moreno, P., Verma, D., Hill, E., e col. Emergence and spread of a human-transmissible multidrug-resistant nontuberculous mycobacterium. *Science* 354, 751–757. <https://doi.org/10.1126/science.aaf8156>. 2016.

Bryceson ADM. Leprosy. In: Champion RH, Burton JL, Ebling FLG, editors. *Textbook of dermatology*. 5th ed. Oxford: Blackwell Scientific Publication, p. 1065-83. 1992.

Cambau E, e col. Antimicrobial resistance in leprosy: results of the first prospective open survey conducted by a WHO surveillance network for the period 2009-2015. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2018.

Cambau E, Saunderson P., Gillini L. 'Antimicrobial resistance in leprosy: results of the first prospective open survey conducted by a WHO surveillance network for the period 2009-2015'



- Author's reply. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2019.

Cambau E., e col. Dihydropteroate synthase mutations in the folP1 gene predict dapsone resistance in relapsed cases of leprosy. *Clin Infect Dis Clin Microbiol Infect*. pii: S1198-743X(18)30197-6. doi: 10.1016/j.cmi.2018.02.022. 2018.

Cambau, E., Saunderson, P., Matsuoka, M., Cole, S.T., Kai, M., Suffys, P, Rosa, P.S., Williams, D., Gupta, U.D., Lavania, M., Cardona-Castro, N., Miyamoto, Y., Hagge, D., Srikantam, A., Hongseng, W., Indropo, A., Vissa, V., Johnson, R.C., Cauchoix, B., Pannikar, V.K., Cooreman, E. a. W.D., Pemmaraju, V.R.R., Gillini, L., WHO surveillance network of antimicrobial resistance in leprosy, Antimicrobial resistance in leprosy: results of the first prospective open survey conducted by a WHO surveillance network for the period 2009-15. *Clin. Microbiol. Infect.* 24, 1305–10. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.02.022>. 2018.

Cambri, G., Mira, M.T. Genetic Susceptibility to Leprosy—From Classic ImmuneRelated Candidate Genes to Hypothesis-Free, Whole Genome Approaches. *Front. Immunol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01674>. 2018.

Cardona-Castro N, e col. Identification and comparison of *Mycobacterium leprae* genotypes in two geographical regions of Colombia. *Lepr Rev.* 80(3):316-21. 2009.

Cardona-Castro, N., Beltran-Alzate, J. C., and Manrique-Hernandez, R. Survey to identify *Mycobacterium leprae*-infected household contacts of patients from prevalent regions of leprosy in Colombia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 103, 332–336. doi: 10.1590/s0074-02762008000400003. 2008.

Cardona-Castro, N., Beltrán-Alzate, J.C., Romero-Montoya, I.M., Li, W., Brennan, P.J., Vissa, V. *Mycobacterium leprae* in Colombia described by SNP7614 in gyrA, two minisatellites and geography. *Infect Genet Evol* 14, 375–382. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.12.015>. 2013.

Carvalho M.S, Souza-Santos R. Análise de dados espaciais em saúde pública: métodos, problemas, perspectivas. *Cadernos de Saúde Pública*. Rio de Janeiro, v.2, n.21, p.361-378, 2005.

Carvalho, R. S., Foschiani, I. M., Costa, M., Marta, S. N., and da Cunha Lopes Virmond, M. Early detection of *M. leprae* by qPCR in untreated patients and their contacts: results for nasal

swab and palate mucosa scraping. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 37, 1863–1867. doi: 10.1007/s10096-018-3320-9. 2018.

Chakrabarty, A.N., Dastidar, S.G. Is soil an alternative source of leprosy infection? *Acta Leprol* 12, 79–84. 2001.

Chavarro-Portillo, B., Soto, C.Y., Guerrero, M.I., *Mycobacterium leprae*'s evolution and environmental adaptation. *Acta Tropical* 197, 105041. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105041>. 2019.

Chen, Y., Chen, J., Zhang, S., Shi, W., Zhang, W., Zhu, M., Zhang, Y. Novel Mutations Associated with Clofazimine Resistance in *Mycobacterium abscessus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 62. <https://doi.org/10.1128/AAC.00544-18>. 2018.

Chiaravalloti-Neto F. O geoprocessamento e saúde pública. *Arq Ciênc Saúde.* 2016;23(4):01 02. <https://doi.org/10.17696/2318-3691.23.4.2016.66>.

Chimelli L, Freitas M, Nascimento O. Values of nerve biopsy in the diagnosis and follow-up of leprosy: the role of vascular lesions and usefulness of nerve studies in the detection of persistent bacilli. *J Neurol.* 1997;244:318-23.

Cohen, T., van Helden, P.D., Wilson, D., Colijn, C., McLaughlin, M.M., Abubakar, I., Warren, R.M. Mixed-Strain *Mycobacterium tuberculosis* Infections and the Implications for Tuberculosis Treatment and Control. *Clin Microbiol Rev* 25, 708–719. <https://doi.org/10.1128/CMR.00021-12>. 2012.

Cole, S. T., Eiglmeier, K., Parkhill, J., James, K. D., Thomson, N. R., Wheeler, P. R., e col. Massive gene decay in the leprosy bacillus. *Nature* 409, 1007–1011. 2001.

Comas I, e col. Human T cell epitopes of *Mycobacterium tuberculosis* are evolutionarily hyperconserved. *Nat Genet.* 42:498–503. 2010.

Comas, I., Borrell, S., Roetzer, A., Rose, G., Malla, B., Kato-Maeda, M., Galagan, J., Niemann, S., Gagneux, S. Whole-genome sequencing of rifampicinaampicin-resistant *M. tuberculosis* strains identifies compensatory mutations in RNA polymerase. *Nat Genet* 44, 106–110. <https://doi.org/10.1038/ng.1038>. 2012.

Comas, I., Homolka, S., Niemann, S., Gagneux, S. Genotyping of Genetically Monomorphic Bacteria: DNA Sequencing in *Mycobacterium tuberculosis* Highlights the Limitations of

Current Methodologies. PLOS ONE 4, e7815. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007815>. 2009.

CONITEC. Relatório de recomendação. Ampliação de uso da claritromicina para o tratamento de pacientes com hanseníase resistente a medicamentos. Brasília – DF. 2020.

Conteras MDC, e col. Identification of primary drug resistance to rifampicinaampin in Mycobacterium leprae strains from leprosy patients in Amazonas State, Brazil. J Clin Microbiol. 52(12):4359-60. 2014.

Costa, M.A.; Scherrer, L.R.; Assunção, R.M. Detecção de conglomerados espaciais com geometria arbitrária. In: 17o SINAPE (Simpósio Nacional de Probabilidade e Estatística), 2006, Caxambu. Meio óptico, 2006.

Coulston JW, Ritters KH. Geographic analysis of forest health indicators using spatial scan statistics. Environ Manag. 2003;31(6):764-73. <https://doi.org/10.1007/s00267-002-0023-9>.

Cruz CD, Carneiro PCS. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Volume 2. Viçosa: UFV. 585p. 2003.

Cruz CD, Regazzi AJ. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 2ed. Viçosa: UFV. 390p. 2001.

Cruz CD; Ferreira FM; Personi LA. Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética. Visconde do Rio Branco: Suprema, 620p. 2011.

Cury, Maria Rita de Cassia Oliveira e col. Spatial analysis of leprosy incidence and associated socioeconomic factors. Revista de Saúde Pública [online]. 2012, v. 46, n. 1 [Accessed 28 August 2021], pp. 110-118. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0034-89102011005000086>. Epub 20 Dec 2011. ISSN 1518-8787.

Cusini, M., Marzano, A.V., Barabino, G., Benardon, S. A case of autochthonous leprosy in an elderly Italian patient leaving in Milan province with peculiar clinical presentation. Journal of the American Academy of Dermatology 76, AB3. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2017.04.030>. 2017.

Da Silva Rocha A, e col. Drug and multidrug resistance among Mycobacterium leprae isolates from Brazilian relapsed leprosy patients. J Clin Microbiol. 50(6):1912-7. 2012.

Da Silva Rocha A, e col. Genotyping of *Mycobacterium leprae* from Brazilian leprosy patients suggests the occurrence of reinfection or of bacterial population shift during disease relapse. *J Med Microbiol.* 60:1441-6. 2011.

Das, M., Chaitanya, V.S., Kanmani, K., Rajan, L., Ebenezer, M., 2016. Genomic diversity in *Mycobacterium leprae* isolates from leprosy cases in South India. *Infect. Genet. Evol.* 45, 285–289. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.09.014>.

Das, M., Diana, D., Wedderburn, A., Rajan, L., Rao, S., Horo, I., Vedithi, S.C. Molecular epidemiology and transmission dynamics of leprosy among multicase families and case-contact pairs. *International Journal of Infectious Diseases* 96, 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.04.064>. 2020.

de Holanda, M.V., Marques, L.E.C., de Macedo, M.L.B., Pontes, M.A. de A., Sabadia, J.A.B., Kerr, L.R.F.S., Almeida, R.L.F., Frota, C.C., Holanda, M.V. de, Marques, L.E.C., Macedo, M.L.B. de, Pontes, M.A. de A., Sabadia, J.A.B., Kerr, L.R.F.S., Almeida, R.L.F., Frota, C.C., 2017. Presence of *Mycobacterium leprae* genotype 4 in environmental waters in Northeast Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 50, 216–222. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0424-2016>.

De Sousa, D.B., Souza-Santos, R., Duarte da Cunha, M., Sobral, A. Hot spots of leprosy in the endemic area of São Luís, Maranhão State, Northeastern Brazil. *Journal of Infection and Public Health* 13, 228–234. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2019.08.006>. 2020.

Deps, P.D., Antunes, J.M., Santos, A.R., Collin, S.M. Prevalence of *Mycobacterium leprae* in armadillos in Brazil: A systematic review and meta-analysis. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 14, e0008127. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008127>. 2020.

Desikan, K.V., Sreevatsa, null. Extended studies on the viability of *Mycobacterium leprae* outside the human body. *Lepr Rev* 66, 287–295. 1995.

Dharmendra. Classifications of leprosy. In: Hasting RC (ed). *Leprosy*, 2nd ed. New York: Churchill Livingstone; 1994. p. 179-90.

Doll R. The epidemiology of câncer. *Cancer*, v.45, n.10, p.2475-2485, 1980.

Donham, K.J., Leininger, J.R. Spontaneous leprosy-like disease in a chimpanzee. *J. Infect. Dis.* 136, 132–136. 1977.

Donoghue, H. D. Tuberculosis and leprosy associated with historical human population movements in Europe and beyond - an overview based on mycobacterial ancient DNA. *Ann. Hum. Biol.* 46, 120–128. doi: 10.1080/03014460.2019.1624822. 2019.

Donoghue, H. D., Holton, J., and Spigelman, M. PCR primers that can detect low levels of *Mycobacterium leprae* DNA. *J. Med. Microbiol.* 50, 177–182. doi: 10.1099/0022-1317-50-2-177. 2001.

Dos Santos Damasco MH, e col. Secondary dapsone-resistant leprosy in Brazil: a preliminary report. *Lepr Rev.* 57(1):5-8. 1986.

Deps P, Collin SM. *Mycobacterium lepromatosis* as a Second Agent of Hansen's Disease. *Front Microbiol.* 2021 Sep 10;12:698588. doi: 10.3389/fmicb.2021.698588. PMID: 34566911; PMCID: PMC8461103.

Drlica K, e col. Fluoroquinolone action in mycobacteria: similarity with effects in *Escherichia coli* and detection by cell lysate viscosity. *Antimicrob Agents Chemother.* 40(7): 1594–1599. 1996.

Drobniewski, F., Balabanova, Y., Nikolayevsky, V., Ruddy, M., Kuznetsov, S., Zakharova, S., Melentyev, A., Fedorin, I. Drug-resistant tuberculosis, clinical virulence, and the dominance of the Beijing strain family in Russia. *JAMA* 293, 2726–2731. <https://doi.org/10.1001/jama.293.22.2726>. 2005.

Duchêne, S., Holt, K.E., Weill, F.-X., Le Hello, S., Hawkey, J., Edwards, D.J., Fourment, M., Holmes, E.C. Genome-scale rates of evolutionary change in bacteria. *Microb Genom* 2. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000094>. 2016.

Edit L.M. Breve história da hanseníase: sua expansão do mundo para as Américas, o Brasil e o Rio Grande do Sul e sua trajetória na Saúde pública brasileira. *Saúde e Sociedade*, São Paulo, v.13 n.2 p.77-88; 2004.

Elliot P., Wartenberg D. Spatial epidemiology: current approaches and future challenges. *Environ Health Perspect*, v.112, p.998-1006, 2004.

Fern, M., Esgueva, E., Fortuno, B., Torres, J.A., Cuenca, S.M., Lechuz, J.M.G., Bayon, J.V. Are there Autochthonous Cases of Leprosy in Spain? *Journal of Microbial e Biochemical Technology* 11, 70–72. 2019.

Ferreira J, da S., Souza Oliveira D.A., Santos J.P., Ribeiro C.C.D.U., Baêta B.A., Teixeira R.C., Neumann A. da S., Rosa P.S., Pessolani M.C.V., Moraes M.O., Bechara G.H., de Oliveira P.L., Sorgine M.H.F., Suffys P.N., Fontes A.N.B., Bell-Sakyi L., Fonseca A.H., Lara F.A. Ticks as potential vectors of *Mycobacterium leprae*: Use of tick cell lines to culture the bacilli and generate transgenic strains. *PLoS Negl Trop Dis* 12, e0007001. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007001>. 2018.

Fine, P.E.M. Leprosy: the epidemiology of a slow bacterium. *Epidemiol Rev* 4, 161–188. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.epirev.a036245>. 1982.

Folkvardsen, D.B., Norman, A., Andersen, Å.B., Rasmussen, E.M., Lillebaek, T., Jelsbak, L. A Major *Mycobacterium tuberculosis* outbreak caused by one specific genotype in a low-incidence country: Exploring gene profile virulence explanations. *Sci Rep* 8, 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30363-3>. 2018.

Fontes ANB, e col. Genotyping of *Mycobacterium leprae* present on Ziehl-Neelsen-stained microscopic slides and in skin biopsy samples from leprosy patients in different geographic regions of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 107. Suppl 1:143-9. 2012.

Fontes ANB. Genotipagem de isolados de *Mycobacterium leprae* de pacientes hansenianos do Brasil. 2011. 180f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, 2011.

Fontes, A.N.B., Lima, L.N.G.C., Mota, R.M.S., Almeida, R.L.F., Pontes, M.A., Gonçalves, H. de S., Frota, C.C., Vissa, V.D., Brennan, P.J., Guimaraes, R.J.P.S., Kendall, C., Kerr, L.R.F.S., Suffys, P.N. Genotyping of *Mycobacterium leprae* for better understanding of leprosy transmission in Fortaleza, Northeastern Brazil. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 11, e0006117. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006117>. 2017.

Fontes, A.N.B., Sakamuri, R.M., Baptista, I.M.F.D., Ura, S., Moraes, M.O., Martínez, A.N., Sarno, E.N., Brennan, P.J., Vissa, V.D., Suffys, P.N. Genetic diversity of *mycobacterium leprae* isolates from Brazilian leprosy patients. *Lepr Rev* 80, 302–315. 2009.

Foss NT, de Oliveira EB, Silva CL. Correlation between TNF production, increase of plasma C-reactive protein level and suppression of T lymphocyte response to concanavalin A during erythema nodosum leprosum. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 61:218-26. 1993.

Foss NT. Hanseníase: aspectos clínicos, imunológicos e terapêuticos. *Anais Brasileiros de*

Dermatologia 74:113-119, 1999.

Gagneux, S. (Ed.). Strain Variation in the Mycobacterium tuberculosis Complex: Its Role in Biology, Epidemiology and Control, Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer International Publishing. 2017.

Gama, R. S., Gomides, T. A. R., Gama, C. F. M., Moreira, S. J. M., de Neves Manta, F. S., de Oliveira, L. B. P., e col. High frequency of *M. leprae* DNA detection in asymptomatic household contacts. BMC Infect. Dis. 18:153. doi: 10.1186/s12879-018-3056-2. 2018.

Gama, R. S., Souza, M. L. M., Sarno, E. N., Moraes, M. O., Goncalves, A., Stefani, M. M. A., e col. A novel integrated molecular and serological analysis method to predict new cases of leprosy amongst household contacts. PLoS Negl. Trop. Dis. 13:e0007400. doi: 10.1371/journal.pntd.0007400. 2019.

Gelber, R.H., Balagon, V.F., Cellona, R.V. The relapse rate in MB leprosy patients treated with 2-years of WHO-MDT is not low. Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis. 72, 493–500. [https://doi.org/10.1489/1544-581X\(2004\)72<493:TRRIML>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1489/1544-581X(2004)72<493:TRRIML>2.0.CO;2). 2004.

Gillis, T., Vissa, V., Matsuoka, M., Young, S., Richardus, J.H., Truman, R., Hall, B., Brennan, P., Ideal Consortium Partners. Characterisation of short tandem repeats for genotyping *Mycobacterium leprae*. Lepr Rev 80, 250–260. 2009.

Girdhar BK, Girdhar A, Kumar A. Relapses en multibacillary leprosy patients: effect of length of therapy. Lepr Rev. 71:144-153. 2000.

Gormus, B.J., Wolf, R.H., Baskin, G.B., Ohkawa, S., Gerone, P.J., Walsh, G.P., Meyers, W.M., Binford, C.H., Greer, W.E. A second sooty mangabey monkey with naturally acquired leprosy: first reported possible monkey-to-monkey transmission. Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis. 56, 61–65. 1988.

Gracie R, Peixoto JNB, Soares FBR, Hacker MAV. Análise da distribuição geográfica dos casos de hanseníase. Rio de Janeiro, 2001 a 2012. Ciênc Saúde Coletiva. 2017;22(5):1695-704. <https://doi.org/10.1590/1413-81232017225.24422015>.

Groathouse, N.A., Rivoire, B., Kim, H., Lee, H., Cho, S.-N., Brennan, P.J., Vissa, V.D. Multiple polymorphic *loci* for molecular typing of strains of *Mycobacterium leprae*. J. Clin. Microbiol. 42, 1666–1672. 2004.

Guerrero-Guerrero, M.I., Muvdi-Arenas, S., León-Franco, C.I. Relapses in multibacillary leprosy patients: a retrospective cohort of 11 years in Colombia. *Leprosy review*. 2012.

Hall, B.G., Salipante, S.J. Molecular Epidemiology of *Mycobacterium leprae* as Determined by Structure-Neighbor Clustering. *J Clin Microbiol* 48, 1997–2008. <https://doi.org/10.1128/JCM.00149-10>. 2010.

Han XY, Sizer KC, Thompson EJ, et al. Comparative sequence analysis of *Mycobacterium leprae* and the new leprosy-causing *Mycobacterium lepromatosis*. *J Bacteriol*; 191:6067–74. 2009.

Han XY, Seo YH, Sizer KC, Schoberle T, May GS, Spencer JS, Li W, Nair RG. A new *Mycobacterium* species causing diffuse lepromatous leprosy. *Am. J. Clin. Pathol.* 130, 856–864. doi:10.1309/AJCPP72FJZZRRVMM pmid:19019760. 2008.

Han, X. Y., and Silva, F. J. On the age of leprosy. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8:e2544. doi: 10.1371/journal.pntd.0002544. 2014.

Harboe M. Overview of host-parasite relations. In: Hastings RC, editor. *Leprosy*. New York: Churchill Livingstone; p. 87-112. 1994.

Hastings RC. *Leprosy*. Churchill Livingstone, Singapore, 1994.

Hicks, N.D., Yang, J., Zhang, X., Zhao, B., Grad, Y.H., Liu, L., Ou, X., Chang, Z., Xia, H., Zhou, Y., Wang, S., Dong, J., Sun, L., Zhu, Y., Zhao, Y., Jin, Q., Fortune, S.M. Clinically prevalent mutations in *Mycobacterium tuberculosis* alter propionate metabolism and mediate multidrug tolerance. *Nature Microbiology* 3, 1032–1042. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0218-3>, 2018.

Hockings KJ, Mubemba B, Avanzi C, Pleh K, Dux A, Bersacola E, Bessa J, Ramon M, Metzger S, Patrono LV, Jaffe JE, Benjak A, Bonneaud C, Busso P, Couacy-Hymann E, Gado M, Gagneux S, Johnson RC, Kodio M, Lynton-Jenkins J, Morozova I, Mätz-Rensing K, Regalla A, Said AR, Schuenemann VJ, Sow SO, Spencer JS, Ulrich M, Zoubi H, Cole ST, Wittig RM, Calvignac-Spencer S, Leendertz FH. Leprosy in wild chimpanzees. *Nature*. 2021 Oct;598(7882):652-656. doi: 10.1038/s41586-021-03968-4. Epub 2021 Oct 13. PMID: 34646009; PMCID: PMC8550970.

Holanda, M.V. de, Marques, L.E.C., Macedo, M.L.B. de, Pontes, M.A. de A., Sabadia, J.A.B., Kerr, L.R.F.S., Almeida, R.L.F., Frota, C.C., Holanda, M.V. de, Marques, L.E.C., Macedo,



M.L.B. de, Pontes, M.A. de A., Sabadía, J.A.B., Kerr, L.R.F.S., Almeida, R.L.F., Frota, C.C. Presence of *Mycobacterium leprae* genotype 4 in environmental waters in Northeast Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 50, 216–222. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0424-2016>. 2017.

Honap, T. P., Pfister, L. A., Housman, G., Mills, S., Tarara, R. P., Suzuki, K., e col. *Mycobacterium leprae* genomes from naturally infected nonhuman primates. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 12:e0006190. doi: 10.1371/journal.pntd.0006190. 2018.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/pe.html>. Acesso em: 07 de jan. 2020.

IILEP. The interpretation of epidemiological indicators in leprosy. Technical Bulletin, 2011. Disponível em: [http://www.ilep.org.uk/fileadmin/uploads/Documents/Technical\\_Bulletins/tb11eng.pdf](http://www.ilep.org.uk/fileadmin/uploads/Documents/Technical_Bulletins/tb11eng.pdf). Acesso em: 01 dez. 2011.

Imbiriba E.N.B., Silva Neto A.L., Souza W.V., e col. Desigualdade Social, crescimento urbano e hanseníase em Manaus: abordagem espacial. *Revista Saúde Pública*, v. 43, n. 4, p. 656-65, 2009.

Jacobs JM, Shetty VP, Antia NH. Teased fibre studies in leprosy neuropathy. *J Neurol Sci.* 1987;79:301-13.

Jensen RW, e col. DNA fingerprinting of *Mycobacterium leprae* strains using variable number tandem repeat (VNTR) - fragment length analysis (FLA). *J Vis Exp.* (53):e3104. doi: 10.3791/3104. 2011.

Ji B, e col. Bactericidal activity of a single-dose combination of ofloxacin plus minocycline, with or without rifampicin, against *Mycobacterium leprae* in mice and in lepromatous patients. *Antimicrob Agents Chemother*, 42(5):1115-20. 1998.

Ji B, e col. Clinical trial of ofloxacin alone and in combination with dapsone plus clofazimine for treatment of lepromatous leprosy. *Antimicrob Agents Chemother.* 38(4):662-7. 1994.

Job, C.K., Leprosy--the source of infection and its mode of transmission. *Lepr Rev* 52 Suppl 1, 69–76. 1981.

Jopling RH, Mc Dougall AC. A doença. In: Manual de hanseníase. 4th ed. São Paulo: Atheneu Editora; p.11-59. 1991.

Kai, M., Nakata, N., Matsuoka, M., Sekizuka, T., Kuroda, M., Makino, M. Characteristic mutations found in the ML0411 gene of *Mycobacterium leprae* isolated in Northeast Asian countries. *Infection, Genetics and Evolution* 19, 200–204. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.07.014>. 2013.

Kaplan G, e Cohn ZA Regulation of cell-mediated immunity in lepromatous leprosy. *Lepr Rev.* 57 Suppl 2: 199-202. 1986.

Kato-Maeda M, e col. Use of Whole Genome Sequencing to Determine the Microevolution of *Mycobacterium tuberculosis* during an Outbreak. *PLoS ONE*; 8:e58235. 2013.

Kerr-Pontes, L.R.S., Montenegro, A.C.D., Barreto, M.L., Werneck, G.L., Feldmeier, H. Inequality and leprosy in Northeast Brazil: an ecological study. *Int J Epidemiol* 33, 262–269. <https://doi.org/10.1093/ije/dyh002>. 2004.

Keys A. Seven Countries-A Multivariate Analysis of Death and Coronary Heart Disease. Boston: Harvard University Press. 1980.

Khanna, D., de Wildt, G., de Souza Duarte Filho, L.A.M. e col. Improving treatment outcomes for leprosy in Pernambuco, Brazil: a qualitative study exploring the experiences and perceptions of retreatment patients and their carers. *BMC Infect Dis* 21, 282 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12879-021-05980-5>.

Kim SK, e col. Detection of gene mutations related with drug resistance in *Mycobacterium leprae* from leprosy patients using Touch-Down (TD) PCR. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 36(1-2):27-32. 2003.

Kimura M, e col. Rapid variable-number tandem-repeat genotyping for *Mycobacterium leprae* clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 47(6):1757-66. 2009.

Kimura, M., Sakamuri, R.M., Groathouse, N.A., Rivoire, B.L., Gingrich, D., Krueger-Koplin, S., Cho, S.-N., Brennan, P.J., Vissa, V. Rapid Variable-Number TandemRepeat Genotyping for *Mycobacterium leprae* Clinical Specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 47, 1757–1766. <https://doi.org/10.1128/JCM.02019-08>. 2009.

Kirchheimer WF, Storrs EE, Binford CH. Attempts to establish the Armadillo (*Dasypus*

novemcinctus linn.) as a model for the study of leprosy. II. Histopathologic and bacteriologic post-mortem findings in lepromatoid leprosy in the Armadillo. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1972;40(3):229–42.

Kirchheimer, W.F. The role of arthropods in the transmission of leprosy. *Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.* 44, 104–107. 1976.

Klatser, P.R., van Beers, S., Madjid, B., Day, R., de Wit, M.Y. Detection of *Mycobacterium leprae* nasal carriers in populations for which leprosy is endemic. *J. Clin. Microbiol.* 31, 2947–2951. 1993.

Klloze AM, Ramos-Caro FA. Visceral leprosy. *International Journal of Dermatology.* 39: 641-658. 2000.

Koul A, e col. Diarylquinolines target subunit c of mycobacterial ATP synthase. *Nat Chem Biol.* (3):323–324. 2007.

Krause-Kyora, B., Nutsua, M., Boehme, L., Pierini, F., Pedersen, D. D., Kornell, S.-C., e col. Ancient DNA study reveals HLA susceptibility locus for leprosy in medieval Europeans. *Nat. Commun.* 9, 1569–1569. doi: 10.1038/s41467-018-03857-x. 2018.

Kulkarni VM, e 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;* 29(1):58-67. 1983.

Kulldorff, M. SaTScan™ User Guide for version 8.0. February, 2009. Disponível em: <<http://www.satscan.org/>>. Acesso em: 01 Abril 2009.

Kulldorff, M. A spatial Scan statistic. *Communications in Statistics: Theory and Methods*, v. 26, p. 1481-1496, 1997.

Kulldorff M, Nagarwalla N. Spatial disease *clusters*: detection and inference. *Stat Med.* 1995;14(8):799-810. <https://doi.org/10.1002/sim.4780140809>.

Kumar, A., Girdhar, A., Chakma, J.K., Girdhar, B.K. Detection of previously undetected leprosy cases in Firozabad District (U.P.), India during 2006-2009: a short communication. *Lepr Rev* 84, 124–127. 2013.

Kuruwa, S., Vissa, V., Mistry, N., 2012. Distribution of *Mycobacterium leprae* Strains among Cases in a Rural and Urban Population of Maharashtra. India. *J. Clin. Microbiol.* 50, 1406–

1411. <https://doi.org/10.1128/JCM.05315-11>.

L, T., Dc, P., Sd, A. Moxifloxacin Prophylaxis against MDR TB, New York, New York, USA. *Emerg Infect Dis* 21, 500–503. <https://doi.org/10.3201/eid2103.141313>. 2015.

Lastória J. C., Abreu M. A. M. M. de. Hanseníase: diagnóstico e tratamento. *Diagnóstico e Tratamento*, São Paulo, v. 17, n. 4, p.173-179, 2012.

Languillon J & Carayon A. Lésions cutanées. In: *Précis de léprologie*, 2<sup>a</sup> ed., MASSON, Paris, p. 62-101, 1986.

Lavania, M., Jadhav, R.S., Turankar, R.P., Chaitanya, V.S., Singh, M., Sengupta, U., 2013. Single nucleotide polymorphisms typing of *Mycobacterium leprae* reveals focal transmission of leprosy in high endemic regions of India. *Clin. Microbiol. Infect.* 19, 1058–1062. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12125>.

Lavania, M., Katoch, K., Katoch, V. M., Gupta, A. K., Chauhan, D. S., Sharma, R., e col. Detection of viable *Mycobacterium leprae* in soil samples: insights into possible sources of transmission of leprosy. *Infect. Genet. Evol.* 8, 627–631. doi: 10.1016/j.meegid.2008.05.007. 2008.

Lavania, M., Katoch, K., Sachan, P., Dubey, A., Kapoor, S., Kashyap, M., e col. Detection of *Mycobacterium leprae* DNA from soil samples by PCR targeting RLEP sequences. *J. Commun. Dis.* 38, 269–273. 2006.

Lavania, M., Katoch, K., Sharma, R., Sharma, P., Das, R., Gupta, A.K., Chauhan, D.S., Katoch, V.M. Molecular typing of *Mycobacterium leprae* strains from northern India using short tandem repeats. *Indian J Med Res* 133, 618–626. 2011.

Leiker DL. *A hanseníase*. Genebra: Organização Mundial da Saúde, 1977.

Leininger, J.R., Donham, K.J., Meyers, W.M. Leprosy in a chimpanzee. Postmortem lesions. *Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.* 48, 414–421. 1980.

Li YY, Shakya S, Long H, Shen LF, Kuang YQ. Factors Influencing Leprosy Incidence: A Comprehensive Analysis of Observations in Wenshan of China, Nepal, and Other Global Epidemic Areas. *Front Public Health.* 2021 May 31;9:666307. doi: 10.3389/fpubh.2021.666307. PMID: 34136455; PMCID: PMC8200479.

Lima LNC, Frota CC, Suffys PN, Fontes ANB, Mota RMS, Almeida RLF, Andrade Pontes

MA, Gonçalves HS, Kendall C, Kerr LRS. Genotyping comparison of *Mycobacterium leprae* isolates by VNTR analysis from nasal samples in a Brazilian endemic region. *Pathog Glob Health*. 2018 Mar;112(2):79-85. doi: 10.1080/20477724.2018.1427308. Epub 2018 Feb 6. PMID: 29405082; PMCID: PMC6056818.

Lima, L.N.G.C., Fontes, A.N.B., Li, W., Suffys, P.N., Vissa, V.D., Mota, R.M.S., Almeida, R.L.F., Pontes, M.A., Gonçalves, H.D.S., Frota, C.C., Rodrigues, L.C., Kendall, C., Kerr, L.R.F.S. Inpatient comparison of *Mycobacterium leprae* by VNTR analysis in nasal secretions and skin biopsy in a Brazilian leprosy endemic region. *Lepr Rev* 87, 486–500. 2016.

Liu, Q., Zuo, T., Xu, P., Jiang, Q., Wu, J., Gan, M., Yang, C., Prakash, R., Zhu, G., Takiff, H.E., Gao, Q. Have compensatory mutations facilitated the current epidemic of multidrug-resistant tuberculosis? *Emerg Microbes Infect* 7. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0101-6>. 2018.

Lockwood D.N. J., Suneetha S. Leprosy: too complex a disease for a simple elimination paradigm. *Bulletin of the World Health Organization*. Genebra, p. 230-235, mar. 2005. Disponível em: [http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&nr=iso&lng=pt&lng=pt&pid=S0042-96862005000300018](http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&nr=iso&lng=pt&lng=pt&pid=S0042-96862005000300018). Acesso em: 07 jan. 2020.

Lockwood DN, Vinayakumar S, Stanley JN, McAdam KP, Colston MJ. Clinical features and outcome of reversal (type 1) reactions in Hyderabad, India. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*; 61:8-15. 1993.

Lockwood, D.N. Commentary: Leprosy and poverty. *Int J Epidemiol* 33, 269–270. <https://doi.org/10.1093/ije/dyh115>. 2004.

Lombardi C, Ferreira J. História Natural da hanseníase. In: Lombardi C, Ferreira J, Motta CP, Oliveira MLW, editores. *Hanseníase*. São Paulo: Imprensa Oficial do Estado; Arquivo do Estado, P. 13-20. 1990.

Lopes V. A. S., Rangel E. M. Hanseníase e vulnerabilidade social: uma análise do perfil socioeconômico de usuários em tratamento irregular. *Saúde debate*, Rio de Janeiro, v. 38, n. 103, p. 817-829, dez. 2014. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-11042014000400817&lng=en&nr=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-11042014000400817&lng=en&nr=iso). Acesso em 07 jan. 2020.

Macfarlane, A., Mondragon-Gonzalez, R., Vega-Lopez, F., Wieles, B., Pena, J. de, Rodriguez,

O., Torre, R.S. y de la, Vries, R.R.P. de, Ottenhoff, T.H.M., Dockrell, H.M. Presence of Human T-Cell Responses to the Mycobacterium leprae 45-Kilodalton Antigen Reflects Infection with or Exposure to M. leprae. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 8, 604–611. <https://doi.org/10.1128/CDLI.8.3.604-611.2001>. 2001.

Maghanoy, A., Mallari, I., Balagon, M., Saunderson, P. Relapse study in smear positive multibacillary (MB) leprosy after 1 year WHO-multi-drug therapy (MDT) in Cebu, Philippines. *Lepr Rev* 82, 65–69. 2011.

Manta FSN, Barbieri RR, Moreira SJM, Santos PTS, Nery JAC, Duppre NC, Sales AM, Pacheco AG, Hacker MA, Machado AM, Sarno EN, Moraes MO. Quantitative PCR for leprosy diagnosis and monitoring in household contacts: A follow-up study, 2011-2018. *Sci Rep.* 2019 Nov 13;9(1):16675. doi: 10.1038/s41598-019-52640-5. PMID: 31723144; PMCID: PMC6854052. 2019.

Manta FSN, Jacomasso T, Rampazzo RCP, Moreira SJM, Zahra NM, Cole ST, Avanzi C, Leal-Calvo T, Vasconcellos SEG, Suffys P, Ribeiro-Alves M, Krieger MA, Costa ADT, Moraes MO. Development and validation of a multiplex real-time qPCR assay using GMP-grade reagents for leprosy diagnosis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2022 Feb 18;16(2):e0009850. doi: 10.1371/journal.pntd.0009850. PMID: 35180224; PMCID: PMC8893668.

Mark S. Early Human Migrations (ca. 13,000 Years Ago) or Postcontact Europeans for the Earliest Spread of Mycobacterium leprae and Mycobacterium lepromatosis to the Americas. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2017;2017:6491606. doi: 10.1155/2017/6491606. Epub 2017 Nov 9. PMID: 29250112; PMCID: PMC5700473.

Marshall R.J. Mapping Diseases and Mortality Rates using Empirical Bayes Estimators. *Appl. Statist.*, v.40, n.2, p.283-294, 1991.

Martinez AN, Britto CF, Nery JA, Sampaio EP, Jardim MR, Sarno EN, Moraes MO. Evaluation of real-time and conventional PCR targeting complex 85 genes for detection of Mycobacterium leprae DNA in skin biopsy samples from patients diagnosed with leprosy. *J Clin Microbiol.* Sep; 44(9):3154-9. 2006.

Martinez AN, Ribeiro-Alves M, Sarno EN, Moraes MO. Evaluation of qPCR-based assays for leprosy diagnosis directly in clinical specimens. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011 Oct;5(10):e1354. doi: 10.1371/journal.pntd.0001354. Epub 2011 Oct 11. PMID: 22022631; PMCID: PMC3191141. 2011.

- Martinez, A. N., Ribeiro-Alves, M., Sarno, E. N., and Moraes, M. O. Evaluation of qPCR-based assays for leprosy diagnosis directly in clinical specimens. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 5:e1354. doi: 10.1371/journal.pntd.0001354. 2011.
- Martins, T.F., Barbieri, A.R.M., Costa, F.B., Terassini, F.A., Camargo, L.M.A., Peterka, C.R.L., de C. Pacheco, R., Dias, R.A., Nunes, P.H., Marcili, A., Scofield, A., Campos, A.K., Horta, M.C., Guilloux, A.G.A., Benatti, H.R., Ramirez, D.G., Barros-Battesti, D.M., Labruna, M.B. Geographical distribution of *Amblyomma cajennense* (sensu lato) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (sensu stricto). *Parasites e Vectors* 9, 186. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1460-2>. 2016.
- Matrat, S., Cambau, E., Jarlier, V., Aubry, A. Are All the DNA Gyrase Mutations Found in *Mycobacterium leprae* Clinical Strains Involved in Resistance to Fluoroquinolones? *Antimicrob Agents Chemother* 52, 745–747. <https://doi.org/10.1128/AAC.01095-07>. 2008.
- Matsuoka, M., Gonzalez, A.V., Estrada, I., Carreño-Martinez, C., Fafutis-Morris, M. Various genotypes of *Mycobacterium leprae* from Mexico reveal distinct geographic distribution. *Lepr Rev* 80, 322–326. 2009.
- Matsuoka, M., Maeda, S., Kai, M., Nakata, N., Chae, G.T., Gillis, T.P., Kobayashi, K., Izumi, S., Kashiwabara, Y. *Mycobacterium leprae* typing by genomic diversity and global distribution of genotypes. *Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.* 68, 121–128. 2000.
- Matsuoka, M., Penna, M.L.F., Cole, S.T., Penna, G.O. Whole genome sequencing distinguishes between relapse and reinfection in recurrent leprosy cases. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 11, e0005598. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005598>. 2017.
- Matsuoka, M., Zhang, L., Budiawan, T., Saeki, K., Izumi, S. Genotyping of *Mycobacterium leprae* on the basis of the polymorphism of TTC repeats for analysis of leprosy transmission. *J. Clin. Microbiol.* 42, 741–745. 2004.
- Mencaroni D.A., Pinto Neto J.M., Villa T.C.S, e col. Análise espacial da endemia hansênica na área urbana do município de Fernandópolis/SP. *Hansenologia Internacionalis*, v. 29, n.1, p. 12-20, 2004.
- Mendum, T. A., Schuenemann, V. J., Roffey, S., Taylor, G. M., Wu, H., Singh, P., e col. *Mycobacterium leprae* genomes from a British medieval leprosy hospital: towards understanding an ancient epidemic. *BMC Genomics* 15:270. doi: 10.1186/1471-2164-15-270.

2014.

Merker, M., Barbier, M., Cox, H., Rasigade, J.-P., Feuerriegel, S., Kohl, T.A., Diel, R., Borrell, S., Gagneux, S., Nikolayevskyy, V., Andres, S., Nübel, U., Supply, P., Wirth, T., Niemann, S. Compensatory evolution drives multidrug-resistant tuberculosis in Central Asia. *Elife* 7. <https://doi.org/10.7554/eLife.38200>. 2018.

Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico hanseníase 2020 [Internet]. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2020 [cited 2020 Sep 17]. Available from: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2020/May/22/boletim-hanseniasiase-2020-web.pdf>.

Ministério da Saúde do Brasil, Secretaria de Vigilância em Saúde; Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Diretrizes Para Vigilância, Atenção e Eliminação da hanseníase Como Problema de Saúde Pública: Manual Técnico-Operacional; Ministério da Saúde: Brasília, Brazil, Available online: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/fevereiro/04/diretrizeseliminacao-hanseniasiase-4fev16-web.pdf> (accessed on 29 December 2018). 2016.

Ministério da Saúde. Guia de controle da hanseníase. CNDS/CENEPI/FNS/Ministério da Saúde-Brasil. 2ª ed, Brasília: Ministério da Saúde; p.156. 1994.

Ministério da Saúde. Legislação sobre o controle da hanseníase no Brasil: Área Técnica de Dermatologia Sanitária, Brasília, p.48, 2000.

Ministério da Saúde. Portaria Nº 1073/GM de 26 de setembro de 2000. Publicada no D.O.U. - 188-E -pg 18 -Seção 1 - 28 de setembro, 2000.

Ministério da Saúde. Taxa de prevalência de hanseníase por 10.000 habitantes. Estados e regiões, Brasil, 1990 a 2018. 2019.

Modlin RL, Rea TH. Immunopathology of leprosy. In: Hastings RC, editor. *Leprosy*. New York: Churchill Livingstone; p. 225-34. 1994.

Moet FJ, Meima A, Oskam L, Richardus JH. Risk factors for the development of clinical leprosy among contacts, and their relevance for targeted interventions. *Lepr Rev.* 75: 310-26. 2004.



Moet FJ, Pahan D, Oskam L, Richardus JH, Effectiveness of single dose rifampicin in preventing leprosy in close contacts of patients with newly diagnosed leprosy: *cluster* randomized controlled trial. *BMJ*. 5; 336(7647): 761– 764. 2008.

Mohanty PS, Naaz F, Bansal AK, Kumar D, Sharma S, Arora M, Singh H, Katara P, Soni N, Patil SA, Singh M. Molecular detection of *Mycobacterium leprae* using RLEP-PCR in post elimination era of leprosy. *Mol Biol Res Commun*. 2020 Apr;9(1):17-22. doi: 10.22099/mbrc.2020.35658.1464.

Mohanty, P.S., Bansal, A.K., Naaz, F., Arora, M., Gupta, U.D., Gupta, P., Sharma, S., Singh, H., 2019. Multiple strain infection of *Mycobacterium leprae* in a family having 4 patients: A study employing short tandem repeats. *PLoS ONE* 14, e0214051. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214051>.

Monot M, e col. Are variable-Number tandem Repeat Appropriate for Genotyping *Mycobacterium leprae*? *J Clin Microbiol*, 46: 2291–2297. 2008.

Monot M, e col. Comparative genomic and phylogeographic analysis of *Mycobacterium leprae*. Nat Genet Mutation analysis of mycobacterial *rpoB* genes and rifampicinaampin resistance using recombinant *Mycobacterium smegmatis*. *Antimicrob Agents Chemother*; 56(4):2008-13. 2012.

Monot, M., Honore, N., Garnier, T., Araoz, R., Coppee, J. Y., Lacroix, C., e col. On the origin of leprosy. *Science* 308, 1040–1042. doi: 10.1126/science/1109759. 2005.

Monot, M., Honore, N., Garnier, T., Zidane, N., Sherafi, D., Paniz-Mondolfi, A., e col. Comparative genomic and phylogeographic analysis of *Mycobacterium leprae*. *Nat. Genet.* 41, 1282–1289. doi: 10.1038/ng.477. 2009.

Musso, D., Rovey, C., Loukil, A., Vialette, V., Nguyen, N.L. Leprosy in French Polynesia. *New Microbes New Infect* 29, 100514. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2018.10.010>. 2019.

Nazario, A.P., Ferreira, J., Schuler-Faccini, L., Fiegenbaum, M., Artigalás, O., Vianna, F.S.L. Leprosy in Southern Brazil: a twenty-year epidemiological profile. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 50, 251–255. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0229-2016>. 2017.

Nery, J.S., Ramond, A., Pescarini, J.M., Alves, A., Strina, A., Ichihara, M.Y., Penna, M.L.F., Smeeth, L., Rodrigues, L.C., Barreto, M.L., Brickley, E.B., Penna, G.O. Socioeconomic

determinants of leprosy new case detection in the 100 Million Brazilian Cohort: a population-based linkage study. *The Lancet Global Health* 7, e1226–e1236. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30260-8](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30260-8). 2019.

Neumann, A. da S., Dias, F. de A., Ferreira, J. da S., Fontes, A.N.B., Rosa, P.S., Macedo, R.E., Oliveira, J.H., Teixeira, R.L. de F., Pessolani, M.C.V., Moraes, M.O., Suffys, P.N., Oliveira, P.L., Sorgine, M.H.F., Lara, F.A. Experimental Infection of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Triatominae) with *Mycobacterium leprae* Indicates Potential for Leprosy Transmission. *PLoS One* 11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156037>. 2016.

Nobre, M.L., Illarramendi, X., Dupnik, K.M., Hacker, M. de A., Nery, J.A. da C., Jerônimo, S.M.B., Sarno, E.N. Multibacillary leprosy by population groups in Brazil: Lessons from an observational study. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 11, e0005364. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005364>. 2017.

Noordeen SK. The Epidemiology of Leprosy. In: Hastings RC, editor. *Leprosy*. 2nd ed. London: Churchill Livingstone, P. 29-45. 1994.

Norman G, Joseph G, Richard J. Relapses in multibacillary patients treated with multidrug therapy until smear negativity: findings after twenty years. *International Journal of Leprosy*. 102(4): 455-62. 2004.

Nt, L., Ht, L., B, T. le, Mw, B., K, K., D, van S. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype and risk for treatment failure and relapse, Vietnam. *Emerg Infect Dis* 9, 1633–1635. <https://doi.org/10.3201/eid0912.030169>. 2003.

Oktaria, S., Hurifampicina, N.S., Naim, W., Thio, H.B., Nijsten, T.E.C., Richardus, J.H. Dietary diversity and poverty as risk factors for leprosy in Indonesia: A case-control study. *PLoS Negl Trop Dis* 12. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006317>. 2018.

Oliveira M, e col. Relapse of lepromatous leprosy after WHO/MDT with rapid bacterial growth. *Lepr Rev*. 73(4):386-388. 2002.

Oliveira MLW. A cura da hanseníase X magnitude das recidivas. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 72: 63-69. 1997.

Oliveira, I.V.P. de M., Deps, P.D., Antunes, J.M.A. de P. Armadillos and leprosy: from infection to biological model. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 61. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201961044>. 2019.

Opromolla P.A. Informação em Saúde: a trajetória da hanseníase no Estado de São Paulo, 1800-2005. 2007. 149f. Tese. Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo; 2007.

Opromolla P.A., Laurenti R. Controle da hanseníase no estado de São Paulo: análise histórica. Ver Saúde Pública, v.45, n.1, p.195-203, 2011.

Organização das Nações Unidas. OMS. Declaração do Milênio. Cúpula do Milênio. New York, 2000 Published by United Nations Information Centre: Lisbon, 2000. Disponível em: [http://www.pnud.org.br/Docs/declaracao\\_do\\_milenio.pdf](http://www.pnud.org.br/Docs/declaracao_do_milenio.pdf). Acesso em: 10 jan. 2016.

Organização Mundial da Saúde (OMS). Genebra Nova Délhi | 9 de setembro de 2019.

Organização Mundial da Saúde (OMS). Manual para o controle da lepra. 2nd ed. Washington: DC; 1989.

Organización Panamericana de la Salud (OPAS). Uso de los sistemas de Información Geográfica en Epidemiología (SIG-EPI). Boletín Epidemiológico, v. 17, n.1, 1996.

Oskam, L., Dockrell, H.M., Brennan, P.J., Gillis, T., Vissa, V., Richardus, J.H., Members of the IDEAL Consortium, Molecular methods for distinguishing between relapse and reinfection in leprosy. Tropical Medicine e International Health 13, 1325–1326. [https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2008.02134\\_1.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2008.02134_1.x). 2008.

Parkash, O. Serological detection of leprosy employing Mycobacterium leprae derived serine-rich 45 kDa, ESAT-6, CFP-10 and PGL-I: a compilation of data from studies in Indian populations. Lepr Rev 82, 383–388. 2011.

Pattyn SR, Husser JA, Baquillon G, Maiga M, Jamet P. Evaluation of five treatment regimens, using dapsona monotherapy or several doses of rifampicinaampicin in the treatment of paucibacillary leprosy. Lepr Rev. 61(2): 151-6. 1990.

Penna, M. L., Penna, G. O., Iglesias, P. C., Natal, S., and Rodrigues, L. C. Anti-PGL-1 positivity as a risk marker for the development of leprosy among contacts of leprosy cases: systematic review and meta-analysis. PLoS Negl. Trop. Dis. 10:e0004703. doi: 10.1371/journal.pntd.0004703. 2016.

Pfaltzgraff RE, Ramu G. Clinical leprosy. In: Hasting RC (ed). Leprosy, 2nd ed. New York: Churchill Livingstone; p. 237-87. 1994.

Pires CAA, Malcher CMRS, Abreu Junior JMC, Albuquerque TG, Correa IRS, Daxbacher ELR. Hanseníase em menores de 15 anos: a importância do exame de contato. *Rev Paul Pediatr*.30(2):292-5. 2012.

Plano de Ação 2011 – 2015. Plano integrado de ações estratégicas de eliminação da hanseníase, filariose, esquistossomose e oncocercose como problema de saúde pública, tracoma como causa de cegueira e controle das geohelmintíases. Ministério da Saúde | Secretaria de Vigilância em Saúde. ISBN 978-85-334-1934-6. 10 -104. 2013.

Plano Municipal de Saúde 2018 - 2021 / Governo Municipal, Secretaria de Saúde do Recife, Recife. Secretaria Executiva de Coordenação Geral, Diretoria Executiva de Planejamento, Orçamento e Gestão da Informação. \_ 1ª. Ed. - Secretaria de Saúde do Recife, 2018.

Ploemacher T, Faber WR, Menke H, Rutten V, Pieters T. Reservoirs and transmission routes of leprosy; A systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020 Apr 27;14(4):e0008276. doi: 10.1371/journal.pntd.0008276. PMID: 32339201; PMCID: PMC7205316.

Price, V.G. Factors preventing early case detection for women affected by leprosy: a review of the literature. *Glob Health Action* 10, 1360550. <https://doi.org/10.1080/16549716.2017.1360550>. 2017.

Rambukkana A, Zanazzi G, Tapinos N, Salzer JL. Contact dependent demyelination by *Mycobacterium leprae* in the absence of immune cells. *Immunol Cell Biol*. 2000;78:349–55.

Rambukkana A, Zanazzi G, Tapinos N, Salzer JL. Contact dependent demyelination by *Mycobacterium leprae* in the absence of immune cells. *Science*. 2002;296:927-31.

Rao, P.N., Suneetha, S. Current Situation of Leprosy in India and its Future Implications. *Indian Dermatol Online J* 9, 83–89. [https://doi.org/10.4103/idoj.IDOJ\\_282\\_17](https://doi.org/10.4103/idoj.IDOJ_282_17). 2018.

Rees RFW. The microbiology of Leprosy. In: Hastings RC, editor. *Leprosy*. London: Churchill Livingstone; 1985. P. 31-52.

Regional Office for South-East Asia, W.H.O., *Monitoring and Evaluation Guide: Global Leprosy Strategy 2016–2020: Accelerating towards a leprosy-free world, WHO-Global Leprosy Programme*. Ed. 2017.

Reveiz L, Buendía J A, Téllez D. Chemoprophylaxis in contacts of patients with leprosy: systematic review and meta-analysis. *Rev Panam Salud Publica* [serial on the Internet]. Oct;

26(4):341 – 349. 2009.

Ribeiro AM, Albuquerque IMN, Paiva GM, Vasconcelos JPC, Araújo MAVF, Vasconcelos MIO. Georreferenciamento: ferramenta de análise do sistema de saúde de Sobral – Ceará. Sanare [Internet]. 2014 [cited 2020 Sep 17];13(2):63-69. Available from: <https://sanare.emnuvens.com.br/sanare/article/view/583/316>.

Richardus JH, Oskam L. Protecting people against leprosy: Chemoprophylaxis and immunoprophylaxis. *Clinics in Dermatology*; 33, 19–25. 2015.

Richardus, J.H., Ignotti, E., Smith, C.S. Epidemiology of Leprosy, in: *International Textbook of Leprosy*. 2016.

Richardus, R., Alam, K., Kundu, K., Chandra Roy, J., Zafar, T., Chowdhury, A. S., e col. Effectiveness of single-dose rifampicinaampicin after BCG vaccination to prevent leprosy in close contacts of patients with newly diagnosed leprosy: a *cluster* randomized controlled trial. *Int. J. Infect. Dis.* 88, 65–72. doi: 10.1016/j.ijid.2019.08.035. 2019.

Ridley DS, Jopling WH. Classification of leprosy according to immunity: a five-group system. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 34:255-73. 1966.

Ridley MJ, Ridley DS. The immunopathology of erythema nodosum leprosum: the role of extravascular complexes. *Lepr Rev* 54:95-107. 1983.

Rodrigues RN, Leano HAM, Bueno IC, Araújo KMFA, Lana FCF. Áreas de alto risco de hanseníase no Brasil, período 2001-2015. *Rev Bras Enferm.* 2020;73(3):e20180583. <https://doi.org/10.1590/0034-7167-2018-0583>.

Rodrigues RN, Leano HAM, Bueno IC, Araújo KMFA, Lana FCF. High-risk areas of leprosy in Brazil between 2001-2015. *Rev Bras Enferm* 2020; 73:e20180583.

Romanholo HSB, Souza EA, Ramos ANJr, Kaiser ACGCB, Silva IOD, Brito AL, Vasconcellos C. Surveillance of intradomiciliary contacts of leprosy cases: Perspective of the client in a hyperendemic municipality. *Rev. Bras. Enferm.* 71, 163–169. 2018.

Romero-Montoya, M., Beltran-Alzate, J. C., and Cardona-Castro, N. Evaluation and monitoring of *Mycobacterium leprae* transmission in household contacts of patients with Hansen's disease in Colombia. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 11:e0005325. doi: 10.1371/journal.pntd.0005325. 2017.

Rosa PS, e col. Emergência e transmissão de *Mycobacterium leprae* resistente a medicamentos / multidrogas em uma antiga colônia de hanseníase na Amazônia brasileira. *Clin Infect Dis*. pii: ciz570. Doi: 10.1093 / cid / ciz570. 2019.

Rosa, P.S., D'Espindula, H.R.S., Melo, A.C.L., Fontes, A.N.B., Finardi, A.J., Belone, A.F.F., Sartori, B.G.C., Pires, C.A.A., Soares, C.T., Marques, F.B., Branco, F.J.D., Baptista, I.M.F.D., Trino, L.M., Fachin, L.R.V., Xavier, M.B., Floriano, M.C., Ura, S., Diório, S.M., Delanina, W.F.B., Moraes, M.O., Virmond, M.C.L., Suffys, P.N., Mira, M.T. Emergence and transmission of drug/multidrug-resistant *Mycobacterium leprae* in a former leprosy colony in the Brazilian Amazon. *Clin. Infect. Dis.* <https://doi.org/10.1093/cid/ciz570>. 2019.

Rosa PS, D'Espindula HRS, Melo ACL, Fontes ANB, Finardi AJ, Belone AFF, Sartori BGC, Pires CAA, Soares CT, Marques FB, Branco FJD, Baptista IMFD, Trino LM, Fachin LRV, Xavier MB, Floriano MC, Ura S, Diório SM, Delanina WFB, Moraes MO, Virmond MCL, Suffys PN, Mira MT. Emergence and Transmission of Drug-/Multidrug-resistant *Mycobacterium leprae* in a Former Leprosy Colony in the Brazilian Amazon. *Clin Infect Dis*. 2020 May 6;70(10):2054-2061. doi: 10.1093/cid/ciz570. PMID: 31260522; PMCID: PMC7201420.

Rosner, B. *Fundamentals of Biostatistics*. Duxbury Press, Boston, 6th Edition. 2006.

Sakamuri, R.M., Harrison, J., Gelber, R., Saunderson, P., Brennan, P.J., Balagon, M., Vissa, V. A continuation: study and characterisation of *Mycobacterium leprae* short tandem repeat genotypes and transmission of leprosy in Cebu, Philippines. *Lepr Rev* 80, 272–279. 2009a.

Sakamuri, R.M., Kimura, M., Li, W., Kim, H.-C., Lee, H., Kiran, M.D., Black, W.C., Balagon, M., Gelber, R., Cho, S.-N., Brennan, P.J., Vissa, V. Population-Based Molecular Epidemiology of Leprosy in Cebu, Philippines. *J. Clin. Microbiol.* 47, 2844–2854. <https://doi.org/10.1128/JCM.02021-08>. 2009b.

Salgado, C.G., Barreto, J.G., da Silva, M.B., Goulart, I.M.B., Barreto, J.A., de Medeiros Junior, N.F., Nery, J.A., Frade, M.A.C., Spencer, J.S. Are leprosy case numbers reliable? *The Lancet Infectious Diseases* 18, 135–137. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30012-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30012-4). 2018.

Salgado, C.G., Barreto, J.G., Silva, M.B. da, Frade, M.A.C., Spencer, J.S. What do we actually know about leprosy worldwide? *The Lancet Infectious Diseases* 16, 778. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30090-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30090-1). 2016.

- Salipante, S.J., Hall, B.G. Towards the molecular epidemiology of *Mycobacterium leprae*: Strategies, successes, and shortcomings. *Infection, Genetics and Evolution* 11, 1505–1513. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.06.003>. 2011.
- Santos, D. F. D., Mendonca, M. R., Antunes, D. E., Sabino, E. F. P., Pereira, R. C., Goulart, L. R., e col. Molecular, immunological and neurophysiological evaluations for early diagnosis of neural impairment in seropositive leprosy household contacts. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 12:e0006494. doi: 10.1371/journal.pntd.0006494. 2018.
- Sarkar, R., Pradhan, S. Leprosy and women. *Int J Womens Dermatol* 2, 117–121. <https://doi.org/10.1016/j.ijwd.2016.09.001>. 2016.
- Schaub, R., Avanzi, C., Singh, P., Paniz-Mondolfi, A., Cardona-Castro, N., Legua, P., Crespo, L., Sewpersad, K., Dávila, J.J., Barreto, J., Dwivedi, P., Morris-Wilson, H., Larrea, M.P., Talhari, C., Lahiri, R., Truman, R.W., Gozlan, R.E., Couppié, P., de Thoisy, B. Leprosy Transmission in Amazonian Countries: Current Status and Future Trends. *Curr Trop Med Rep.* <https://doi.org/10.1007/s40475-020-00206-1>. 2020.
- Schilling, A.-K., Avanzi, C., Ulrich, R. G., Busso, P., Pisanu, B., Ferrari, N., e col. British red squirrels remain the only known wild rodent host for leprosy bacilli. *Front. Vet. Sci.* 6:8. doi: 10.3389/fvets.2019.00008. 2019.
- Schilling, A.-K., Avanzi, C., Ulrich, R.G., Busso, P., Pisanu, B., Ferrari, N., Romeo, C., Mazzamuto, M.V., McLuckie, J., Shuttleworth, C.M., Del-Pozo, J., Lurz, P.W.W., Escalante-Fuentes, W.G., Ocampo-Candiani, J., Vera-Cabrera, L., Stevenson, K., Chapuis, J.-L., Meredith, A.L., Cole, S.T. British Red Squirrels Remain the Only Known Wild Rodent Host for Leprosy Bacilli. *Front Vet Sci* 6. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00008>. 2019.
- Schneider PB, Freitas BIBM. Tendência da hanseníase em menores de 15 anos no Brasil, 2001-2016. *Cad Saúde Pública* 2018; 34:e00101817.
- Schuenemann, V. J., Avanzi, C., Krause-Kyora, B., Seitz, A., Herbig, A., Inskip, S., e col. Ancient genomes reveal a high diversity of *Mycobacterium leprae* in medieval Europe. *PLoS Pathog.* 14:e1006997. doi: 10.1371/journal.ppat.1006997. 2018.
- Schuenemann, V. J., Singh, P., Mendum, T. A., Krause-Kyora, B., Jager, G., Bos, K. I., e col. Genome-wide comparison of medieval and modern *Mycobacterium leprae*. *Science* 341, 179–183. doi: 10.1126/science.1238286. 2013.

Scollard DM, Adams LB, Gilis TP, Kraenbuhl JL, Truman RW, Williams DL. The continuing challenges of leprosy. *Clin Microbiol Rev.* 19 (2): 338-81. 2006.

Senna SG, e col. In house reverse line hybridization assay for rapid detection of susceptibility to rifampicinaampicin in isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Microbiol Methods.* 67(2):385-9. 2006.

Serrano-Coll, H., Mora, H.R., Beltrán, J.C., Duthie, M.S., Cardona-Castro, N. Social and environmental conditions related to *Mycobacterium leprae* infection in children and adolescents from three leprosy endemic regions of Colombia. *BMC Infectious Diseases* 19, 520. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4120-2>. 2019.

SESA. Secretaria do Estado da Saúde. Estado do Espírito Santo. Portal do Governo do Estado do ES, Informações em Saúde, Vigilância Epidemiológica, programa Estadual de controle da hanseníase, Relatório de Avaliação, 2010. Disponível em: [www.saude.es.gov.br](http://www.saude.es.gov.br). Acesso em: 11 Jan 2012.

Sharma, R., Singh, P., Loughry, W. J., Lockhart, J. M., Inman, W. B., Duthie, M. S., e col. Zoonotic leprosy in the Southeastern United States. *Emerg. Infect. Dis.* 21, 2127–2134. doi: 10.3201/eid2112.150501. 2015.

Sharma, R., Singh, P., Loughry, W.J., Lockhart, J.M., Inman, W.B., Duthie, M.S., Pena, M.T., Marcos, L.A., Scollard, D.M., Cole, S.T., Truman, R.W. Zoonotic Leprosy in the Southeastern United States. *Emerg Infect Dis* 21, 2127–2134. <https://doi.org/10.3201/eid2112.150501>. 2015.

Shen, J., Yan, L., Sun, P. Clinical features of relapse after multidrug therapy for leprosy in China. *Lepr Rev* 86, 165–169. 2015.

Shepard, C.C., McRae, D.H. Hereditary Characteristic that Varies Among Isolates of *Mycobacterium leprae*. *Infect Immun* 3, 121–126. 1971.

Shin, Y.-C., Lee, Hyejon, Lee, Hyeyoung, Walsh, G.P., Kim, J.-D., Cho, S.-N. Variable Numbers of TTC Repeats in *Mycobacterium leprae* DNA from Leprosy Patients and Use in Strain Differentiation. *J. Clin. Microbiol.* 38, 4535–4538. 2000.

Shinde, V., Newton, H., Sakamuri, R.M., Reddy, V., Jain, S., Joseph, A., Gillis, T., Nath, I., Norman, G., Vissa, V. VNTR typing of *Mycobacterium leprae* in South Indian leprosy patients. *Lepr Rev* 80, 290–301. 2009.



Silva CLM, Fonseca SC, Kawa H, Palmer DOQ. Spatial distribution of leprosy in Brazil: a literature review. *Rev Soc Bras Med Trop* 2017; 50:439-49.

Singh P, Cole ST. *Mycobacterium leprae*: genes, pseudogenes and genetic diversity. *Future Microbiol.* 6(1):57-71. doi: 10.2217/fmb.10.153. 2011.

Singh P, et al. Genome-wide re-sequencing of multidrug-resistant *Mycobacterium leprae* Airaku-3. *ClinMicrobiol Infect.* 20(10):O619-O622. 2014.

Singh P, Benjak A, Schuenemann VJ, Herbig A, Avanzi C, Busso P, Nieselt K, Krause J, Vera-Cabrera L, Cole ST. Insight into the evolution and origin of leprosy bacilli from the genome sequence of *Mycobacterium lepromatosis*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015 Apr 7;112(14):4459-64. doi: 10.1073/pnas.1421504112. Epub 2015 Mar 23. PMID: 25831531; PMCID: PMC4394283.

Smith, C.S., Aerts, A., Saunderson, P., Kawuma, J., Kita, E., Virmond, M. Multidrug therapy for leprosy: a game changer on the path to elimination. *Lancet Infect Dis* 17, e293–e297. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30418-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30418-8). 2017.

Smith, C.S., Noordeen, S.K., Richardus, J.H., Sansarricq, H., Cole, S.T., Soares, R.C., Savioli, L., Aerts, A. A strategy to halt leprosy transmission. *The Lancet Infectious Diseases* 14, 96–98. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70365-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70365-7). 2014.

Smith, W.C., Brakel, W. van, Gillis, T., Saunderson, P., Richardus, J.H. The Missing Millions: A Threat to the Elimination of Leprosy. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 9, e0003658. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003658>. 2015.

Sociedade Brasileira de Dermatologia. Hanseníase: O que é? 2017. Disponível em: <http://www.sbd.org.br/doencas/hanseniase/>. Acesso em: 07 jan. 2021.

Souza EA, Boigny RN, Ferreira AF, Alencar CH, Oliveira MLW, Ramos AN Jr. Programmatic vulnerability in leprosy control: Gender-related patterns in Bahia State, Brazil. *Cad. Saúde Pública*; 34, e00196216. 2018.

Spencer, J. S., and Brennan, P. J. The role of *Mycobacterium leprae* phenolic glycolipid I (PGL-I) in serodiagnosis and in the pathogenesis of leprosy. *Lepr. Rev.* 82, 344–357. 2011.

Srisungnam, S., Rudeeaneksin, J., Lukebua, A., Wattanapokayakit, S., Pasadorn, S., Mahotarn, K., Ajincholapan, null, Sakamuri, R.M., Kimura, M., Brennan, P.J., Phetsuksiri, B., Vissa, V.

Molecular epidemiology of leprosy based on VNTR typing in Thailand. *Lepr Rev* 80, 280–289. 2009.

Stefani, M.M.A., Avanzi, C., Bühner-Sékula, S., Benjak, A., Loiseau, C., Singh, P., Pontes, M.A.A., Gonçalves, H.S., Hungria, E.M., Busso, P., Piton, J., Silveira, M.I.S., Cruz, R., Schetinni, A., Costa, M.B., Virmond, M.C.L., Diorio, S.M., Dias-Baptista, I.M.F., Rosa, P.S., Maltempe FG, Caleffi-Ferracioli KR, do Amaral RCR, de Oliveira Demitto F, Siqueira VLD, de Lima Scodro RB, Hirata MH, Pavan FR, Cardoso RF. Activity of rifampicin and linezolid combination in *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis (Edinb)*. 2017 May; 104:24-29. doi: 10.1016/j.tube.2017.02.004. Epub 2017 Feb 20. PMID: 28454646.).

Stefani, M.M.A., Avanzi, C., Bühner-Sékula, S., Benjak, A., Loiseau, C., Singh, P., Pontes, M.A.A., Gonçalves, H.S., Hungria, E.M., Busso, P., Piton, J., Silveira, M.I.S., Cruz, R., Schetinni, A., Costa, M.B., Virmond, M.C.L., Diorio, S.M., Dias-Baptista, I.M.F., Rosa, P.S., Matsuoka, M., Penna, M.L.F., Cole, S.T., Penna, G.O., 2017. Whole genome sequencing distinguishes between relapse and reinfection in recurrent leprosy cases. *PLOS Negl. Trop. Dis.* 11, e0005598. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005598>.

Steinmann, P., Reed, S.G., Mirza, F., Hollingsworth, T.D., Richardus, J.H. Innovative tools and approaches to end the transmission of *Mycobacterium leprae*. *The Lancet Infectious Diseases* 17, e298–e305. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30314-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30314-6). 2017.

Storrs, E.E., Walsh, G.P., Burchfield, H.P., Binford, C.H. Leprosy in the Armadillo: New Model for Biomedical Research. *Science* 183, 851–852. <https://doi.org/10.1126/science.183.4127.851>. 1974.

Sun, P.-W., Wang, L., Yu, M.-W., Gu, H., Shen, J.-P., Yan, L.-B., Zhang, G.-C. Leprosy Statistics in China, 2017. *International Journal of Dermatology and Venereology* 2, 1–5. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.2096-5540.2019.01.001>. 2019.

Suzuki, K., Takigawa, W., Tanigawa, K., Nakamura, K., Ishido, Y., Kawashima, A., et al. Detection of *Mycobacterium leprae* DNA from archaeological skeletal remains in Japan using whole genome amplification and polymerase chain reaction. *PLoS One* 5:e12422. doi: 10.1371/journal.pone.0012422. 2010.

Talhari S, Neves RG. *Dermatologia tropical – Hanseníase*. Gráfica Tropical, Manaus, 1997.

Tarashi, S., Fateh, A., Mirsaeidi, M., Siadat, S.D., Vaziri, F. Mixed infections in tuberculosis:

The missing part in a puzzle. *Tuberculosis* 107, 168–174. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2017.09.004>. 2017.

Tiό-Coma M, Avanzi C, Verhard EM, Pierneef L, van Hooij A, Benjak A, Roy JC, Khatun M, Alam K, Corstjens P, Cole ST, Richardus JH, Geluk A. Detection of new *Mycobacterium leprae* subtype in Bangladesh by genomic characterization to explore transmission patterns. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.05.20031450>; this version posted April 18, 2020.

Tiό-Coma, M., Avanzi, C., Verhard, E.M., Pierneef, L., Van Hooij, A., Benjak, A., Roy, J.C., Khatun, M., Alam, K., Corstjens, P., Cole, S.T., Richardus, J.H., Geluk, A. Genomic characterization of *Mycobacterium leprae* to explore transmission patterns identifies new subtype in Bangladesh. *Front. Microbiol.* 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01220>. 2020.

Torres-Avila JF, Colorado CL, Gamboa LA, Araujo MJ, León-Franco CI, Guerrero-Guerrero MI. Genotipificación de *Mycobacterium leprae* Colombiano para la Determinación de Patrones de Transmisión de la Enfermedad [Genotyping Colombian *Mycobacterium leprae* for determining disease transmission patterns]. *Rev Salud Publica (Bogota)*. 2009 Jan-Feb;11(1):3-13. Spanish. doi: 10.1590/s0124-00642009000100002. PMID: 19721975. 2009.

Truman R. Leprosy in wild armadillos. *Lepr Rev.* 2005 Sep;76(3):198-208. PMID: 16248207.

Truman R, e col. Genotypic variation and stability of four variable-number tandem repeats and their suitability for discriminating strains of *Mycobacterium leprae*. *J Clin Microbiol*, 42: 2558–2565. 2004.

Truman, R. W., Andrews, P. K., Robbins, N. Y., Adams, L. B., Krahenbuhl, J. L., and Gillis, T. P. Enumeration of *Mycobacterium leprae* using real-time PCR. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2:e328. doi: 10.1371/journal.pntd.0000328. 2008.

Truman, R., Fine, P.E.M. “Environmental” sources of *Mycobacterium leprae*: issues and evidence. *Lepr Rev* 81, 89–95. 2010.

Truman, R., Singh, P., Sharma, R., Busso, P., Rougemont, J., Paniz-Mondolfi, A., Kapopoulou, A., Brisse, S., Scollard, D.M., Gillis, T.P., Cole, S.T. Probable Zoonotic Leprosy in the Southern United States. *New England Journal of Medicine* 364, 1626–1633. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1010536>. 2011.

Turankar, R. P., Lavania, M., Chaitanya, V. S., Sengupta, U., Darlong, J., Darlong, F., e col. Single nucleotide polymorphism-based molecular typing of *M. leprae* from multicase families

of leprosy patients and their surroundings to understand the transmission of leprosy. *Clin. Microbiol. Infect.* 20, O142–O149. doi: 10.1111/1469-0691.12365. 2014.

Turankar, R. P., Lavania, M., Darlong, J., Siva Sai, K. S. R., Sengupta, U., and Jadhav, R. S. Survival of *Mycobacterium leprae* and association with *Acanthamoeba* from environmental samples in the inhabitant areas of active leprosy cases: a cross sectional study from endemic pockets of Purulia, West Bengal. *Infect. Genet. Evol.* 72, 199–204. doi: 10.1016/j.meegid.2019.01.014. 2019.

Turankar, R. P., Lavania, M., Singh, M., Sengupta, U., Siva Sai, K., and Jadhav, R. S. Presence of viable *Mycobacterium leprae* in environmental specimens around houses of leprosy patients. *Indian J. Med. Microbiol.* 34, 315–321. doi: 10.4103/0255-0857.188322. 2016.

Turankar, R. P., Lavania, M., Singh, M., Siva Sai, K. S., and Jadhav, R. S. Dynamics of *Mycobacterium leprae* transmission in environmental context: deciphering the role of environment as a potential reservoir. *Infect. Genet. Evol.* 12, 121–126. doi: 10.1016/j.meegid.2011.10.023. 2012.

Turankar, R.P., Lavania, M., Chaitanya, V.S., Sengupta, U., Darlong, J., Darlong, F., Siva Sai, K.S.R., Jadhav, R.S. Single nucleotide polymorphism-based molecular typing of *M. leprae* from multicase families of leprosy patients and their surroundings to understand the transmission of leprosy. *Clin Microbiol Infect* 20, O142–O149. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12365>. 2014.

Turankar, R.P., Lavania, M., Chaitanya, V.S., Sengupta, U., Darlong, J., Darlong, F., SivaSai, K.S.R., Jadhav, R.S., 2014. Single nucleotide polymorphism-based molecular typing of *M. leprae* from multicase families of leprosy patients and their surroundings to understand the transmission of leprosy. *Clin Microbiol Infect* 20, O142–O149. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12365>.

Turankar, R.P., Singh, V., Gupta, H., Pathak, V.K., Ahuja, M., Singh, I., Lavania, M., Dinda, A.K., Sengupta, U. Association of non-tuberculous mycobacteria with *Mycobacterium leprae* in environment of leprosy endemic regions in India. *Infect. Genet. Evol.* 72, 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.11.010>. 2019.

van Beers, S. M., Izumi, S., Madjid, B., Maeda, Y., Day, R., and Klatser, P. R. An epidemiological study of leprosy infection by serology and polymerase chain reaction. *Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.* 62, 1–9. 1994.

Van Dissel, J. T., Pieters, T., Geluk, A., Maat, G., Menke, H. E., Tio-Coma, M., e col. Archival, paleopathological and aDNA-based techniques in leprosy research and the case of Father Petrus Donders at the Leprosarium ‘Batavia’, Suriname. *Int. J. Paleopathol.* 27, 1–8. doi: 10.1016/j.ijpp.2019.08.001. 2019.

van Hooij, A., Tjon Kon Fat, E. M., van den Eeden, S. J. F., Wilson, L., Batista da Silva, M., Salgado, C. G., e col. Field-friendly serological tests for determination of *M. leprae*-specific antibodies. *Sci. Rep.* 7:8868. doi: 10.1038/s41598-017-07803-7. 2017.

Vieira, M.C.A., Nery, J.S., Paixão, E.S., Andrade, K.V.F. de, Penna, G.O., Teixeira, M.G. Leprosy in children under 15 years of age in Brazil: A systematic review of the literature. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 12, e0006788. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006788>. 2018.

Walsh, G.P., Storrs, E.E., Burchfield, H.P., Cotrell, E.H., Vidrine, M.F., Binford, C.H. Leprosy-like disease occurring naturally in armadillos. *J Reticuloendothel Soc* 18, 347–351. 1975.

Wang, X., Jordan, I.K., Mayer, L.W. Chapter 29 - A Phylogenetic Perspective on Molecular Epidemiology, in: Tang, Y.-W., Sussman, M., Liu, D., Poxton, I., Schwartzman, J. (Eds.), *Molecular Medical Microbiology (Second Edition)*. Academic Press, Boston, pp. 517–536. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00029-9>. 2015.

Wangara, F., Kipruto, H., Ngesa, O., Kayima, J., Masini, E., Sitienei, J., Ngari, F. The spatial epidemiology of leprosy in Kenya: A retrospective study. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 13, e0007329. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007329>. 2019.

Watson CL, Lockwood DN. Single nucleotide polymorphism analysis of European archaeological *M. leprae* DNA. *PLoS One.* 2009;4(10):e7547. Published 2009 Oct 22. doi:10.1371/journal.pone.0007547.

Weekly epidemiological record. World Health Organization. No 36, 95, 417–440, 2020. Disponível em: <http://www.who.int/wer>. Acesso em: 07 jan. 2020.

Wemambu SN, Turk JL, Waters MF, Rees RJ. Erythema nodosum leprosum: a clinical manifestation of the arthus phenomenon. *Lancet* 2:933-5. 1969.

Weng X, Vander Heiden J, Xing Y, Liu J, Vissa V. Transmission of leprosy in Qiubei County, Yunnan, China: insights from an 8-year molecular epidemiology investigation. *Infect Genet Evol.* Mar; 11(2):363-74. 2011.

Weng, X., Xing, Y., Liu, J., Wang, Y., Ning, Y., Li, M., Wu, W., Zhang, L., Li, W., Vander Heiden, J., Vissa, V., 2013. Molecular, ethno-spatial epidemiology of leprosy in China: novel insights for tracing leprosy in endemic and non-endemic provinces. *Infect. Genet. Evol.* 14, 361–368. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.12.009>.

Wheat, W.H., Casali, A.L., Thomas, V., Spencer, J.S., Lahiri, R., Williams, D.L., McDonnell, G.E., Gonzalez-Juarrero, M., Brennan, P.J., Jackson, M. Long-term Survival and Virulence of *Mycobacterium leprae* in Amoebal Cysts. *PLoS Negl Trop Dis* 8, e3405. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003405>. 2014.

WHO. Global leprosy update, 2018: moving towards a leprosy-free world (Weekly epidemiological record No. 94 [35/36]). 2019.

WHO. Neglected tropical diseases. Disponível em: [http://www.who.int/neglected\\_diseases/faq/en/index.html](http://www.who.int/neglected_diseases/faq/en/index.html). Acesso em: 11 Jan 2012.

Williams, D.L., Gillis, T.P. Drug-resistant leprosy: monitoring and current status. *Lepr Rev* 83, 269–281. 2012.

World Health Organization (WHO). Estratégia Global para avaliar a carga da hanseníase e manter as atividades de controle da hanseníase, Plano: 2006-2010. OMS, Geneva, 2005.

World Health Organization (WHO). Global leprosy update, 2018: moving towards a leprosy-free world. *Weekly Epidemiol. Rec.* 94, 389–412. 2019.

World Health Organization (WHO). Leprosy elimination. *Cluster analysis of the overall detection rate of leprosy in Brazil for the triennium 2011-2013* [Internet]. Geneva: WHO; 2015 [cited 2020 Sep 17]. Available from: [http://www.who.int/lep/news/Cluster\\_analysis/en/](http://www.who.int/lep/news/Cluster_analysis/en/).

Xing, Y., Liu, J., Sakamuri, R.M., Wang, Z., Wen, Y., Vissa, V., Weng, X. VNTR typing studies of *Mycobacterium leprae* in China: assessment of methods and stability of markers during treatment. *Lepr Rev* 80, 261–271. 2009.

Yan, W., Xing, Y., Yuan, L. C., De Yang, R., Tan, F. Y., Zhang, Y., & Li, H. Y. Application of RLEP real-time PCR for detection of *M. leprae* DNA in paraffin-embedded skin biopsy specimens for diagnosis of paucibacillary leprosy. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 90(3), 524–529. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0659>. 2014.

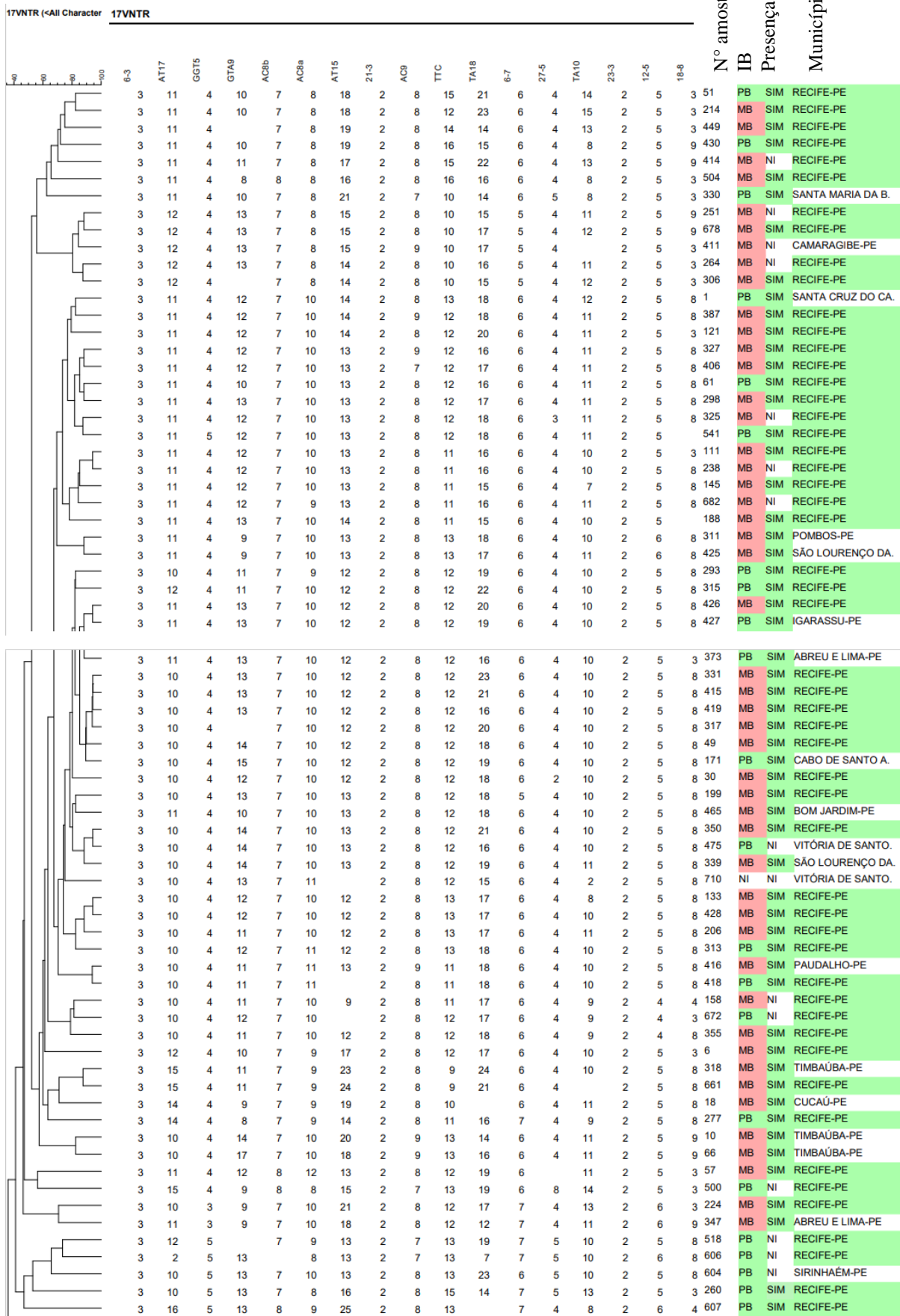
Yew, W.W., Liang, D., Chan, D.P., Shi, W., Zhang, Y. Molecular mechanisms of clofazimine

resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Antimicrob Chemother* 72, 2943–2944. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx227>. 2017.

Yokoyama, K., Kim, H., Mukai, T., Matsuoka, M., Nakajima, C., Suzuki, Y. Impact of amino acid substitutions in B subunit of DNA gyrase in *Mycobacterium leprae* on fluoroquinolone resistance. *PLoS Negl Trop Dis* 6, e1838. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001838>. 2012<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001838>. 2012.

Yuan, Y., Wen, Y., You, Y., Xing, Y., Li, H., Weng, X., Wu, N., Liu, S., Zhang, S., Zhang, W., Zhang, Y., 2015. Characterization of *Mycobacterium leprae* Genotypes in China—Identification of a New Polymorphism C251T in the 16S rRNA Gene. *PLOS ONE* 10, e0133268. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133268>.

Anexo 1. UPGMA gerado usando os 16/17 VNTRS.





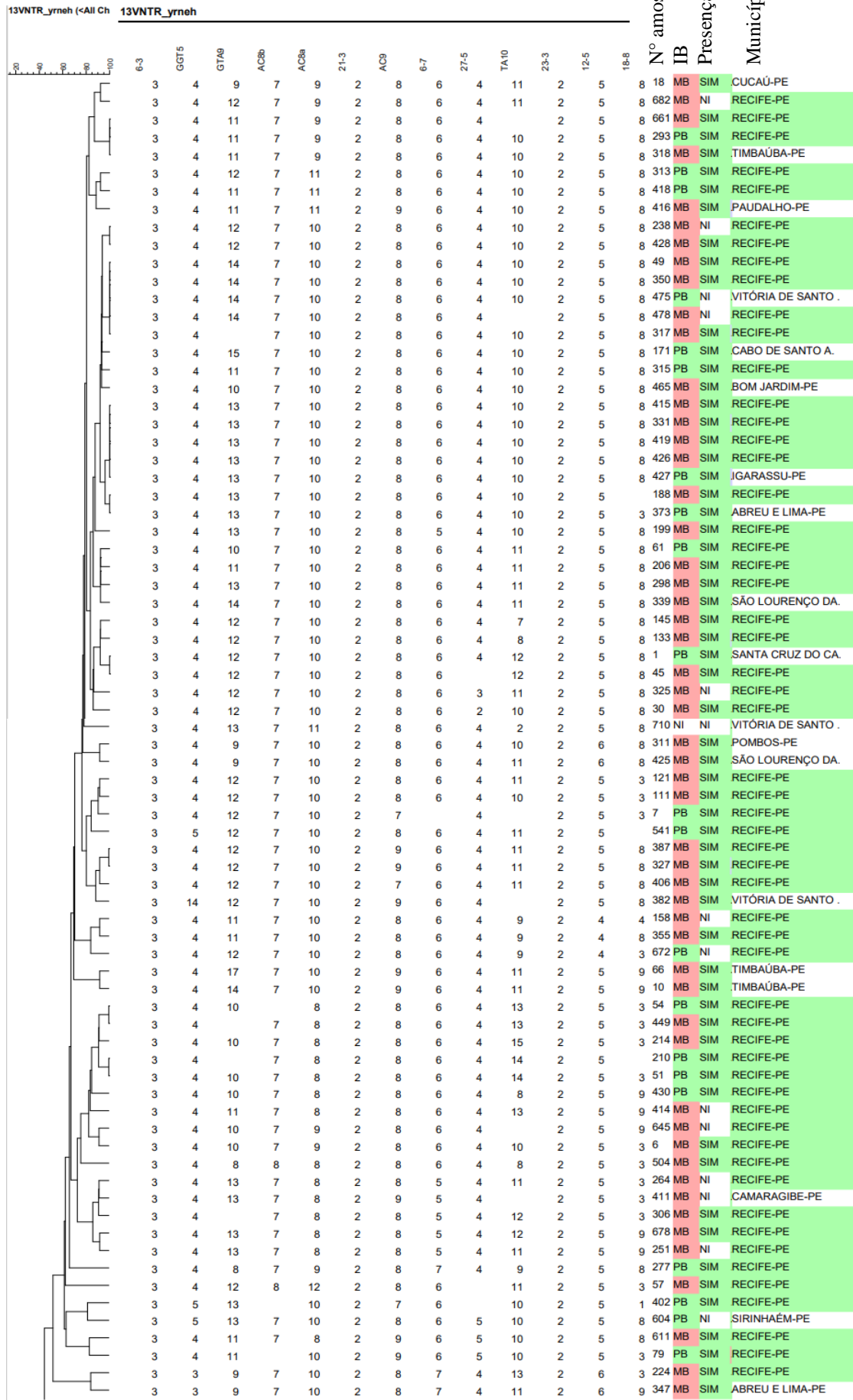
3	13	4	10	8	8	24	2	8	13	20	7	5	9	2	4	3	5	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	10	8	8	14	2	8	14	16	7	5	9	2	4	3	334	MB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	10	4	9	15	2	8	11	20	6	5	9	2	4	3	436	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	11	8	9	17	2	9	11	21	6	5	9	2	4	3	297	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	10	8	8	16	2	7	16	17	6	5	8	2	4	3	338	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	10	8	8	16	2	7	16	28	6	5	7	2	4	3	361	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	11	8	8		2	7	14	18	6	5	7	2	4	3	629	MB	SIM	ALEGRIA-PE
3	14	4	11	8	8	20	2	7	15	22	6	15		2	4	3	421	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	10	8	8	20	2	7	15	19	6	5	9	2	4	3	433	PB	SIM	CAMARAGIBE-PE
3	15	4	10	8	8	20	2	7	19	33	6	5	7	2	4	3	33	MB	SIM	OLINDA-PE
3	13	4	10	8	8	20	2	7	19	25	6	5	7	2	4	3	429	MB	SIM	JABOATÃO DOS GU.
3	13	4	9	8	8		2	7	19	17	6	5	7	2	4	3	614	PB	NI	RECIFE-PE
3	15	4	10	8	9	24	2	7	13		6	5	7	2	4	3	490	MB	NI	RECIFE-PE
3	18	4	9	8	8	28	2	7	17	25	6	5	8	2	4	3	96	PB	NI	RECIFE-PE
3	15	4	9	8	8	28	2	7	17	30	6	5	8	2	4	3	372	MB	NI	RECIFE-PE
3	19	4	9	8	8	18	2	7	17	18	6	5	8	2	4	3	279	MB	SIM	OLINDA-PE
3	16	4	9	8	8	21	2	7	15	21	6	5	8	2	4	3	110	MB	SIM	RECIFE-PE
3	16	4	9	8	8	20	2	7	17	21	6	5	8	2	4	3	494	MB	NI	RECIFE-PE
3	16	4	9	8	8	24	2	7	17		6	5	5	2	4	3	147	PB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	9	8	8	26	2	7	16	21	6	5	8	2	4	3	116	MB	NI	RECIFE-PE
3	15	4	9	8	8	26	2	7	16	19	6	5	8	2	4	3	223	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	9	8	8	21	2	7	13	19	6	5	8	2	4	3	457	MB	NI	RECIFE-PE
3	15	4	9	8	8	17	2	7	15	26	6	5	8	2	4	3	24	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	9	8	8		2	7	15	21	6	5	8	2	4	3	240	PB	NI	RECIFE-PE
3	15	4	9	8	8	20	2	7	17	26	6	5	8	2	4	3	431	MB	NI	PAULISTA-PE
3	17	4	9	8	8	22	2	7	15	26	6	5	8	2	4	3	13	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	9	8	8	28	2	7	14	36	6	5	8	2	4	3	36	PB	SIM	CASINHAS - PERNA.
3	15	4	9	8	8	22	2	7	14	18	6	5	8	2	4	3	287	MB	SIM	ESCADA-PE
3	21	4	9	8	8	17	2	7	14		6	5	8	2	4	3	514	MB	SIM	RECIFE-PE
3	18	4	9	8	8	22	2	7	14	30	6	5	8	2	4	3	366	PB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	9	8	8	21	2	7	14	26	6	5	8	2	4	3	344	PB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	9	8	8		2	7	14	20	6	5	8	2	4	3	242	PB	NI	RECIFE-PE
3	14	4	9	8	8	23	2	7	16	20	6	5	8	2	4	3	294	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	9	8	8		2	7	16	19	6	5	8	2	4	3	358	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	9	8	8	27	2	7	15	22	6	5	8	2	4	3	91	PB	SIM	RECIFE-PE
3	19	4	9	8	8	22	2	7	16	20	6	5	8	2	4	3	299	MB	SIM	RECIFE-PE
3	19	4	9	8	8	22	2	7	16	24	6	5	8	2	4	3	374	MB	SIM	RECIFE-PE
3	18	4	9	8	8	22	2	7	16	27	6	5	8	2	4	3	250	PB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	9	8	8	23	2	7	16	30	6	5	8	2	4	3	290	MB	NI	RECIFE-PE
3	17	4	9	8	8	23	2	7	16	21	6	5	8	2	4	3	307	MB	NI	RECIFE-PE
3	16	4	9	8	8	17	2	7	16	31	6	5	8	2	4	3	21	MB	NI	RECIFE-PE
3	13	4	9	8	8	17	2	7	16	26	6	5	8	2	4	3	455	MB	SIM	SÃO LOURENÇO DA.
3	16	4	9	8	8	22	2	7	13	26	6	5	8	2	4	3	35	MB	SIM	RECIFE-PE
3	16	4	9	8	8	22	2	7	13	22	6	5	8	2	4	3	285	MB	SIM	RECIFE-PE
3	16	4	9	8	8	24	2	7	13	18	6	5	8	2	4	3	43	PB	SIM	RECIFE-PE
3	16	4	9	8	8	28	2	7	13	19	6	5	8	2	4	3	226	MB	SIM	RECIFE-PE
3	22	4	9	8	8	28	2	7	13	14	6	5	8	2	4	3	76	MB	SIM	RECIFE-PE
3	17	4	9	8	8	19	2	7	13	33	6	5	8	2	4	3	349	MB	SIM	GOIANA-PE
3	16	4	9	8	8	17	2	7	13	30	5	5	8	2	4	3	301	MB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	9	8	8	17	2	7	15	20	6	5	5	2	4	3	154	MB	SIM	RECIFE-PE
3	13	5	9	8	8	20	2	7	16	8	6	5	8	2	4	3	584	PB	SIM	RECIFE-PE
3	20	4	10	8	8	24	2	7	26	14	6	5	8	2	4	3	89	MB	SIM	ESCADA -PE
3	17	4	10	8	8	22	2	7	25	14	6	5	8	2	4	3	328	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	10	8	8	17	2	7	13	14	6	5	8	2	4	3	170	MB	SIM	VICÊNCIA-PE
3	20	4	10	8	8	17	2	7	16	23	6	5	8	2	4	3	254	MB	NI	RECIFE-PE
3	17	4	10	8	8	25	2	7	19	20	6	5	8	2	4	3	174	MB	SIM	JABOATÃO DOS GU.
3	17	4	10	8	8	17	2	7	17	29	6	5	8	2	4	3	412	MB	SIM	IGARASSU-PE
3	22	4	10	8	8	19	2	7	26	15	6	5	8	2	4	3	302	PB	SIM	RECIFE-PE
3	21	4	10	8	8	24	2	7	17	25	6	5	8	2	4	3	108	MB	SIM	TORITAMA-PE
3	18	4	10	8	8	24	2	7	13	25	6	5	8	2	4	3	256	PB	SIM	RECIFE-PE
3	18	4	10	8	8	19	2	7	16	25	6	5	8	2	4	3	267	MB	SIM	RECIFE-PE
3	18	4	10	8	8	24	2	7	23	27	6	5	8	2	4	3	291	MB	SIM	CORTES-PE
3	14	4		8	8	29	2	7	13	25	6	5	8	2	4	3	100	MB	NI	RECIFE-PE
3	14	4	10	8	8	15	2	7	15	25	6	5	8	2	4	3	362	MB	NI	RECIFE-PE (CENTR.
3	16	4	10	8	8	25	2	7	15	18	6	5	8	2	4	3	16	MB	SIM	RECIFE-PE
3	16	4	10	8	8	22	2	7	15	22	6	5	8	2	4	3	235	MB	NI	RECIFE-PE
3	16	4	10	8	8	27	2	7	15	20	6	5	8	2	4	3	273	PB	SIM	RECIFE-PE
3	16	4	10	8	8	23	2	7	15	24	6	5	8	2	4	3	312	MB	SIM	RECIFE-PE
3	16	4	10	8	8	19	2	7	17	27	6	5	8	2	4	3	71	MB	SIM	SAN MARTIN-PE
3		4	11	8	8	18	2	7	15	17	6	5	8	2	4	3	189	MB	SIM	OLINDA-PE
3	13	4	10	8	8	18	2	7	15		6	5	8	2	4	3	221	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	11	8	8	16	2	7	15	20	6	5	8	2	4	3	12	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	11	8	8		2	7	15	21	6	5	8	2	4	3	305	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	10	8	8	20	2	7	15	32	6	5	8	2	4	3	348	PB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	10	8	8	20	2	7	15	28	6	5		2	4	3	424	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	10	8	8	24	2	7	15	17	6	5	8	2	4	3	303	MB	SIM	RECIFE-PE
3	18	4	10	8	8	16	2	7	15	13	6	5	8	2	4	3	208	PB	SIM	RECIFE-PE
3	16	4	10	8	8	21	2	7	15		6	5	5	2	4	3	127	MB	NI	RECIFE-PE

3	17	4	10	8	8	21	2	7	15	21	6	5	5	2	4	3	129	MB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	10	8	8	30	2	7	14	16	6	5	8	2	4	3	228	PB	SIM	RECIFE-PE
3	18	4	11	8	8	20	2	7	14	16	6	5	8	2	4	3	275	MB	SIM	RECIFE-PE
3	18	4	10	8	8	21	2	7	14	19	6	5	10	2	4	3	15	MB	SIM	RECIFE-PE
3	18	4	10	8	8	21	2	7	14	22	6	5	8	2	4	3	87	MB	SIM	SURUBIM-PE
3	18	4	10	8	8	23	2	7	14	15	6	5	8	2	4	3	371	PB	SIM	RECIFE-PE
3	17	4	10	8	8	20	2	7	14	28	6	5	8	2	4	3	182	MB	SIM	LAGOA DO CARRO-PE
3	25	4	10	8	8	21	2	7	14	28	6	5	8	2	4	3	329	PB	SIM	RECIFE-PE
3	16	4	10	8	8	29	2	7	14	19	6	5	8	2	4	3	75	MB	SIM	RECIFE-PE
3	16	4	10	8	8	12	2	7	14	19	6	5	5	2	4	3	128	MB	SIM	TRACUNHAÉM-PE
3	16	4	10	8	8	7	2	7	14	21	6	5	8	2	4	3	486	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	10	8	8	22	2	7	14	24	6	5	8	2	4	3	353	PB	SIM	PAULISTA-PE
3	15	4	10	8	8	22	2	7	14	24	6	5	8	2	4	3	417	PB	NI	RECIFE-PE
3	15	4	10	8	8	22	2	7	14	31	6	5	8	2	4	3	296	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	10	8	8	18	2	7	14	22	6	5	8	2	4	3	22	MB	NI	RECIFE-PE
3	15	4	11	8	8	22	2	7	14	33	6	5	8	2	4	3	368	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	10	9	8	29	2	7	14	17	6	5	8	2	4	3	45	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	10	8	8	29	2	7	14	17	6	5	8	2	4	3	357	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	12	8	8	23	2	7	14	20	6	5	8	2	4	3	284	MB	NI	RECIFE-PE
3	15	4	11	8	8	29	2	7	14	20	6	5	8	2	4	3	320	MB	SIM	SIRINHAÉM-PE
3	14	4	8	8	8	21	2	7	17	10	6	5	8	2	4	3	194	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	9	8	8	21	2	7	17	23	6	5	8	2	4	3	345	MB	NI	PAULISTA-PE
3	14	4	8	8	8	18	2	7	17	20	7	5	8	2	4	3	17	PB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	13	8	8	21	2	7	17	17	7	5	8	2	4	3	101	PB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	9	8	9	19	2	7	19	18	6	5	8	2	4	3	8	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	10	8	8	26	2	7	18	22	6	4	8	2	4	3	123	MB	SIM	RECIFE-PE
3	19	4	10	9	8	26	2	7	19	29	6	5	8	2	4	3	326	PB	SIM	RECIFE-PE
3	19	4	10	9	8	24	2	7	14	23	6	5	8	2	4	3	485	MB	NI	RECIFE-PE
3	18	4	10	9	8	24	2	7	20	21	6	5	8	2	4	3	495	PB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	10	9	8	25	2	7	13	19	6	5	8	2	4	3	452	MB	NI	RECIFE-PE
3	16	4	10	7	8	26	2	7	14	25	6	5	8	2	4	3	104	PB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	10	7	8	26	2	7	14	20	6	5	7	2	4	3	705	MB	SIM	BARRA DO GUABIR.
3	17	4	10	8	8	22		6	12	17	6	5	8	2	4	3	440	MB	SIM	AMARAGI-PE
3	17	4	9	8	9	22	2	6	14	17	6	5	8	2	4	3	538	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	9	8	8		2	6	14	22	6	5	11	2	4	3	539	MB	SIM	RECIFE-PE
3	17	4	10	8	8	24	2	7	15	33	6	5	8	2	4	4	385	PB	SIM	RECIFE-PE
3	18	5	10	8	8		2	7	15	23	6	5	8	2	4	4	399	MB	SIM	RECIFE-PE
3	16	4	10	8	8	21	2	7	17	17	6	5	8	2	4	4	389	MB	NI	RECIFE-PE
3	18	5	10	8	8	25	2	7	18	17	6	5	8	2	4	3	537	MB	SIM	RECIFE-PE

3	17	5	10	8	8	21	2	6	14	21	6	5	8	2	4	4	567	MB	NI	RECIFE-PE
3	18	5	10	8	8	24	2	6	17	21	6	5	8	2	4	8	605	PB	SIM	RECIFE-PE
3	18	4	9	8	8	19	2	7	16	19	5	3	8	2	4	3	201	MB	SIM	OLINDA-PE
3	18	4		8	8	19	2	7	15	21	4	3	8	2	4	3	272	PB	NI	RECIFE-PE
3	17	4	10	8	8	21	2	7	19		5	3	8	2	4	3	202	MB	SIM	ESCADA-PE
3	14	4	12	8	8	22	2	7	15	35	7	5	8	2	4	3	289	MB	NI	FORMOSO-PE
3	14	4	12	8	8		2	7	15	10	7	5	8	2	4	3	702	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	12	8	7	26	2	7	15	19	7	5	8	2	4	3	105	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	11	8	8	20	2	7	15	26	7	5	8	2	4	3	183	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	11	8	7	21	2	7	13	17	7	5	8	2	4	3	179	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	11	8	8	25	2	7	13	25	7	5	8	2	4	3	278	MB	SIM	POMBOS-PE
3	14	4	11	8	8	17	2	7	12		7	5	9	2	4	3	346	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	11	8	8	22	2	7	15	29	7	5	9	2	4	3	515	MB	SIM	OLINDA-PE
3	14	4	11	8	8	18	2	7	14	23	7	5	9	2	4	3	270	MB	NI	RECIFE-PE
3	16	4	11	8	8	18	2	7	14	27	7	5	9	2	4	3	333	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	11	8	8	26	2	7	16	27	7	5	5	2	4	3	141	PB	NI	RECIFE-PE
3	14	4	11	8	8	21	2	7	15		7	5	5	2	4	3	153	MB	NI	IPSEP-PE
3	14	4	13	8	8	19	2	7	16	12	7	5	10	2	4	3	192	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	13	8	8	16	2	7	16	18	7	5	8	2	4	3	369	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	5	11	8	8	27	2	7	15	12	7	5	7	2	4	3	546	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	11	8	8	21	2	7	15	19	7	5	8	2	4	3	106	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	11	8	8	21	2	7	14	30	7	5	8	2	4	3	222	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	11	8	8	19		7	15	28	7	5	8	2	5	3	365	PB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	11	8	8	20	2	7	16	24	7	4	8	2	4	3	46	PB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	11	8	8	24	2	7	13	22	7	5	5	2	4	3	126	PB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	12	8	8	24	2	7	18	24	7	5		2	4	3	407	MB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	11	8	8	21	2	7	13	19	8	5	8	2	4	3	119	MB	SIM	PRAZERES-PE
3	13	4	11	8	8	19	2	7	13	19	7	5	6	2	4	3	124	PB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	11	8	8	23	2	7	12	29	6	5	9	2	4	3	300	MB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	11	8	8	25	2	7	12	24	7	5	9	2	4	3	364	MB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	11	8	8	25	2	7	12	27	7	5	10	2	5	3	516	MB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	11	8	8	28	2	8	15	30	7	5	8	2	4	3	184	PB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	11	8	8	13	2	8	15	17	7	5	7	2	4	3	393	MB	SIM	ARARIPINA-PE
3	13	4	11	8	8	25	2	7	15	32	5	5	8	2	4	3	78	MB	NI	RECIFE-PE
3	13	4	8	8	8	16	2	8	15	26	6	5	8	2	4	3	253	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	5	11	8	8	25	2	6	16		7	5	8	2	4	4	396	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	5	8	8	8	22	2	6	16	15	6	5	8	2	4	3	397	MB	SIM	JABOATÃO DOS GU.
3	15	4	9	8	8	25	2	8	16	19	6	5	8	2	4	4	391	MB	NI	RECIFE-PE
3	13	5	10	8	8	24	2	7	16	17	6	5	7	2	4	4	569	PB	SIM	VITÓRIA DE SANTO.

3	13	4	10	7	8	23	2	7	14	17	6	5	7	2	4	4	618	MB	NI	RECIFE-PE
3	18	5	9	8	9	23	2	7	14	17	6	5		2	4	4	543	PB	SIM	RECIFE-PE
3		5	9	7	8	25	2	7	12	17	7	5	9	2	4	4	444	MB	SIM	RECIFE-PE
	14	5	9	8	8	13	2	7	16	22	6	5	7	1	4	3	545	PB	NI	RECIFE-PE
3	11	4	8	7	10	17	2	7	12	8	6	5	8	2	4	3	173	MB	SIM	VICÊNCIA-PE
3	12	4	8	7	10	18	2	7	12	7	6	5	8	2	4	3	218	MB	SIM	RECIFE-PE
3	11	4	9	7	10	19	2	7	12	17	6	5	10	2	4	3	286	PB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	12	7	7		2	7	13	17	6	5	8	2	4	3	481	MB	SIM	ITAQUITINGA-PE
3	14	4	8	7	11	19	2	7	16	14	6	5	8	2	4	3	263	MB	NI	RECIFE-PE
3	11	4	8	7	11	16	2	7	13	8	7	5	5	2	4	3	150	MB	SIM	TIMBAÚBA-PE
3	12	4	9	7	9	25	2	7	12	23	6	5	8	2	4	3	446	MB	SIM	AFOGADOS DA ING.
3	12	4	9	8	9	25	2	7	12	12	6	5	8	2	4	3	454	PB	NI	RECIFE-PE
3	12	4	9	7	9	26	2	7	12	22	6	5	8	2	4	3	487	MB	NI	AFOGADOS DA ING.
3	12	4	8	7	9		2	7	12	17	6	5	8	2	4	9	582	PB	SIM	RECIFE-PE
3	12	4	8	7	9	25	2	8	11	24	6	5	8	2	4	3	408	MB	SIM	RECIFE-PE
3	12	4	9	7	10	16	2	8	12	18	6	5	9	2	4	3	205	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	9	7	9	16	2	8	12	18	6	5	8	2	4	3	463	MB	SIM	RECIFE-PE
3	12	4	8	7	9	20	2	8	12	18	6	5		2	4	3	665	MB	SIM	MACAPARANA-PE
3	16	4	9	7	9	17	2	8	12	25	6	5	9	2	4	3	262	MB	SIM	CAMARAGIBE-PE
3	11	4	9	7	9	15	2	8	15	17	6	5	8	2	4	3	216	PB	SIM	OLINDA-PE
3	15	4	9	7	9	15	2	8	11	17	6	5	8	2	4	3	370	MB	SIM	RECIFE-PE
3	12	4	9	7	9	15	2	8	14	23	6	5	8	2	4	3	319	PB	SIM	OLINDA-PE
3	13	4	9	7	9	13	2	8	12	25	6	5	8	2	4	3	274	MB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	9	7	9		2	8	11	29	6	5	8	2	4	3	390	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	9	7	9	15	2	7	12	21	6	5	8	2	4	3	23	PB	NI	RECIFE-PE
3	14	4	9	7	9	15	2	8	12	24	6	5	8	2	4	3	342	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	9	8	9		2	8	12	17	6	5	8	2	4	3	451	MB	NI	TIMBAÚBA-PE
3	11	4	10	7	9	13	2	8	16	23	6	5	8	2	4	3	65	MB	SIM	RECIFE-PE
3	12	4	10	7	9	15	2	8	13	16	7	5	8	2	4	3	113	MB	SIM	RECIFE-PE
3	12	5	9	7	9	16	2	8	13	16	5	5	8	2	4	3	544	MB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	9	7	9	15	2	8	13	23	5	5	8	2	4	3	19	PB	NI	RECIFE-PE
3	13	4	9	7	9	15	2	8	13	24	5	5	8	2	4	3	95	MB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	9	7	9	15	2	8	13	19	5	5	8	2	4	3	204	PB	NI	BAIRRO DO PINA-PE
3	13	4	9	7	9	15	2	8	13	26	5	5	8	2	4	3	309	MB	SIM	SIRINHAÉM-PE
3	13	4		7	9	15	2	8	13	30	5	5	8	2	4	3	310	PB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	10	7	9	15	2	8	13	22	5	5	8	2	4	3	225	MB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	9	7	9	14	2	8	13	8	5	5	8	2	4	3	462	MB	NI	RECIFE-PE
3	13	4	9	7	9	16	2	8	14	21	5	5	8	2	4	3	44	MB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	9	7	9	15	2	8	11	21	5	5	8	2	4	3	266	MB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	9	7	9	15	2	8	14	17	5	5	8	2	4	3	271	MB	SIM	ITAMARACA-PE
3	13	4	9	7	9	15	2	8	14	23	5	5		2	4	3	709	PB	NI	RECIFE-PE
3	13	4	9	7	9	16	2	8	13	23	5	5	5	2	4	3	149	MB	SIM	SIRINHAÉM-PE
3	13	4	9	7	9	18	2	8	13	23	5	5	8	2	4	3	304	MB	NI	RECIFE-PE
3	13	4	10	7	9	15	2	8	13	21	5	5	5	2	4	3	146	MB	SIM	OLINDA-PE
3	10	4	9	7	9	15	2	8	13	15	5	5	8	2	5	8	435	PB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	11	7	9	15	2	8	10	16	7	4	5	2	4	3	20	MB	NI	RECIFE-PE
3	11		9	7	9	15	2	8	11	9	6	5	12	2	5	9	503	PB	SIM	RECIFE-PE
3	13	4	9	7	8	15	2	7	13	16	6	5	9	1	4	3	92	MB	SIM	VICÊNCIA-PE
3	18	4	9	7	10	18	2	7	13	16	6	5	9	1	4	3	98	MB	SIM	GRAVATÁ-PE
3	16	4	7	7	10	14	2	7	14	16	7	5	8	1	4	3	112	MB	NI	FLORESTA-PE
3	21	4	11	7	8	16	2	8	13	12	6	5	9	2	4	8	236	MB	SIM	PRIMAVERA-PE
3	20	4	13	7	8	16	2	8	14	15	6	5	9	2	4	8	323	MB	SIM	RECIFE-PE
3	11	4	11	7	8	17	2	8	16	14	6	5	8	2	4	8	34	MB	SIM	RECIFE-PE
3	11	4	11	7	8	16	2	8	17	15	6	5	8	2	4	8	233	MB	NI	RECIFE-PE
3	10	4	12	7	8	16	2	7	16	15	6	5		2	4	8	655	MB	SIM	RECIFE-PE
3	10	4	12	7	10		2	8	12	13	6	5	8	2	4	8	671	MB	SIM	RECIFE-PE
3	16	4	12	7	8		2	8	13	14	6	5	14	2	4	9	668	PB	SIM	RECIFE-PE
3	16	4	12	8	8	22	2	7	13	13	6	5		2	4	8	673	MB	NI	RECIFE-PE
3	16	5	10	7	8	16	2	8	17	18	6	5	8	2	4	4	597	PB	SIM	RECIFE-PE
3	12	4	11	7	8	19	2	9	10	12	5	5	7	2	4	8	375	MB	SIM	CUPINA-PE
3	13	4	8	7	8	13	2	8	14	16	6	5	6	1	4	8	132	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	8	7	8	13	2	8	12	15	6	2	9	1	4	8	359	PB	SIM	BARREIROS-PE
3	14	4	8	7	10	20	2	8	13	17	6	5	10	1	4	8	249	MB	SIM	RECIFE-PE
3	14	4	10	7	8	26	1	10	13	14	6	5	9	1	4	8	181	MB	SIM	RECIFE-PE
3	15	4	10	7	9	21	2	7	13	18	7	5	9	2	4	8	83	PB	SIM	JABOATÃO DOS GU.
3	21	4	10	8	9	25	2	7	15	21	7	5	10	2	5	8	472	PB	NI	ITAMARACÁ-PE
3	15	4	11	7	9	13	2	7	14	15	6	5	8	1	5	8	493	MB	SIM	ESCADA-PE
3	13	4	13	6	8	14	2	8	17	23	6	6	11	1	4	7	220	MB	SIM	RECIFE-PE

## Anexo 2. UPGMA gerado usando os 13 VNTRS.



	3	5	13	7	8	2	8	7	5	13	2	5	3	260	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	5	9	7	8	2	7	7	5	9	2	4	4	444	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	5	10	7	9	2	8	6	5	8	2	4		532	PB	SIM	PAUDALHO-PE
	3	5	10	7	8	2	8	6	5	8	2	4	4	597	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	5	7	7	9	2	8	6	5	2	2	3	5	643	MB	SIM	RECIFE-PE
	3		9	7	9	2	8	6	5	12	2	5	9	503	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	7	8	2	8	6	5	8	2	4	8	34	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	7	8	2	8	6	5	8	2	4	8	233	MB	NI	RECIFE-PE
	3	4	11	7	8	2	8	6	5	9	2	4	8	236	MB	SIM	PRIMAVERA-PE
	3	4	13	7	8	2	8	6	5	9	2	4	8	323	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	12	7	10	2	8	6	5	8	2	4	8	671	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	12	8	8	2	7	6	5		2	4	8	673	MB	NI	RECIFE-PE
	3	4	12	7	8	2	7	6	5		2	4	8	655	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	12	7	8	2	8	6	5	14	2	4	9	668	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	7	8	2	9	5	5	7	2	4	8	375	MB	SIM	CUPINA-PE
	3	4	8	7	8	2	8	6	5	6	1	4	8	132	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	8	7	8	2	8	6	2	9	1	4	8	359	PB	SIM	BARREIROS-PE
	3	4	8	7	10	2	8	6	5	10	1	4	8	249	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	9	7	8	2	7	6	5	9	1	4	3	92	MB	SIM	VICÊNCIA-PE
	3	4	9	7	10	2	7	6	5	9	1	4	3	98	MB	SIM	GRAVATÁ-PE
	3	4		7	8	2	7	6	5	9	1	4	8	340	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	10	9	8	2	7	6	5	9	1	4	5	467	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	10	7	8	1	10	6	5	9	1	4	8	181	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	13	8	8	2	7	7	5	8	2	4	3	369	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	13	8	8	2	7	7	5	8	2	4	3	101	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	7	7	5	8	2	4	3	106	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	7	7	5	8	2	4	3	222	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	7	7	5	8	2	4	3	278	MB	SIM	POMBOS-PE
	3	4	11	8	8	2	7	7	5	8	2	4	3	183	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	8	8	8	2	7	7	5	8	2	4	3	17	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	12	8	8	2	7	7	5	8	2	4	3	702	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	12	8	8	2	7	7	5	8	2	4	3	289	MB	NI	FORMOSO-PE
	3	4	12	8	8	2	7	7	5		2	4	3	407	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	7	7	5	9	2	4	3	270	MB	NI	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	7	7	5	9	2	4	3	333	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	7	7	5	9	2	4	3	346	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	7	7	5	9	2	4	3	515	MB	SIM	OLINDA-PE
	3	4	11	8	8	2	7	7	5	9	2	4	3	364	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	7	7	5	5	2	4	3	126	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	7	7	5	5	2	4	3	141	PB	NI	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	7	7	5	5	2	4	3	153	MB	NI	JPSEP-PE
	3	4	11	8	8	2	7	7	5	6	2	4	3	124	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	7	7	4	8	2	4	3	47	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	13	8	8	2	7	7	5	10	2	4	3	192	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	12	8	7	2	7	7	5	8	2	4	3	105	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	7	2	7	7	5	8	2	4	3	179	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8		7	7	5	8	2	5	3	365	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	7	7	5	10	2	5	3	516	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	5	11	8	8	2	7	7	5	7	2	4	3	546	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	8	7	5	8	2	4	3	184	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	8		5	8	2	4	3	510	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	8	7	5	7	2	4	3	393	MB	SIM	ARARIPINA-PE
	3	4	10	8	8	2	8	7	5	9	2	4	3	5	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	10	8	8	2	8	7	5	9	2	4	3	334	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	14	7	8	2	8	7	5		2	4	3	395	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	10	9	8	2	7	6	5	8	2	4	3	46	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	10	9	8	2	7	6	5	8	2	4	3	326	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	10	9	8	2	7	6	5	8	2	4	3	452	MB	NI	RECIFE-PE
	3	4	10	9	8	2	7	6	5	8	2	4	3	485	MB	NI	RECIFE-PE
	3	4	10	9	8	2	7	6	5	8	2	4	3	495	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	10	7	8	2	7	6	5	8	2	4	3	104	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	10	8	8	2	7	6	4	8	2	4	3	123	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	10		8	2	7	6	4	8	2	4	3	103	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	10	8	8	2	7	6	5	10	2	4	3	707	MB	SIM	VITÓRIA DE SANTO .
	3	4	10	8	8	2	7	6	5	10	2	4	3	15	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	10	8	8	2	7	6	5	9	2	4	3	433	PB	SIM	CAMARAGIBE-PE
	3	4	9	8	8	2	7	6	5	5	2	4	3	147	PB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	9	8	8	2	7	6	5	5	2	4	3	154	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	10	8	8	2	7	6	5	5	2	4	3	129	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	10	8	8	2	7	6	5	5	2	4	3	127	MB	NI	RECIFE-PE
	3	4	10	8	8	2	7	6	5	5	2	4	3	128	MB	SIM	TRACUNHAÉM-PE
	3	4	11	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	12	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	368	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	189	MB	SIM	OLINDA-PE
	3	4	11	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	275	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	305	MB	SIM	RECIFE-PE
	3	4	11	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	320	MB	SIM	SIRINHAÉM-PE
	3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	254	MB	NI	RECIFE-PE

3	4		8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	703	PB	SIM	JABOATÃO DOS GU.
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	689	MB	NI	OLINDA-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	22	MB	NI	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	16	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	71	MB	SIM	SAN MARTIN-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	75	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	170	MB	SIM	VICÊNCIA-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	174	MB	SIM	JABOATÃO DOS GU.
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	182	MB	SIM	LAGOA DO CARRO-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	221	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	235	MB	NI	RECIFE-PE
3	4		8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	239	MB	NI	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	256	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	267	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	273	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	280	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	291	MB	SIM	CORTES-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	302	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	303	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	312	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	328	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	329	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	338	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	348	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	353	PB	SIM	PAULISTA-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	357	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	362	MB	NI	RECIFE-PE (CENTRO.
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	208	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	371	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	412	MB	SIM	JGARASSU-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	417	PB	NI	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	424	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	482	MB	NI	JABOATÃO DOS GU.
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	486	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	228	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	108	MB	SIM	TORITAMA-PE
3	4		8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	100	MB	NI	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	89	MB	SIM	ESCADA -PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	87	MB	SIM	SURUBIM -PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	296	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	8	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	680	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	8	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	194	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	691	MB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	250	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	21	MB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	13	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	36	PB	SIM	CASINHAS - PERNA.
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	24	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	76	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	35	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	96	PB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	110	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	116	MB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	91	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	43	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	223	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	226	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	240	PB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	242	PB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	269	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	279	MB	SIM	OLINDA-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	285	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	287	MB	SIM	ESCADA-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	290	MB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	294	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	299	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	307	MB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	187	PB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	344	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	345	MB	NI	PAULISTA-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	349	MB	SIM	GOIANA-PE
3	4	9		8	2	7	6		8	2	4	3	354	PB	SIM	MORENO-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	358	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	366	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	372	MB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	374	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	394	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	431	MB	NI	PAULISTA-PE

3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	455 MB	SIM	SÃO LOURENÇO DA.
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	457 MB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	494 MB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	514 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	12	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	284 MB	NI	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	3	7	6	5	8	2	4	3	706 PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	6	6	5	8	2	4	4	3	440 MB	SIM	AMARAGI-PE
3	4	10	8	8	2	9	6	5	8	2	4	3	534 PB	SIM	RECIFE-PE
3	5	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	537 MB	SIM	RECIFE-PE
3	5	10	8	8	2	7	6	5	2	4	4	3	556 PB	SIM	RECIFE-PE
3	5	9	8	8	2	7	6	5	8	2	4	3	584 PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	7	2	4	3	33 MB	SIM	OLINDA-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	7	2	4	3	361 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	7	2	4	3	429 MB	SIM	JABOATÃO DOS GU.
3	4	11	8	8	2	7	6	5	7	2	4	3	629 MB	SIM	ALEGRIA-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	5	7	2	4	3	614 PB	NI	RECIFE-PE
3	4	10	8	9	2	7	6	5	7	2	4	3	490 MB	NI	RECIFE-PE
3	4	11	8	8	2	7	8	5	8	2	4	3	119 MB	SIM	PRAZERES-PE
3	4	11	8	8	2	7	5	5	8	2	4	3	78 MB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	4	5	8	2	4	3	367 PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	5	5	8	2	4	3	301 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	11	8	8	2	7	6	5	9	2	4	3	300 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	11	8	8	2	7	6	15	2	4	4	3	421 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	9	2	7	6	5	8	2	4	3	8 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	9	2	7	6	5	8	2	4	3	454 PB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	8	9	2	6	6	5	8	2	4	3	538 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	9	2	8	6	5	8	2	4	3	451 MB	NI	TIMBAÚBA-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	4	385 PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	4	389 MB	NI	RECIFE-PE
3	5	10	8	8	2	7	6	5	8	2	4	4	399 MB	SIM	RECIFE-PE
3	5	10	8	8	2	7	6	5	7	2	4	4	569 PB	SIM	VITÓRIA DE SANTO .
3	4	9	8	8	2	8	6	5	8	2	4	4	391 MB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	6	5	7	2	4	4	4	405 MB	SIM	RIBEIRÃO-PE
3	4	8	8	8	2	8	6	5	8	2	4	3	253 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	8	6	5	2	4	4	3	410 PB	SIM	SÃO LOURENÇO DA.
3	4	9	8	8	2	6	6	5	11	2	4	3	539 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	5	3	8	2	4	3	201 MB	SIM	OLINDA-PE
3	4	10	8	8	2	7	5	3	8	2	4	3	202 MB	SIM	ESCADA-PE
3	4	8	8	8	2	7	4	3	8	2	4	3	272 PB	NI	RECIFE-PE
6	4	10	8	8	2	7	3	7	2	4	4	3	579 MB	NI	RECIFE-PE
3	4	10	7	8	2	7	6	5	8	2	5	3	330 PB	SIM	SANTA MARIA DA BO.
3	10	7	8	2	8	6	5	11	2	5	5	529 MB	SIM	RECIFE-PE	
3	4	10	7	8	2	7	6	5	7	2	4	3	705 MB	SIM	BARRA DO GUABIR.
3	4	10	7	8	2	7	6	5	7	2	4	4	618 MB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	8	8	2	7	6	8	14	2	5	3	500 PB	NI	RECIFE-PE
3	5	10	8	8	2	6	6	5	8	2	4	4	567 MB	NI	RECIFE-PE
3	5	10	8	8	2	6	6	5	8	2	4	8	605 PB	SIM	RECIFE-PE
3	5	8	8	8	2	6	6	5	8	2	4	3	397 MB	SIM	JABOATÃO DOS GU.
3	5	11	8	8	2	6	7	5	8	2	4	4	396 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	8	9	2	7	6	5	7	2	4	4	484 MB	NI	RECIFE-PE
3	5	9	8	9	2	7	6	5	2	4	4	4	543 PB	SIM	RECIFE-PE
5	9	8	8	2	7	6	5	7	1	4	4	3	545 PB	NI	RECIFE-PE
3	4	10	7	7	2	8	6	5	8	2	4	3	686 MB	NI	RECIFE-PE
3	4	10	7	9	2	8	6	5	8	2	4	3	65 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	7	9	2	8	7	5	8	2	4	3	113 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	11	7	7	2	8	8	2	4	4	3	53 MB	SIM	RECIFE-PE	
3	4	9	7	9	2	8	5	5	2	4	4	3	709 PB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	7	9	2	8	5	5	8	2	4	3	95 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	7	9	2	8	5	5	8	2	4	3	19 PB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	7	9	2	8	5	5	8	2	4	3	204 PB	NI	BAIRRO DO PINA-PE
3	4	7	9	2	8	5	5	8	2	4	4	3	209 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	7	9	2	8	5	5	8	2	4	3	266 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	7	9	2	8	5	5	8	2	4	3	271 MB	SIM	ITAMARACÁ-PE
3	4	9	7	9	2	8	5	5	8	2	4	3	304 MB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	7	9	2	8	5	5	8	2	4	3	309 MB	SIM	SIRINHAÉM-PE
3	4	7	9	2	8	5	5	8	2	4	4	3	310 PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	7	9	2	8	5	5	8	2	4	3	462 MB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	7	9	2	8	5	5	8	2	4	3	44 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	7	9	2	8	5	5	8	2	4	3	225 MB	SIM	RECIFE-PE
3	5	9	7	9	2	8	5	5	8	2	4	3	544 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	7	9	2	8	5	5	5	2	4	3	149 MB	SIM	SIRINHAÉM-PE
3	4	10	7	9	2	8	5	5	5	2	4	3	146 MB	SIM	OLINDA-PE
3	4	9	7	9	2	8	6	5	8	2	4	3	216 PB	SIM	OLINDA-PE
3	4	9	7	9	2	8	6	5	8	2	4	3	274 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	7	9	2	8	6	5	8	2	4	3	319 PB	SIM	OLINDA-PE
3	4	9	7	9	2	8	6	5	8	2	4	3	342 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	7	9	2	8	6	5	8	2	4	3	370 MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	7	9	2	8	6	5	8	2	4	3	390 MB	SIM	RECIFE-PE

3	4	9	7	9	2	8	6	5	8	2	4	3	463	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	7	9	2	7	6	5	8	2	4	3	23	PB	NI	RECIFE-PE
3	4	9	7	9	2	7	6	5	8	2	4	3	446	MB	SIM	AFOGADOS DA ING.
3	4	9	7	9	2	7	6	5	8	2	4	3	487	MB	NI	AFOGADOS DA ING.
3	4	8	7	9	2	8	6	5	8	2	4	3	665	MB	SIM	MACAPARANA-PE
3	4	8	7	9	2	8	6	5	8	2	4	3	408	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	7	10	2	8	6	5	9	2	4	3	205	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	7	9	2	8	6	5	9	2	4	3	262	MB	SIM	CAMARAGIBE-PE
3	4	9	7	9	2	8	5	5	8	2	5	8	435	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	8	7	9		7	6	5	8	2	4	3	687	MB	NI	RECIFE-PE
3	4	8	7	9	2	7	6	5	8	2	4	9	582	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	8	7	10	2	7	6	5	2	4	4	3	102	PB	NI	RECIFE-PE
3	4	8	7	10	2	7	6	5	8	2	4	3	173	MB	SIM	VICÊNCIA-PE
3	4	8	7	10	2	7	6	5	8	2	4	3	218	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	8	7	11	2	7	6	5	8	2	4	3	263	MB	NI	RECIFE-PE
3	4	12	7	7	2	7	6	5	8	2	4	3	481	MB	SIM	JTAQUITINGA-PE
3	4	8	7	11	2	7	7	5	5	2	4	3	150	MB	SIM	TIMBAÚBA-PE
3	4	11	7	9	2	8	7	4	5	2	4	3	20	MB	NI	RECIFE-PE
3	4	12	7	8	2	8		4	8	2	4	3	507	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9		10	2	9	6		11	2	4	3	3	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	9	7	10	2	7	6	5	10	2	4	3	286	PB	SIM	RECIFE-PE
3	4	11	8	9	2	9	6	5	9	2	4	3	297	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	10	4	9	2	8	6	5	9	2	4	3	436	MB	SIM	RECIFE-PE
3	4	7	7	10	2	7	7	5	8	1	4	3	112	MB	NI	FLORESTA-PE
3	4	9	7	9	2	7	7	5	8	1	4	8	698	MB	NI	UPATININGA-PE
3	4	10	7	9	2	7	7	5	9	2	4	8	83	PB	SIM	JABOATÃO DOS GU.
3	4	10	8	9	2	7	7	5	10	2	5	8	472	PB	NI	ITAMARACÁ-PE
3	5		7	9	2	7	7	5	10	2	5	8	518	PB	NI	RECIFE-PE
3	4	11	7	9	2	7	6	5	8	1	5	8	493	MB	SIM	ESCADA-PE
3	4	13	6	8	2	8	6	6	11	1	4	7	220	MB	SIM	RECIFE-PE
3	5	13		8	2	7	7	5	10	2	6	8	606	PB	NI	RECIFE-PE
3	5	13		9	2	7	7	4	10	2	6	5	610	MB	SIM	RECIFE-PE
3	5	13	8	9	2	8	7	4	8	2	6	4	607	PB	SIM	RECIFE-PE
14	10	8	8		16	2	6		2	4	3	631	MB	NI	RECIFE-PE	



**Anexo 3. Tabela com informações dos pacientes incluídos nas análises de 16/17 VNTRs.**

Amostra	IB	16S (34)	Rlep (29)	6-3	AT17	GGT5	GTA9	AC8b	AC8a	AT15	21-3	AC9	TTC	TA18	6-7	27-5	TA10	23-3	12-5	18-8	Número de loci	Quantidade de genomas
1	1	30,55	29,01	3	11	4	12	7	10	14	2	8	13	18	6	4	12	2	5	8	17	622
5	4	27,83	27,48	3	13	4	10	8	8	24	2	8	13	20	7	5	9	2	4	3	17	3841
6	3	Undetermined	Undetermined	3	12	4	10	7	9	17	2	8	12	17	6	4	10	2	5	3	17	
8	3	Undetermined	28,77	3	15	4	9	8	9	19	2	7	19	18	6	5	8	2	4	3	17	
10	3	26,31	21,55	3	10	4	14	7	10	20	2	9	13	14	6	4	11	2	5	9	17	10624
12	3	26,04	27,54	3	15	4	11	8	8	16	2	7	15	20	6	5	8	2	4	3	17	12728
13	4	26,06	25,21	3	17	4	9	8	8	22	2	7	15	26	6	5	8	2	4	3	17	12559
15	3	25,98	21,81	3	18	4	10	8	8	21	2	7	14	19	6	5	10	2	4	3	17	13250
16	3	29,4	23,58	3	16	4	10	8	8	25	2	7	15	18	6	5	8	2	4	3	17	1343
17	2	27,22	26,47	3	14	4	8	8	8	18	2	7	17	20	7	5	8	2	4	3	17	5778
19	0	Undetermined	Undetermined	3	13	4	9	7	9	15	2	8	13	23	5	5	8	2	4	3	17	
20	3	31,72	27,67	3	15	4	11	7	9	15	2	8	10	16	7	4	5	2	4	3	17	284
21	3	27,28	23,3	3	16	4	9	8	8	17	2	7	16	31	6	5	8	2	4	3	17	5550
22	4	27,13	22,87	3	15	4	10	8	8	18	2	7	14	22	6	5	8	2	4	3	17	6137
23	2	30,63	26,06	3	14	4	9	7	9	15	2	7	12	21	6	5	8	2	4	3	17	590
24	4	24,27	25,97	3	15	4	9	8	8	17	2	7	15	26	6	5	8	2	4	3	17	41616
30	4	26,77	28,67	3	10	4	12	7	10	12	2	8	12	18	6	2	10	2	5	8	17	7809
33	3	26,86	22,34	3	15	4	10	8	8	20	2	7	19	33	6	5	7	2	4	3	17	7352
34	4	24,61	19,97	3	11	4	11	7	8	17	2	8	16	14	6	5	8	2	4	8	17	33146
35	4	24,54	20,2	3	16	4	9	8	8	22	2	7	13	26	6	5	8	2	4	3	17	34736
36	2	29,61	29,9	3	15	4	9	8	8	28	2	7	14	36	6	5	8	2	4	3	17	1167
43	2	30,32	24,59	3	16	4	9	8	8	24	2	7	13	18	6	5	8	2	4	3	17	726
44	4	29,4	24,43	3	13	4	9	7	9	16	2	8	14	21	5	5	8	2	4	3	17	1343
45	4	34,95	30,81	3	15	4	10	9	8	29	2	7	14	17	6	5	8	2	4	3	17	33
46	2	30,77	24,76	3	15	4	11	8	8	20	2	7	16	24	7	4	8	2	4	3	17	537

49	3	28,4	24,74	3	10	4	14	7	10	12	2	8	12	18	6	4	10	2	5	8	17	2623
51	2	30,15	24,89	3	11	4	10	7	8	18	2	8	15	21	6	4	14	2	5	3	17	813
61	2	29,3	24,37	3	11	4	10	7	10	13	2	8	12	16	6	4	11	2	5	8	17	1436
65	4	27,27	24,68	3	11	4	10	7	9	13	2	8	16	23	6	5	8	2	4	3	17	5588
66	4	26,34	22,14	3	10	4	17	7	10	18	2	9	13	16	6	4	11	2	5	9	17	10413
71	3	30,12	27,91	3	16	4	10	8	8	19	2	7	17	27	6	5	8	2	4	3	17	829
75	3	35,72	34,47	3	16	4	10	8	8	29	2	7	14	19	6	5	8	2	4	3	17	20
76	3	27,65	24,62	3	22	4	9	8	8	28	2	7	13	14	6	5	8	2	4	3	17	4333
78	3	30,34	27,27	3	13	4	11	8	8	25	2	7	15	32	5	5	8	2	4	3	17	716
83	1	33,44	34,1	3	15	4	10	7	9	21	2	7	13	18	7	5	9	2	4	8	17	90
87	3	26,97	21,81	3	18	4	10	8	8	21	2	7	14	22	6	5	8	2	4	3	17	6830
89	4	28,97	30,73	3	20	4	10	8	8	24	2	7	26	14	6	5	8	2	4	3	17	1791
91	2	26,98	20,77	3	14	4	9	8	8	27	2	7	15	22	6	5	8	2	4	3	17	6785
92	4	22,79	17,07	3	13	4	9	7	8	15	2	7	13	16	6	5	9	1	4	3	17	112064
95	5	Undetermined	Undetermined	3	13	4	9	7	9	15	2	8	13	24	5	5	8	2	4	3	17	
96	1	Undetermined	Undetermined	3	18	4	9	8	8	28	2	7	17	25	6	5	8	2	4	3	17	
98	4	25,72	21,78	3	18	4	9	7	10	18	2	7	13	16	6	5	9	1	4	3	17	15768
101	1	31,75	25,83	3	13	4	13	8	8	21	2	7	17	17	7	5	8	2	4	3	17	279
104	2	27,55	22,5	3	16	4	10	7	8	26	2	7	14	25	6	5	8	2	4	3	17	4633
105	4	28,07	24,03	3	14	4	12	8	7	26	2	7	15	19	7	5	8	2	4	3	17	3271
106	3	25,72	19,78	3	15	4	11	8	8	21	2	7	15	19	7	5	8	2	4	3	17	15768
108	4	25,45	20,6	3	21	4	10	8	8	24	2	7	17	25	6	5	8	2	4	3	17	18891
110	4	22,97	18,34	3	16	4	9	8	8	21	2	7	15	21	6	5	8	2	4	3	17	99345
111	4	23,37	18,14	3	11	4	12	7	10	13	2	8	11	16	6	4	10	2	5	3	17	76010
112	4	27,56	22,66	3	16	4	7	7	10	14	2	7	14	16	7	5	8	1	4	3	17	4602
113	3	29,83	24,18	3	12	4	10	7	9	15	2	8	13	16	7	5	8	2	4	3	17	1007
116	4	27,83	22,81	3	15	4	9	8	8	26	2	7	16	21	6	5	8	2	4	3	17	3841

119	4	27,57	22,22	3	13	4	11	8	8	21	2	7	13	19	8	5	8	2	4	3	17	4571
121	3,5	26,18	21,39	3	11	4	12	7	10	14	2	8	12	20	6	4	11	2	5	3	17	11590
123	2,5	26,89	21,92	3	15	4	10	8	8	26	2	7	18	22	6	4	8	2	4	3	17	7206
124	1	26,66	20,79	3	13	4	11	8	8	19	2	7	13	19	7	5	6	2	4	3	17	8405
126	0	27,52	22,5	3	13	4	11	8	8	24	2	7	13	22	7	5	5	2	4	3	17	4727
128	4,5	27,01	22,37	3	16	4	10	8	8	12	2	7	14	19	6	5	5	2	4	3	17	6650
129	3,75	25,38	22,02	3	17	4	10	8	8	21	2	7	15	21	6	5	5	2	4	3	17	19798
132	3,5	25,73	20,82	3	13	4	8	7	8	13	2	8	14	16	6	5	6	1	4	8	17	15663
133	3,5	26,79	22,62	3	10	4	12	7	10	12	2	8	13	17	6	4	8	2	5	8	17	7705
141	0	31,95	27,36	3	14	4	11	8	8	26	2	7	16	27	7	5	5	2	4	3	17	244
145	4	24,41	20,55	3	11	4	12	7	10	13	2	8	11	15	6	4	7	2	5	8	17	37894
146	4,25	23,38	19,88	3	13	4	10	7	9	15	2	8	13	21	5	5	5	2	4	3	17	75503
149	2,25	29,5	24,14	3	13	4	9	7	9	16	2	8	13	23	5	5	5	2	4	3	17	1256
150	4	30,08	25,68	3	11	4	8	7	11	16	2	7	13	8	7	5	5	2	4	3	17	852
154	3,75	28,53	22,49	3	13	4	9	8	8	17	2	7	15	20	6	5	5	2	4	3	17	2404
158	3,25	25,11	19,94	3	10	4	11	7	10	9	2	8	11	17	6	4	9	2	4	4	17	23719
170	4,75	23,81	19,31	3	15	4	10	8	8	17	2	7	13	14	6	5	8	2	4	3	17	56621
171	1,75	30,46	24,7	3	10	4	15	7	10	12	2	8	12	19	6	4	10	2	5	8	17	661
173	4,25	26,91	21,34	3	11	4	8	7	10	17	2	7	12	8	6	5	8	2	4	3	17	7110
174	2,75	26,52	20,99	3	17	4	10	8	8	25	2	7	19	20	6	5	8	2	4	3	17	9231
179	2,75	26,39	21,37	3	14	4	11	8	7	21	2	7	13	17	7	5	8	2	4	3	17	10070
181	2,5	29,82	24,53	3	14	4	10	7	8	26	1	10	13	14	6	5	9	1	4	8	17	1014
182	3	25,78	20,63	3	17	4	10	8	8	20	2	7	14	28	6	5	8	2	4	3	17	15147
183	4	27,08	21,52	3	14	4	11	8	8	20	2	7	15	26	7	5	8	2	4	3	17	6345
184	2	26,19	21,07	3	13	4	11	8	8	28	2	8	15	30	7	5	8	2	4	3	17	11512
192	4,5	24,03	18,62	3	14	4	13	8	8	19	2	7	16	12	7	5	10	2	4	3	17	48868
194	3,25	24,46	19,34	3	14	4	8	8	8	21	2	7	17	10	6	5	8	2	4	3	17	36647

199	3,25	29,96	23,77	3	10	4	13	7	10	13	2	8	12	18	5	4	10	2	5	8	17	923
201	2,25	29,19	24,93	3	18	4	9	8	8	19	2	7	16	19	5	3	8	2	4	3	17	1546
204	2	27,75	24,02	3	13	4	9	7	9	15	2	8	13	19	5	5	8	2	4	3	17	4052
205	3,5	28,5	24,2	3	12	4	9	7	10	16	2	8	12	18	6	5	9	2	4	3	17	2453
206	2,75	26,88	22,39	3	10	4	11	7	10	12	2	8	13	17	6	4	11	2	5	8	17	
208	1,75	28,7	24,63	3	18	4	10	8	8	16	2	7	15	13	6	5	8	2	4	3	17	2146
214	4,5	25,02	20,28	3	11	4	10	7	8	18	2	8	12	23	6	4	15	2	5	3	17	25192
216	1	29,2	24,8	3	11	4	9	7	9	15	2	8	15	17	6	5	8	2	4	3	17	1535
218	2,25	29,82	24,02	3	12	4	8	7	10	18	2	7	12	7	6	5	8	2	4	3	17	1014
220	2,75	32,05	26,31	3	13	4	13	6	8	14	2	8	17	23	6	6	11	1	4	7	17	228
222	4,25	27,16	20,25	3	15	4	11	8	8	21	2	7	14	30	7	5	8	2	4	3	17	6015
223	2,75	30,28	24,36	3	15	4	9	8	8	26	2	7	16	19	6	5	8	2	4	3	17	745
224	5	24,85	18,66	3	10	3	9	7	10	21	2	8	12	17	7	4	13	2	6	3	17	28227
225	4	29,64	24,14	3	13	4	10	7	9	15	2	8	13	22	5	5	8	2	4	3	17	1144
226	4,75	25,64	21,16	3	16	4	9	8	8	28	2	7	13	19	6	5	8	2	4	3	17	16635
228	1,75	27,9	23,6	3	13	4	10	8	8	30	2	7	14	16	6	5	8	2	4	3	17	3665
233	3	29,4	24,9	3	11	4	11	7	8	16	2	8	17	15	6	5	8	2	4	8	17	1343
235	4	33	28,6	3	16	4	10	8	8	22	2	7	15	22	6	5	8	2	4	3	17	121
236	3,5	31,03	28,06	3	21	4	11	7	8	16	2	8	13	12	6	5	9	2	4	8	17	451
238	3,5	26,29	22,98	3	11	4	12	7	10	13	2	8	11	16	6	4	10	2	5	8	17	10767
249	3,5	23,8	18,92	3	14	4	8	7	10	20	2	8	13	17	6	5	10	1	4	8	17	57001
250	2	26,67	22,64	3	18	4	9	8	8	22	2	7	16	27	6	5	8	2	4	3	17	8349
251	2,75	23,9	19,7	3	12	4	13	7	8	15	2	8	10	15	5	4	11	2	5	9	17	
253	2,75	25,92	21,72	3	13	4	8	8	8	16	2	8	15	26	6	5	8	2	4	3	17	13793
254	4	23,37	18,93	3	20	4	10	8	8	17	2	7	16	23	6	5	8	2	4	3	17	76010
256	0	27,6	22,9	3	18	4	10	8	8	24	2	7	13	25	6	5	8	2	4	3	17	4480
260	0	35,93	30,54	3	10	5	13	7	8	16	2	8	15	14	7	5	13	2	5	3	17	17

262	3,75	24,33	19,62	3	16	4	9	7	9	17	2	8	12	25	6	5	9	2	4	3	17	39978
263	3	24,57	19,11	3	14	4	8	7	11	19	2	7	16	14	6	5	8	2	4	3	17	34046
264	4,75	24,57	19,11	3	12	4	13	7	8	14	2	8	10	16	5	4	11	2	5	3	17	34046
266	4,25	24,76	21,15	3	13	4	9	7	9	15	2	8	11	21	5	5	8	2	4	3	17	29980
267	2,25	29,64	26,01	3	18	4	10	8	8	19	2	7	16	25	6	5	8	2	4	3	17	1144
270	4	24,69	20,11	3	14	4	11	8	8	18	2	7	14	23	7	5	9	2	4	3	17	31418
271	2,25	26,83	23,07	3	13	4	9	7	9	15	2	8	14	17	5	5	8	2	4	3	17	7501
273	1,5	27,21	23,8	3	16	4	10	8	8	27	2	7	15	20	6	5	8	2	4	3	17	5817
274	5	31,93	27,9	3	13	4	9	7	9	13	2	8	12	25	6	5	8	2	4	3	17	247
275	2,5	25,7	22,47	3	18	4	11	8	8	20	2	7	14	16	6	5	8	2	4	3	17	15981
277	1,25	23,01	18,18	3	14	4	8	7	9	14	2	8	11	16	7	4	9	2	5	8	17	96720
278	2,75	33,26	29,68	3	14	4	11	8	8	25	2	7	13	25	7	5	8	2	4	3	17	101
279	4	25,45	20,5	3	19	4	9	8	8	18	2	7	17	18	6	5	8	2	4	3	17	18891
284	2,5	26,29	22,72	3	15	4	12	8	8	23	2	7	14	20	6	5	8	2	4	3	17	10767
285	3,75	20	15,4	3	16	4	9	8	8	22	2	7	13	22	6	5	8	2	4	3	17	
286	0	35,16	31,59	3	11	4	9	7	10	19	2	7	12	17	6	5	10	2	4	3	17	28
287	2,5	24,87	21,52	3	15	4	9	8	8	22	2	7	14	18	6	5	8	2	4	3	17	27852
289	3,5	21	16,3	3	14	4	12	8	8	22	2	7	15	35	7	5	8	2	4	3	17	
290	3,5	19	14,6	3	13	4	9	8	8	23	2	7	16	30	6	5	8	2	4	3	17	
291	4,75	21	16,3	3	18	4	10	8	8	24	2	7	23	27	6	5	8	2	4	3	17	
293	0	25,16	22,76	3	10	4	11	7	9	12	2	8	12	19	6	4	10	2	5	8	17	22938
294	3,75	22,41	19,53	3	14	4	9	8	8	23	2	7	16	20	6	5	8	2	4	3	17	
296	4,25	18,9	14,7	3	15	4	10	8	8	22	2	7	14	31	6	5	8	2	4	3	17	
297	4,25	23,5	19,18	3	15	4	11	8	9	17	2	9	11	21	6	5	9	2	4	3	17	69676
298	4,25	24,61	19,97	3	11	4	13	7	10	13	2	8	12	17	6	4	11	2	5	8	17	33146
299	5	23,73	19,61	3	19	4	9	8	8	22	2	7	16	20	6	5	8	2	4	3	17	59735
300	4,25	25,55	20,8	3	13	4	11	8	8	23	2	7	12	29	6	5	9	2	4	3	17	17668

301	3,5	24,95	20,68	3	16	4	9	8	8	17	2	7	13	30	5	5	8	2	4	3	17	26400
302	2	24,03	19,47	3	22	4	10	8	8	19	2	7	26	15	6	5	8	2	4	3	17	48868
303	5	23,34	19,24	3	15	4	10	8	8	24	2	7	15	17	6	5	8	2	4	3	17	77552
304	4	24,78	20,79	3	13	4	9	7	9	18	2	8	13	23	5	5	8	2	4	3	17	29581
307	4	24,41	20,7	3	17	4	9	8	8	23	2	7	16	21	6	5	8	2	4	3	17	37894
309	3,75	22,72	18,33	3	13	4	9	7	9	15	2	8	13	26	5	5	8	2	4	3	17	117439
311	2,75	27,48	22,81	3	11	4	9	7	10	13	2	8	13	18	6	4	10	2	6	8	17	4855
312	3,75	23,97	19,66	3	16	4	10	8	8	23	2	7	15	24	6	5	8	2	4	3	17	50871
313	0,75	30,19	26,59	3	10	4	12	7	11	12	2	8	13	18	6	4	10	2	5	8	17	791
315	0	30,07	25,68	3	12	4	11	7	10	12	2	8	12	22	6	4	10	2	5	8	17	858
318	4	21,85	17,39	3	15	4	11	7	9	23	2	8	9	24	6	4	10	2	5	8	17	210234
319	2	26,38	22,19	3	12	4	9	7	9	15	2	8	14	23	6	5	8	2	4	3	17	10138
320	4,5	21,64	17,22	3	15	4	11	8	8	29	2	7	14	20	6	5	8	2	4	3	17	241961
323	3,75	26,44	22,37	3	20	4	13	7	8	16	2	8	14	15	6	5	9	2	4	8	17	9739
325	4,25	22,9	18,34	3	11	4	12	7	10	13	2	8	12	18	6	3	11	2	5	8	17	104110
326	2	26,67	22,22	3	19	4	10	9	8	26	2	7	19	29	6	5	8	2	4	3	17	8349
327	2,5	22,49	18	3	11	4	12	7	10	13	2	9	12	16	6	4	11	2	5	8	17	136984
328	3,25	21,15	16,73	3	17	4	10	8	8	22	2	7	25	14	6	5	8	2	4	3	17	335876
329	1,75	25,07	20,72	3	25	4	10	8	8	21	2	7	14	28	6	5	8	2	4	3	17	24362
330	0	30,29	28,06	3	11	4	10	7	8	21	2	7	10	14	6	5	8	2	5	3	17	740
331	3,5	22,01	17,55	3	10	4	13	7	10	12	2	8	12	23	6	4	10	2	5	8	17	188884
333	2,25	26,03	24,49	3	16	4	11	8	8	18	2	7	14	27	7	5	9	2	4	3	17	
334	4,25	21,84	19,01	3	14	4	10	8	8	14	2	8	14	16	7	5	9	2	4	3	17	
338	3,5	21,59	Undetermined	3	14	4	10	8	8	16	2	7	16	17	6	5	8	2	4	3	17	
339	2,5	25,09	20,72	3	10	4	14	7	10	13	2	8	12	19	6	4	11	2	5	8	17	24039
342	2,75	26,18	24,05	3	14	4	9	7	9	15	2	8	12	24	6	5	8	2	4	3	17	
344	1,5	29,3	24,8	3	13	4	9	8	8	21	2	7	14	26	6	5	8	2	4	3	17	1436

345	3,25	23,85	21,26	3	14	4	9	8	8	21	2	7	17	23	6	5	8	2	4	3	17	
347	3,25	25,58	23,72	3	11	3	9	7	10	18	2	8	12	12	7	4	11	2	6	9	17	
348	2	24,82	22,89	3	15	4	10	8	8	20	2	7	15	32	6	5	8	2	4	3	17	
349	4	21,23	19,97	3	17	4	9	8	8	19	2	7	13	33	6	5	8	2	4	3	17	
350	3	25,67	22,99	3	10	4	14	7	10	13	2	8	12	21	6	4	10	2	5	8	17	
353	1,75	24,89	22,92	3	15	4	10	8	8	22	2	7	14	24	6	5	8	2	4	3	17	
355	3,75	24,1	20,1	3	10	4	11	7	10	12	2	8	12	18	6	4	9	2	4	8	17	46631
357	3,75	21,38	18,52	3	15	4	10	8	8	29	2	7	14	17	6	5	8	2	4	3	17	
359	1,5	30,34	28,51	3	14	4	8	7	8	13	2	8	12	15	6	2	9	1	4	8	17	
361	3,5	22,34	19,86	3	14	4	10	8	8	16	2	7	16	28	6	5	7	2	4	3	17	
362	4	22,97	20,11	3	14	4	10	8	8	15	2	7	15	25	6	5	8	2	4	3	17	
364	4,5	19,43	16,93	3	13	4	11	8	8	25	2	7	12	24	7	5	9	2	4	3	17	
366	0,5	30,7	26,5	3	18	4	9	8	8	22	2	7	14	30	6	5	8	2	4	3	17	563
368	2,5	21,32	18,96	3	15	4	11	8	8	22	2	7	14	33	6	5	8	2	4	3	17	
369	3,25	25,58	23,74	3	14	4	13	8	8	16	2	7	16	18	7	5	8	2	4	3	17	
370	3	25,88	23,84	3	15	4	9	7	9	15	2	8	11	17	6	5	8	2	4	3	17	
371	1,75	26,43	23,80	3	18	4	10	8	8	23	2	7	14	15	6	5	8	2	4	3	17	
372	3,5	23,38	20,52	3	15	4	9	8	8	28	2	7	17	30	6	5	8	2	4	3	17	
373	1,75	27,70	25,14	3	11	4	13	7	10	12	2	8	12	16	6	4	10	2	5	3	17	
374	3,75	25,22	22,68	3	19	4	9	8	8	22	2	7	16	24	6	5	8	2	4	3	17	
375	3,75	28,73	27,82	3	12	4	11	7	8	19	2	9	10	12	5	5	7	2	4	8	17	
385	1,75	27,47	25,89	3	17	4	10	8	8	24	2	7	15	33	6	5	8	2	4	4	17	
387	3,5	25,85	20,30	3	11	4	12	7	10	14	2	9	12	18	6	4	11	2	5	8	17	
389	4	22,53	19,38	3	16	4	10	8	8	21	2	7	17	17	6	5	8	2	4	4	17	
391	3,5	23,83	19,84	3	15	4	9	8	8	25	2	8	16	19	6	5	8	2	4	4	17	
393	3,25	25,52	22,19	3	13	4	11	8	8	13	2	8	15	17	7	5	7	2	4	3	17	
397	2,5	25,57	20,26	3	14	5	8	8	8	22	2	6	16	15	6	5	8	2	4	3	17	

406	3,75	24,89	21,72	3	11	4	12	7	10	13	2	7	12	17	6	4	11	2	5	8	17	
408	4	22,71	19,79	3	12	4	8	7	9	25	2	8	11	24	6	5	8	2	4	3	17	
412	2,75	23,42	20,59	3	17	4	10	8	8	17	2	7	17	29	6	5	8	2	4	3	17	
414	2,75	24,65	21,35	3	11	4	11	7	8	17	2	8	15	22	6	4	13	2	5	9	17	
415	3,5	22,92	19,35	3	10	4	13	7	10	12	2	8	12	21	6	4	10	2	5	8	17	
416	2,5	21,15	17,12	3	10	4	11	7	11	13	2	9	11	18	6	4	10	2	5	8	17	
417	1,25	25,50	21,92	3	15	4	10	8	8	22	2	7	14	24	6	5	8	2	4	3	17	
419	2,25	24,42	11,43	3	10	4	13	7	10	12	2	8	12	16	6	4	10	2	5	8	17	
425	4	21,4	17,1	3	11	4	9	7	10	13	2	8	13	17	6	4	11	2	6	8	17	284125
426	4	22,1	17,7	3	11	4	13	7	10	12	2	8	12	20	6	4	10	2	5	8	17	177842
427	0,5	30,2	25,39	3	11	4	13	7	10	12	2	8	12	19	6	4	10	2	5	8	17	786
428	3,5	28,58	22,6	3	10	4	12	7	10	12	2	8	13	17	6	4	10	2	5	8	17	2325
429	4	23,74	18,91	3	13	4	10	8	8	20	2	7	19	25	6	5	7	2	4	3	17	59337
430	1,25	30,41	25,84	3	11	4	10	7	8	19	2	8	16	15	6	4	8	2	5	9	17	683
431	3	23,93	19,45	3	15	4	9	8	8	20	2	7	17	26	6	5	8	2	4	3	17	52251
433	2	25,46	20,75	3	14	4	10	8	8	20	2	7	15	19	6	5	9	2	4	3	17	18765
435	1,25	32,52	27,09	3	10	4	9	7	9	15	2	8	13	15	5	5	8	2	5	8	17	166
436	3,75	22,31	17,73	3	13	4	10	4	9	15	2	8	11	20	6	5	9	2	4	3	17	154523
446	4	22,84	18,18	3	12	4	9	7	9	25	2	7	12	23	6	5	8	2	4	3	17	108376
452	4,25	24,61	20,59	3	15	4	10	9	8	25	2	7	13	19	6	5	8	2	4	3	17	33146
454	2	21,99	17,79	3	12	4	9	8	9	25	2	7	12	12	6	5	8	2	4	3	17	191430
455	3,25	24,21	20,14	3	13	4	9	8	8	17	2	7	16	26	6	5	8	2	4	3	17	43322
457	3	32,75	24,08	3	15	4	9	8	8	21	2	7	13	19	6	5	8	2	4	3	17	143
462	3,75	24,51	20,4	3	13	4	9	7	9	14	2	8	13	8	5	5	8	2	4	3	17	35441
463	4,25	20,31	16,18	3	15	4	9	7	9	16	2	8	12	18	6	5	8	2	4	3	17	589316
465	3,5	28,33	24,37	3	11	4	10	7	10	13	2	8	12	18	6	4	10	2	5	8	17	2749
472	1,75	24,19	19,53	3	21	4	10	8	9	25	2	7	15	21	7	5	10	2	5	8	17	43905



475	0	25,95	24,29	3	10	4	14	7	10	13	2	8	12	16	6	4	10	2	5	8	17	13518
485	3,75	20,69	17,66	3	19	4	10	9	8	24	2	7	14	23	6	5	8	2	4	3	17	456973
486	2,75	21,87	18,98	3	16	4	10	8	8	7	2	7	14	21	6	5	8	2	4	3	17	207439
487	2,75	23,82	21,08	3	12	4	9	7	9	26	2	7	12	22	6	5	8	2	4	3	17	56243
493	3,25	23,94	20,87	3	15	4	11	7	9	13	2	7	14	15	6	5	8	1	5	8	17	51902
494	2,5	28,03	24,77	3	16	4	9	8	8	20	2	7	17	21	6	5	8	2	4	3	17	3360
495	0	24,37	21,44	3	18	4	10	9	8	24	2	7	20	21	6	5	8	2	4	3	17	38922
500	1,25	25,38	22,45	3	15	4	9	8	8	15	2	7	13	19	6	8	14	2	5	3	17	19798
504	4	21,66	18,73	3	11	4	8	8	8	16	2	8	16	16	6	4	8	2	5	3	17	238744
515	3	22,99	19,92	3	14	4	11	8	8	22	2	7	15	29	7	5	9	2	4	3	17	98024
516	2,5	23,92	20,91	3	13	4	11	8	8	25	2	7	12	27	7	5	10	2	5	3	17	52602
537	4,25	22	18,45	3	18	5	10	8	8	25	2	7	18	17	6	5	8	2	4	3	17	190153
538	4	22,64	19,13	3	17	4	9	8	9	22	2	6	14	17	6	5	8	2	4	3	17	123899
544	2,25	29,44	25,34	3	12	5	9	7	9	16	2	8	13	16	5	5	8	2	4	3	17	1308
546	3,5	22,67	18,6	3	14	5	11	8	8	27	2	7	15	12	7	5	7	2	4	3	17	121436
567	4	23,35	19,11	3	17	5	10	8	8	21	2	6	14	21	6	5	8	2	4	4	17	77035
569	0	23,41	17,54	3	13	5	10	8	8	24	2	7	16	17	6	5	7	2	4	4	17	74002
584	1,75	31,63	28,85	3	13	5	9	8	8	20	2	7	16	8	6	5	8	2	4	3	17	302
597	1,75	26,92	23,77	3	16	5	10	7	8	16	2	8	17	18	6	5	8	2	4	4	17	7063
604	0	32,86	29,35	3	10	5	13	7	10	13	2	8	13	23	6	5	10	2	5	8	17	133
605	1,5	26,48	23,31	3	18	5	10	8	8	24	2	6	17	21	6	5	8	2	4	8	17	9481
618	3,25	22,70	18,16	3	13	4	10	7	8	23	2	7	14	17	6	5	7	2	4	4	17	
678	4,25		24,92	3	12	4	13	7	8	15	2	8	10	17	5	4	12	2	5	9	17	
682	4		24,47	3	11	4	12	7	9	13	2	8	11	16	6	4	11	2	5	8	17	
705	2,5		28,859	3	14	4	10	7	8	26	2	7	14	20	6	5	7	2	4	3	17	
18	3	30,08	31,4	3	14	4	9	7	9	19	2	8	10		6	4	11	2	5	8	16	852
57	3	Undetermined	31,71	3	11	4	12	8	12	13	2	8	12	19	6		11	2	5	3	16	

100	3	29,3	24,01	3	14	4		8	8	29	2	7	13	25	6	5	8	2	4	3	16	1436
127	4	25,22	20,4	3	16	4	10	8	8	21	2	7	15		6	5	5	2	4	3	16	22035
147	1,25	31,36	26,22	3	16	4	9	8	8	24	2	7	17		6	5	5	2	4	3	16	362
153	3,5	24,86	20,56	3	14	4	11	8	8	21	2	7	15		7	5	5	2	4	3	16	28039
188	4,5	27,58	22,18	3	11	4	13	7	10	14	2	8	11	15	6	4	10	2	5		16	4541
189	3,25	27,31	21,6	3		4	11	8	8	18	2	7	15	17	6	5	8	2	4	3	16	5440
202	4	29,38	23,79	3	17	4	10	8	8	21	2	7	19		5	3	8	2	4	3	16	1361
221	3,75	24,81	20,25	3	13	4	10	8	8	18	2	7	15		6	5	8	2	4	3	16	28993
240	0	25,28	21,86	3	15	4	9	8	8		2	7	15	21	6	5	8	2	4	3	16	21168
242	2	28,62	25,64	3	14	4	9	8	8		2	7	14	20	6	5	8	2	4	3	16	2264
272	2	33,04	29,4	3	18	4		8	8	19	2	7	15	21	4	3	8	2	4	3	16	117
305	3,25	25,64	21,37	3	15	4	11	8	8		2	7	15	21	6	5	8	2	4	3	16	16635
306	3	26,65	22,24	3	12	4		7	8	14	2	8	10	15	5	4	12	2	5	3	16	8462
310	0	30,85	26,66	3	13	4		7	9	15	2	8	13	30	5	5	8	2	4	3	16	509
317	3,5	24,51	20,06	3	10	4		7	10	12	2	8	12	20	6	4	10	2	5	8	16	35441
346	3,5	24,08	21,40	3	14	4	11	8	8	17	2	7	12		7	5	9	2	4	3	16	
358	4,25	22,44	19,66	3	14	4	9	8	8		2	7	16	19	6	5	8	2	4	3	16	
365	0	33,01	31,07	3	15	4	11	8	8	19		7	15	28	7	5	8	2	5	3	16	
390	4	23,75	20,15	3	13	4	9	7	9		2	8	11	29	6	5	8	2	4	3	16	
396	4,5	30,19	26,35	3	14	5	11	8	8	25	2	6	16		7	5	8	2	4	4	16	
399	3,5	27,69	21,23	3	18	5	10	8	8		2	7	15	23	6	5	8	2	4	4	16	
407	4,25	19,23	15,39	3	13	4	12	8	8	24	2	7	18	24	7	5		2	4	3	16	
411	2,25	22,65	18,98	3	12	4	13	7	8	15	2	9	10	17	5	4		2	5	3	16	
418	0	28,84	22,93	3	10	4	11	7	11		2	8	11	18	6	4	10	2	5	8	16	
421	4,5	24,4	17,5	3	14	4	11	8	8	20	2	7	15	22	6	15		2	4	3	16	38148
424	4	24,4	19,8	3	15	4	10	8	8	20	2	7	15	28	6	5		2	4	3	16	38148
440	3	27,88	23,65	3	17	4	10	8	8	22		6	12	17	6	5	8	2	4	3	16	

444	4	37,53	32,59	3		5	9	7	8	25	2	7	12	17	7	5	9	2	4	4	16	6
449	4	22,22	17,89	3	11	4		7	8	19	2	8	14	14	6	4	13	2	5	3	16	164117
451	2,5	26,23	21,92	3	14	4	9	8	9		2	8	12	17	6	5	8	2	4	3	16	11208
481	2,5	24,62	21,42	3	15	4	12	7	7		2	7	13	17	6	5	8	2	4	3	16	32925
490	3	25,39	22,35	3	15	4	10	8	9	24	2	7	13		6	5	7	2	4	3	16	19665
503	0	29,74	26,91	3	11		9	7	9	15	2	8	11	9	6	5	12	2	5	9	16	1070
514	2,5	21,71	18,49	3	21	4	9	8	8	17	2	7	14		6	5	8	2	4	3	16	230887
518	0	31,47	28,66	3	12	5		7	9	13	2	7	13	19	7	5	10	2	5	8	16	336
539	4	23,27	19,34	3	14	4	9	8	8		2	6	14	22	6	5	11	2	4	3	16	81272
541	0	31,21	27,41	3	11	5	12	7	10	13	2	8	12	18	6	4	11	2	5		16	400
543	0,5	30,65	26,77	3	18	5	9	8	9	23	2	7	14	17	6	5		2	4	4	16	582
545	1,25	23,2	19,28		14	5	9	8	8	13	2	7	16	22	6	5	7	1	4	3	16	85170
582	1	29,65	22,44	3	12	4	8	7	9		2	7	12	17	6	5	8	2	4	9	16	
606	0	35,24	31,59	3	2	5	13		8	13	2	7	13	7	7	5	10	2	6	8	16	27
607	0	33,4	30,37	3	16	5	13	8	9	25	2	8	13		7	4	8	2	6	4	16	92
614	1,5	24,50	20,38	3	13	4	9	8	8		2	7	19	17	6	5	7	2	4	3	16	
629	4,25	21,65	16,46	3	14	4	11	8	8		2	7	14	18	6	5	7	2	4	3	16	
655	4,5		24	3	10	4	12	7	8	16	2	7	16	15	6	5		2	4	8	16	
661	4,25		27,61	3	15	4	11	7	9	24	2	8	9	21	6	4		2	5	8	16	
665	4,5		25,8	3	12	4	8	7	9	20	2	8	12	18	6	5		2	4	3	16	
668	0		34,32	3	16	4	12	7	8		2	8	13	14	6	5	14	2	4	9	16	
671	2,5		29,06	3	10	4	12	7	10		2	8	12	13	6	5	8	2	4	8	16	
672	2		33,03	3	10	4	12	7	10		2	8	12	17	6	4	9	2	4	3	16	
673	3,75	32,05	0 / 20,71	3	16	4	12	8	8	22	2	7	13	13	6	5		2	4	8	16	228
702	3,5		22,858	3	14	4	12	8	8		2	7	15	10	7	5	8	2	4	3	16	
709	1,5	32,22	28,002 / 30,33	3	13	4	9	7	9	15	2	8	14	23	5	5		2	4	3	16	203
710	NI		28,293	3	10	4	13	7	11		2	8	12	15	6	4	2	2	5	8	16	

**Anexo 4. Genótipos apresentados pelos isolados com IB=0 na análise por MLVA.**

Amostra	IB	16S (34)	Quantidade de genomas	6-3	AT17	GGT5	GTA9	AC8b	AC8a	AT15	21-3	AC9	TTC	TA18	6-7	27-5	TA10	23-3	12-5	18-8	Número de loci
19	0	Undetermined		3	13	4	9	7	9	15	2	8	13	23	5	5	8	2	4	3	17
126	0	27,52	4726	3	13	4	11	8	8	24	2	7	13	22	7	5	5	2	4	3	17
141	0	31,95	243	3	14	4	11	8	8	26	2	7	16	27	7	5	5	2	4	3	17
256	0	27,6	4480	3	18	4	10	8	8	24	2	7	13	25	6	5	8	2	4	3	17
260	0	35,93	16	3	10	5	13	7	8	16	2	8	15	14	7	5	13	2	5	3	17
286	0	35,16	28	3	11	4	9	7	10	19	2	7	12	17	6	5	10	2	4	3	17
293	0	25,16	22938	3	10	4	11	7	9	12	2	8	12	19	6	4	10	2	5	8	17
315	0	30,07	857	3	12	4	11	7	10	12	2	8	12	22	6	4	10	2	5	8	17
330	0	30,29	740	3	11	4	10	7	8	21	2	7	10	14	6	5	8	2	5	3	17
475	0	25,95	13518	3	10	4	14	7	10	13	2	8	12	16	6	4	10	2	5	8	17
495	0	24,37	38922	3	18	4	10	9	8	24	2	7	20	21	6	5	8	2	4	3	17
569	0	23,41	74002	3	13	5	10	8	8	24	2	7	16	17	6	5	7	2	4	4	17
604	0	32,86	133	3	10	5	13	7	10	13	2	8	13	23	6	5	10	2	5	8	17
240	0	25,28	21167	3	15	4	9	8	8		2	7	15	21	6	5	8	2	4	3	16
310	0	30,85	508	3	13	4		7	9	15	2	8	13	30	5	5	8	2	4	3	16
365	0	33,01		3	15	4	11	8	8	19		7	15	28	7	5	8	2	5	3	16
418	0	28,84		3	10	4	11	7	11		2	8	11	18	6	4	10	2	5	8	16
503	0	29,74	1070	3	11		9	7	9	15	2	8	11	9	6	5	12	2	5	9	16
518	0	31,47	336	3	12	5		7	9	13	2	7	13	19	7	5	10	2	5	8	16
541	0	31,21	400	3	11	5	12	7	10	13	2	8	12	18	6	4	11	2	5		16
606	0	35,24	27	3	2	5	13		8	13	2	7	13	7	7	5	10	2	6	8	16
607	0	33,4	92	3	16	5	13	8	9	25	2	8	13		7	4	8	2	6	4	16
668	0			3	16	4	12	7	8		2	8	13	14	6	5	14	2	4	9	16
3	0	Undetermined		3	13	4	9		10	18	2	9	10	14	6		11	2	4	3	15
79	0	Undetermined		3	12	4	11		10		2	9	21	15	6	5	10	2	5	3	15
210	0	31,75	278	3	12	4		7	8	17	2	8	16	16	6	4	14	2	5		15
532	0	31,05	445	3	12	5	10	7	9	26	2	8	16		6	5	8	2	4		15
703	0			3	18	4		8	8		2	7	17	20	6	5	8	2	4	3	15
137	0	34,01		3	10	5		7	10		2	8	11	17	7	4	10	2	5		14
321	0	33,51	85	3	16	4	11	7	8		2	8	14		6		8	2	4	3	14
337	0	33,75		3	14	4	10	8	8	27	2	7	16				8	2	4	3	14
587	0	34,39	48	3		5		8	19	2	8	17	18		6	5	8	2	4	9	14
595	0	37,11	8	3	12	5	10		8	23	2	7	14	14			8	2	4	1	14
360	0	34,14		3	13				8	19	2		8	18	6	2	8	2	4	3	13
380	0	38,06		3	10	5	14				2	8	16		6	5	8	2	4	11	13
388	0	35,05		3	22	5		8	9		2	8	18	17		4	9	2	4		13
551	0	35,76	19	3	16	6	9		8	16	2	6	14			7	11	2	4		13
594	0	36,69	10	3	17	5	10	8	8		2	7	14	19	1		13			3	13
596	0	36,75	10	3	12	5	15		8	16	2	9	13		6		8		4	3	13
247	0	32,48	170						9	16	2	9	11	24	6	5	9	2	4	3	12
265	0	31,7	288						9	24	2	7	13	20	6	5	8	2	4	3	12
409	0	37,09		3	12	5	9		11				18		6	7	8	1	4	3	12
563	0	35,21	27	3			15	8	8	15		7	14	22	6	4	8		4		12
580	0	33,23	103						8	25	2	7	12	18	6	5	8	2	4	8	12
599	0	33,09	114						8	25	2	7	12	23	6	5	8	2	4	3	12

623	0	34,04	60	3		5				2	7	12	21	6	4	11	2	5	3	12	
628	0	31,38	357						8	26	2	7	16	23	6	5	8	2	4	3	12
660	0			3	15	4	11	7			2	8	12	22	6	4		5		12	
528	0	Undetermined		3	12	5			9	25			14	5	6	3	11			3	11
592	0	32,78	140						8	25	2	7	13	16		5	8	2	4	4	11
52	0	Undetermined		3	13	4	9						15	26			10	2	5	3	10
316	0	Undetermined		3	15				12	15		8	16	7	6	4	2				10
445	0	37,07	7,0	3		5			8		2		12		7		8	2	4	3	10
512	0	35,59	21	3	2		9		9	25		8			7	8	2			1	10
527	0	33,56							8	15		8	14	22	8		8	2	4	3	10
542	0	34,89	34						8		2	8	17		7	4	8	2	5	3	10
553	0	34,22	53						9	20		8	21		7	4	8	2	4	4	10
565	0	36,69	10	3	2	5			8	25	2		9	22		4		2			10
602	0	33,76	73						8	20	2	7	13			4	8	2	5	7	10
693	0			3		5	2		8	25	2	7	22			8				3	10
217	0	36,95		3	3	5	9	8	8		2	9				2					9
255	0	34,3		3	12			7	12				10	26		4		2			9
383	0	37,07		3	3	5	14		10		2	8	11			8					9
400	0	37,48							8	15	2	6	18	18	4	5	8				9
443	0	32,22	203,0	3	4				9	13		7	11	18	4	7					9
501	0	21,81	215939	3	10	4	10	7					10	23	7	4					9
568	0	35,93	17						8	25	2	7	13		6	5		2	4		9
283	0	34,1		4	4		10		12	17			12		7	7					8
386	0	Undetermined		3	2		12	8		20		8		18	6						8
461	0	26,36	10274			5			10	18	2	7	16				11	2			8
468	0	32,97	123	3			9		9		2	8						2			8
511	0	35,55	22	3	3			9	7	16						3					8
535	0	36,47	12	3	12		10		8				9	15	6		8				8
558	0	34,47	45	3					8				15	7		4	7		4	3	8
564	0	37,11	8	3	2	5			9		2	7	14			4					8
573	0	Undetermined							9	25	2	8	12	16		5	3				8
590	0	33,33	97										14	20	6	5	8	2	4	3	8
627	0	33,33	97										16	22	7	5	8	2	4	3	8
635	0	Undetermined							8	25	2	7	13				7		4	3	8
640	0	Undetermined							8		2	7	22				7	2	4	3	8
654	0			3	11								13	13	6	4		2		3	8
696	0	Undetermined		3	2					15	2	8	13		11	3					8
122	0	Undetermined				5			6			8	8				6		2	4	7
161	0	36,63							11	16			11	18	4	6	2				7
166	0	Undetermined		3	3				10	26			13				9			3	7
336	0	34,75		3		4	12										10	2	5	8	7
403	0	38,34		3	2	5	9	8	8	25											7
422	0	38,5	3	3					11	25							8	2	4	4	7
477	0	37,08	8	3	12				8	25	2	7	12								7
517	0	31,8	269	3	16	4		10						20		5		2			7
550	0	37,42	6	3		5			5	18		8	13				9				7
566	0	35,88	18						8	25	2	6	16			5		2			7
601	0	34,87	35						10	15	2	7	13			5	10				7
177	0	Undetermined							6	19				18	4	3	2				6
190	0	39,04							10	26			17			4			3	3	6

195	0	34,51			12			6	26			15				11			2	6
207	0	Undetermined		3	3			10		2	6	21								6
341	0	35,04										13		6	5	8	1		3	6
453	0	Undetermined				4		12	17				5		6	2				6
488	0	34,26	52	3	13		9				6	16			6					6
621	0	31,73	282					8			7	15	19	6	5					6
646	0			3				9							5			2		6
677	0			3		4		8		2	8				5					6
134	0	37,96		3	16			12	26				20							5
138	0	Undetermined		3	3			8	23						5					5
143	0	Undetermined		3	3			11				22			7					5
252	0	36,6						8				4				3		4	3	5
276	0	39	2					6	25	1	6					9				5
322	0	33,86	67	3	10	4										10	2			5
332	0	35,79	18	3	15	4		7								10				5
356	0	33,23		3								12		7	5			2		5
392	0	Undetermined		3	12	5	9	7												5
413	0	37,53		3	2			10			7	10								5
688	0			7		4	13	10							5					5
117	0	Undetermined						8				12				2			5	4
142	0	Undetermined		3	3								8			2				4
155	0	36,16						9			8				6	2				4
237	0	36,35		3		5		10								3				4
257	0	35,73						8				10				9	2			4
258	0	37,5	5	3	13	5										2				4
335	0	34,52		3	13	4											2			4
384	0	37,60		3					25			19				2				4
456	0	37,51	6	3				9			8	14								4
473	0	Undetermined							27		6				4	2				4
479	0	38,07	4	3	3			8								9				4
497	0	Undetermined							25			22			4			2		4
498	0	17,73	3313576									12		6	3	9				4
572	0	37,02	8					8	25								2		8	4
593	0	26,44	9739									14	14	9	2					4
639	0											14		6	5			9		4
648	0			3										4			4		8	4
683	0			3								10		4				9		4
196	0	Undetermined						9					17			2				3
227	0	37,13				9										8		4		3
243	0	34,7		3												8		4		3
268	0	34,1	57					10			7					7				3
288	0	36,36	12			4		8								8				3
351	0	35,61											26	6	5					3
489	0	35,55	22	3	2					2										3
557	0	37,76	5													8	2		3	3
636	0	Undetermined		3					25			14								3
690	0			3								14					2			3
694	0							8			7			4						3
125	0	25,21		3				11												2
140	0	36,77		3							8									2



506	0	Undetermined																		0
562	0	22,27	158715																	0
617	0	27,86	3765																	0
652	0	Undetermined																		0
664	0																			0
667	0	Undetermined																		0
669	0																			0
681	0																			0
699	0	Undetermined																		0



## Anexo 5. Parecer 07/2012 Comitê de Ética em Pesquisa.



**Título do Projeto:** “Estudo da variabilidade genética de isolados de Mycobacterium leprae e sua aplicação na epidemiologia molecular da Hanseníase na cidade do Recife/Pernambuco”.

**Pesquisador responsável:** Amanda Nogueira Brum Fontes.

**Instituição onde será realizado o projeto:** CPqAM/FIOCRUZ

**Data de apresentação ao CEP:** 01/01/2012

**Registro no CEP/CPqAM/FIOCRUZ:** 02/12

**Registro no CAAE:** s/n

### PARECER Nº 07/2012

O Comitê avaliou as modificações introduzidas e considera que os procedimentos metodológicos do Projeto em questão estão condizentes com a conduta ética que deve nortear pesquisas envolvendo seres humanos, de acordo com o Código de Ética, Resolução CNS 196/96, e complementares.

O projeto está aprovado para ser realizado em sua última formatação apresentada ao CEP e este parecer tem validade até 30 de março de 2015. Em caso de necessidade de renovação do Parecer, encaminhar relatório e atualização do projeto.

Recife, 30 de março de 2012.

  
Coordenadora do CEP/CPqAM

Observação:

Anexos:

- Orientações ao pesquisador para projetos aprovados;
- Modelo de relatório anual com 1º prazo de entrega para 30/03/2013.

Campus da UFPE - Av. Moraes Rego, s/n  
CEP 50.670-420 Fone: (81) 2101.2639  
Fax: (81) 3453.1911 | 2101.2639  
Recife - PE - Brasil  
comitedeetica@cpqam.fiocruz.br



Anexo 6. Questionario aplicado no momento da entrevista aos pacientes.

IDENTIFICAÇÃO			
Data da entrevista: ___/___/_____		Município:	
Unidade de saúde/PSF:			
Nome completo:		Apelido:	
Endereço atual (rua, número e bairro):			
CEP:	Fone: ( )	Celular: ( )	
Data de nascimento: ___/___/_____	Idade: _____	Sexo: <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F	
Estado civil:	<input type="checkbox"/> solteiro <input type="checkbox"/> casado <input type="checkbox"/> separado <input type="checkbox"/> divorciado <input type="checkbox"/> viúvo <input type="checkbox"/> amasiado <input type="checkbox"/> Outros. Especificar:		
Raça/cor	<input type="checkbox"/> branca <input type="checkbox"/> preta <input type="checkbox"/> amarela <input type="checkbox"/> parda <input type="checkbox"/> indígena <input type="checkbox"/> ignorado		
Escolaridade	<input type="checkbox"/> analfabeto <input type="checkbox"/> 1ª a 4ª série incompleta do EF (antigo primário ou 1º grau) <input type="checkbox"/> 4ª série completa do EF (antigo primário ou 1º grau) <input type="checkbox"/> 5ª a 8ª série incompleta do EF (antigo primário ou 1º grau) <input type="checkbox"/> Ensino fundamental completo (antigo ginásio ou 1º grau) <input type="checkbox"/> Ensino médio incompleto (antigo colegial ou 2º grau) <input type="checkbox"/> Ensino médio completo (antigo colegial ou 2º grau) <input type="checkbox"/> Educação superior incompleta <input type="checkbox"/> Educação superior completa <input type="checkbox"/> Ignorado <input type="checkbox"/> Não se aplica		
Data do diagnóstico: ___/___/___	Data início tratamento: ___/___/___	Esquema terapêutico: <input type="checkbox"/> PB/6 <input type="checkbox"/> MB/12 <input type="checkbox"/> MB/24 <input type="checkbox"/> ROM <input type="checkbox"/> Outros esquemas alternativos <input type="checkbox"/> NA	
<b>Local de residência no início provável da doença</b>			
Município:	Estado:	Tempo de residência: ___ ___ <input type="checkbox"/> A-ano <input type="checkbox"/> M-meses	
<b>Local de residência de 3 a 5 anos antes do início provável da doença</b>			
Município:	Estado:	Tempo de residência: ___ ___ <input type="checkbox"/> A-ano <input type="checkbox"/> M-meses	
INFORMAÇÕES CLÍNICAS			
Presença de lesões na pele: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim. Quantas?			
Classificação operacional: <input type="checkbox"/> Paucibacilar <input type="checkbox"/> Multibacilar			
Forma clínica (Madri): <input type="checkbox"/> I <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> D <input type="checkbox"/> V <input type="checkbox"/> Ignorada			
Forma clínica (Ridley-Jopling): <input type="checkbox"/> I <input type="checkbox"/> TT <input type="checkbox"/> BT <input type="checkbox"/> BB <input type="checkbox"/> BL <input type="checkbox"/> LL <input type="checkbox"/> Ignorada			
Baciloscopia: <input type="checkbox"/> Não realizada <input type="checkbox"/> Ignorada			
<input type="checkbox"/> Realizada. Resultado: IB: <input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1+ <input type="checkbox"/> 2+ <input type="checkbox"/> 3+ <input type="checkbox"/> 4+ <input type="checkbox"/> 5+ <input type="checkbox"/> 6+			
História de reação: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Ignorada			
<input type="checkbox"/> Sim. Qual? <input type="checkbox"/> Tipo 1 -RR <input type="checkbox"/> Tipo 2 - ENH <input type="checkbox"/> Não especificada			

## Anexo 7. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – Adulto



Ministério da Saúde

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE (ADULTO)

O (a) Senhor (a) está sendo convidado a participar de forma voluntária do projeto de pesquisa “Estudo da variabilidade genética de isolados de *Mycobacterium leprae* e sua aplicação na epidemiologia molecular da Hanseníase na cidade do Recife/Pernambuco”. O objetivo principal deste projeto é compreender a transmissão da hanseníase na cidade do Recife e assim controlar sua disseminação.

Caso você concorde em participar do estudo, será realizada uma entrevista através da aplicação de um questionário. Essa entrevista será feita por um pesquisador envolvido no projeto e abordará questões de identificação pessoal e sobre a sua doença. Além disso, solicito sua autorização para a utilização de sua lâmina de baciloscopia nesse estudo. O preenchimento do questionário poderá representar risco de constrangimento perante alguma pergunta. No entanto, garantimos que as informações fornecidas serão confidenciais e de conhecimento apenas dos pesquisadores responsáveis. Você não será identificado em nenhum momento, mesmo quando os resultados dessa pesquisa forem divulgados de qualquer forma.

Esta pesquisa não beneficiará diretamente você. No entanto, os resultados deste estudo poderão evitar que o número de casos de hanseníase aumente na cidade do Recife.

A sua participação é voluntária e a qualquer momento você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. A recusa não trará prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição.

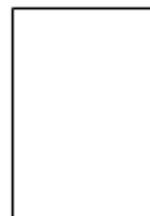
Este estudo não terá custo para você e todos os procedimentos serão realizados gratuitamente. Não haverá remuneração por sua participação nesta pesquisa.

Você receberá uma cópia deste Termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação a qualquer momento.

Concordo em participar da pesquisa como voluntário.

Nome do Participante: \_\_\_\_\_

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



Nome do pesquisador responsável pela aplicação do TCLE: \_\_\_\_\_

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

RECIFE, \_\_\_\_\_ DE \_\_\_\_\_ DE 201\_\_\_\_\_

#### COORDENADORA DO PROJETO

Dra. Amanda Nogueira Brum Fontes

Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Fundação Oswaldo Cruz - Av. Moraes Rego, s/n – Campus da UFPE - Recife – Pernambuco Tel: (81) 2101-2618

Campus da UFPE - Av. Moraes Rego, s/n - Cx. Postal 7472 - Fone: 0XX81 3012500 - Fax: 0XX81 4531911 - CEP: 50670-420  
Recife - PE - Brasil <http://www.epqam.fiocruz.br>

## Anexo 8. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – Menor de idade

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE (MENOR)

O menor de 18 anos, pelo qual o (a) Senhor (a) é responsável, está sendo convidado a participar de forma voluntária do projeto de pesquisa “Estudo da variabilidade genética de isolados de *Mycobacterium leprae* e sua aplicação na epidemiologia molecular da Hanseníase na cidade do Recife/Pernambuco”. O objetivo principal deste projeto é compreender a transmissão da hanseníase na cidade do Recife e assim controlar sua disseminação.

Caso você autorize o menor de 18 anos a participar desse estudo, você será submetido à uma entrevista através da aplicação de um questionário. Essa entrevista será feita por um pesquisador envolvido no projeto e abordará questões referentes ao menor sobre identificação pessoal e a doença. Além disso, solicito sua autorização para a utilização da lâmina de baciloscopia do menor nesse estudo. O preenchimento do questionário poderá representar risco de constrangimento perante alguma pergunta. No entanto, garantimos que as informações fornecidas serão confidenciais e de conhecimento apenas dos pesquisadores responsáveis. O menor não será identificado em nenhum momento, mesmo quando os resultados dessa pesquisa forem divulgados de qualquer forma.

Esta pesquisa não beneficiará o menor de 18 anos pelo qual você é responsável. No entanto, os resultados deste estudo poderão evitar que o número de casos de hanseníase aumente na cidade do Recife.

A participação do menor de 18 anos nessa pesquisa é voluntária e a qualquer momento você, como responsável, poderá desistir de participar e retirar o consentimento. A recusa não trará prejuízo na relação do menor com o pesquisador ou com a instituição.

Este estudo não terá custo para o menor e todos os procedimentos serão realizados gratuitamente. Não haverá remuneração pela participação do menor no estudo.

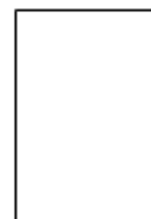
Você, como responsável pelo menor, receberá uma cópia deste Termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e a participação do menor a qualquer momento.

Concordo que o menor de 18 anos pelo qual sou responsável participe da pesquisa.

Nome do menor: \_\_\_\_\_

Nome do responsável: \_\_\_\_\_

Assinatura do responsável: \_\_\_\_\_



Nome do pesquisador responsável pela aplicação do TCLE: \_\_\_\_\_

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

RECIFE, \_\_\_\_\_ DE \_\_\_\_\_ DE 201\_\_\_\_\_

#### COORDENADORA DO PROJETO

Dra. Amanda Nogueira Brum Fontes

Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Fundação Oswaldo Cruz - Av. Moraes Rego, s/n – Campus da UFPE - Recife – Pernambuco Tel: (81) 2101-2618

Campus da UFPE - Av. Moraes Rego, s/n - Cx. Postal 7472 - Fone: 0XX81 3012500 - Fax: 0XX81 4531911 - CEP: 50670-420  
Recife - PE - Brasil - <http://www.epqam.fiocruz.br>