

Hanseníase: Aspectos Imunológicos e Métodos Diagnósticos - uma revisão

Leprosy: Immunological Aspects and Diagnostic Methods - a review

Carla Belo do Prado¹, Flávia Dayrell França¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde, São Mateus, Espírito Santo, Brasil

Autor para correspondência: Flávia Dayrell França

Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde
Rodovia Governador Mário Covas Km 60, s/n, Litorâneo, CEP 29.932-540
São Mateus, Espírito Santo, Brasil

Tel: +55 27 3312-1531

Email: flavia.d.franca@ufes.br

Submetido em 06/11/2024

Aceito em 11/12/2024

DOI: <https://doi.org/10.47456/hb.v5i3.46657>

RESUMO

A hanseníase é uma doença infecciosa, transmissível, crônica, causada pelo *Mycobacterium leprae*. Aspectos genéticos, imunológicos e ambientais determinam a suscetibilidade individual ao bacilo e explicam a progressão e/ou regressão da doença. O objetivo do trabalho foi avaliar e compreender os aspectos imunológicos da hanseníase e como eles podem influenciar no diagnóstico. Foram selecionados 6 artigos referentes às características imunológicas da hanseníase e 4 artigos relacionados aos métodos diagnósticos. Os resultados demonstram que a expressão aumentada do receptor “Toll Like 4” em neutrófilos é um biomarcador universal. A suscetibilidade a polos da hanseníase foi demonstrada pelo polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) na região promotora do *DC-SIGN CD209*, Gene *IL-17A* e do Receptor de vitamina D (VDR) nas regiões FokI, TaqI e ApaI. Houve aumento na expressão do fator de transcrição FOXP3 em pacientes multibacilares e durante as reações tipo 1. Quanto ao diagnóstico por detecção de anticorpos, o conjugado NDO-LID apresentou maior sensibilidade que NDO-BSA e LID-1 separadamente. Já o teste rápido ML-Flow teve alto nível de positividade, mas a maioria dos paucibacilares não desenvolvem anticorpos detectáveis, não sendo diagnosticados por esse método. Quanto à investigação do DNA do *M. leprae*, o ISSR-PCR demonstrou ser um método mais eficaz que RLEP-PCR e baciloscopia. Assim, pode-se concluir que o sistema imunológico está intimamente relacionado com o desenvolvimento da hanseníase. A análise dos métodos deixa claro que o uso de antígenos para detecção de anticorpos e a análise do DNA do *M. leprae* são eficazes e rápidos, quando comparados com a baciloscopia.

Palavras-chave: hanseníase; *Mycobacterium leprae*; imunologia; diagnóstico.

ABSTRACT

Leprosy is an infectious, transmissible, chronic disease caused by *Mycobacterium leprae*. Genetic, immunological and environmental aspects determine individual susceptibility to the bacillus and explain the progression and/or regression of the disease. The objective of this study was to evaluate and understand the immunological aspects of leprosy and how they can influence the diagnosis. Six articles related to the immunological characteristics of leprosy and four articles related to diagnostic methods were selected. The results demonstrate that increased expression of the “Toll Like 4” receptor in neutrophils is a universal biomarker. Susceptibility to leprosy poles was demonstrated by single nucleotide polymorphism (SNP) in the promoter region of *DC-SIGN CD209*, *IL-17A* gene and vitamin D receptor (VDR) in the FokI, TaqI and ApaI regions. There was an increase in the expression of the transcription factor FOXP3 in multibacillary patients and during type 1 reactions. Regarding the diagnosis by antibody detection, the NDO-LID conjugate showed greater sensitivity than NDO-BSA and LID-1 separately. The ML-Flow rapid test had a high level of positivity, but most paucibacillary patients do not develop detectable antibodies and are not diagnosed by this method. Regarding the investigation of *M. leprae* DNA, ISSR-PCR proved to be a more effective method than RLEP-PCR and bacilloscopy. Thus, it can be concluded that the immune system is closely related to the development of leprosy. The analysis of the methods makes it clear that the use of antigens for antibody detection and the analysis of *M. leprae* DNA are effective and rapid when compared with bacilloscopy.

Keywords: leprosy; *Mycobacterium leprae*; immunology; diagnosis.

INTRODUÇÃO

Mycobacterium leprae é um bacilo álcool-ácido resistente e foi descrito em 1873 pelo norueguês Amauer Hansen. É parasita intracelular com predileção pela célula de Schwann e células da pele. Essa característica resulta em lesões cutâneas desfigurantes e lesões nervosas progressivas com subsequente fraqueza muscular, reabsorção óssea e tecidual, com desfiguração causando estigma e isolamento social. Os danos provocados ao nervo periférico podem ser permanentes e são responsáveis pela instalação das sequelas e incapacidades (ARAÚJO, 2003).

Para fins operacionais de tratamento, a organização mundial de saúde classifica os doentes em paucibacilares (PB – presença de até cinco lesões de pele com baciloscopia de raspado intradérmico negativo, quando disponível) ou multibacilares (MB – presença de seis ou mais lesões de pele ou baciloscopia de raspado intradérmico positiva). Entretanto, alguns pacientes podem apresentar apenas lesões nos nervos (hanseníase primariamente neural), podendo-se seguir a classificação de Madri (1953): hanseníase indeterminada (PB/HI), tuberculóide (PB/HT), virchowiana (MB/HV) e dimorfa (MB/HD) (BARRETO et al., 2017).

A Hanseníase indeterminada (HI) caracteriza-se pelo aparecimento de manchas hipocrômicas, com alteração de sensibilidade térmica e apresenta baciloscopia negativa. Na Hanseníase tuberculóide (HT), encontram-se lesões bem delimitadas, em número reduzido, anestésicas e de distribuição assimétrica, sendo sua baciloscopia também negativa. Já a Hanseníase virchowiana (HV), apresenta na pele pápulas, nódulos e máculas. A infiltração é difusa e mais acentuada na face e nos membros. Além disso, a HV é considerada um importante foco infeccioso ou reservatório da doença e apresenta baciloscopia fortemente positiva. Por fim, a Hanseníase dimorfa (HD) apresenta numerosas lesões da pele, sendo que a infiltração assimétrica da face, dos pavilhões auriculares, e a presença de lesões no pescoço e nuca são elementos sugestivos desta forma clínica (HASTINGS, 1994).

Apesar de ser pouco compreendido, acredita-se que as vias aéreas sejam a principal porta de entrada e via de eliminação do *M. leprae* (VAN BEERS et al., 1996). Sua transmissão depende da quantidade de bacilos infectando a pessoa portadora, além da proximidade e frequência de contato com o indivíduo infectado. O momento da contaminação, conhecido como “toque do bacilo” é de difícil determinação, já que a doença é lenta e tortuosa e ainda deve-se levar em consideração que o bacilo pode sobreviver por até 14 dias no ambiente externo ao corpo do hospedeiro (KUNDAKCI; ERDEN, 2019).

Health and Biosciences, v.5, n.5, dez. 2024

Disponível em: <https://periodicos.ufes.br/healthandbiosciences>

A doença atinge pessoas de ambos os sexos e de todas as faixas etárias, podendo apresentar evolução lenta e progressiva e geralmente apresenta longo período de incubação, variando em média de 3 a 5 anos (BARRETO et al., 2017). Depois da entrada do *M. leprae* no organismo, não ocorrendo a sua destruição, este irá se localizar na célula de Schwann e na pele. Sua disseminação para outros tecidos pode ocorrer nas formas mais graves da doença, nas quais o agente infectante não encontra resistência contra a sua multiplicação (HASTINGS, 1994).

A fisiopatologia da hanseníase é multifatorial, sendo que aspectos genéticos, imunológicos e ambientais determinam a suscetibilidade individual ao bacilo (WHO, 2019). As reações hansênicas são complicações que ocorrem como resultado de uma resposta imunológica do organismo à presença do *M. leprae*. Essas reações podem ocorrer tanto em pacientes em tratamento quanto em pacientes já considerados curados, e podem manifestar-se de forma aguda ou crônica (QUEIROZ et al., 2015).

A resposta imune é de fundamental importância para a defesa do organismo frente à exposição ao bacilo. Essa resposta pode ser dividida esquematicamente em inata e adaptativa. Uma resposta imune inata, efetiva, em combinação com a baixa virulência do *M. leprae*, está associada à resistência para o desenvolvimento da hanseníase. A imunidade inata caracteriza-se pela rápida resposta à agressão, independentemente de estímulo prévio, sendo a primeira linha de defesa do organismo. Seus mecanismos compreendem barreiras físicas, químicas e biológicas, componentes celulares e moléculas solúveis (CRUVINEL et al., 2010).

A resposta imune adaptativa caracteriza-se por apresentar mecanismos que se baseiam no reconhecimento específico de antígenos, mediado por receptores presentes nas membranas dos linfócitos T e B. Classicamente a resposta imune adaptativa pode ser categorizada em celular ou do tipo 1, e humoral ou do tipo 2 (MENDONÇA et al., 2008).

As principais reações hansênicas são: reação Tipo 1 ou reversa (RR), com ou sem neurite, estando associada à resposta imune celular (do tipo Th1); e a reação Tipo 2 que está relacionada à ausência de resposta Th1 e relativa expressão Th2 (imunidade humoral), cuja manifestação clínica mais frequente é o eritema nodoso hansênico (ENH), com ou sem neurite. Considera-se ainda, um terceiro tipo de reação, denominada neurite isolada que pode ocorrer tanto em pacientes classificados como paucibacilar (PB) ou multibacilar (MB) (CORIOLANO et al., 2021).

O equilíbrio das respostas Th1/Th2 por si só não pode explicar completamente a resposta na hanseníase. Outros subconjuntos de células T, tais como células T reguladoras e

Th17, foram identificados como tendo papéis importantes na determinação da imunidade do hospedeiro (FONSECA et al., 2017).

O diagnóstico da hanseníase na prática atual é baseado na presença de pelo menos um dos três sinais cardinais: (i) perda definitiva de sensibilidade em uma área de pele esbranquiçada (hipopigmentada) ou avermelhada; (ii) nervo periférico espessado ou aumentado com perda de sensibilidade e / ou fraqueza dos músculos supridos por esse nervo; ou (iii) presença de bacilos álcool-ácido resistentes em esfregaço de raspado intradérmico. Entretanto, os esfregaços de raspado intradérmico são positivos apenas na hanseníase MB, já os primeiros estágios clínicos da hanseníase e formas menos severas de hanseníase (PB) são de diagnóstico mais desafiador (GROSSET et al., 2019). Também pode ser realizado o exame histopatológico da pele nos casos em que há dúvidas diagnósticas ou na classificação, e indica-se a biópsia do nervo em casos especiais, quando há dúvida no diagnóstico diferencial com outras neuropatias (ARAÚJO, 2003).

Apesar do diagnóstico da hanseníase ser majoritariamente realizado por identificação de aspectos clínicos e baciloscopia, é importante analisar quais são os aspectos imunológicos da doença e como eles podem ajudar no diagnóstico de pacientes hansenícos, além da classificação em que se encaixam.

MATERIAIS E MÉTODOS

O método utilizado para este estudo é a revisão bibliográfica narrativa. Para direcionar o presente trabalho buscou-se responder a seguinte pergunta norteadora: “Quais são os aspectos imunológicos da Hanseníase e como eles podem influenciar no diagnóstico da doença?”

Para isso, os artigos foram selecionados através das plataformas de pesquisa acadêmica online Google Acadêmico, *Scientific Electronic Library Online (Scielo)* e base de dados “Portal Regional da Biblioteca Virtual em Saúde” (BVS) em português e em inglês. Dentre os critérios de inclusão, foram selecionados artigos compreendidos entre o período de 2018 e 2024. Foram incluídos na revisão artigos completos que abordam pesquisa experimental e comparativa de aspectos imunológicos e diagnósticos da hanseníase, utilizando-se os seguintes descritores com os operadores booleanos: (Hanseníase) AND (*Mycobacterium leprae*), (Hanseníase) AND (Imunologia) AND (Diagnóstico) considerando-se os artigos em português. (Le prosy) AND (*Mycobacterium leprae*), (Leprosy) AND (Immunology) AND (Diagnosis) em inglês. Os critérios para exclusão dos artigos foram a falta de relação com os objetivos da pesquisa, com

Health and Biosciences, v.5, n.3, dez. 2024

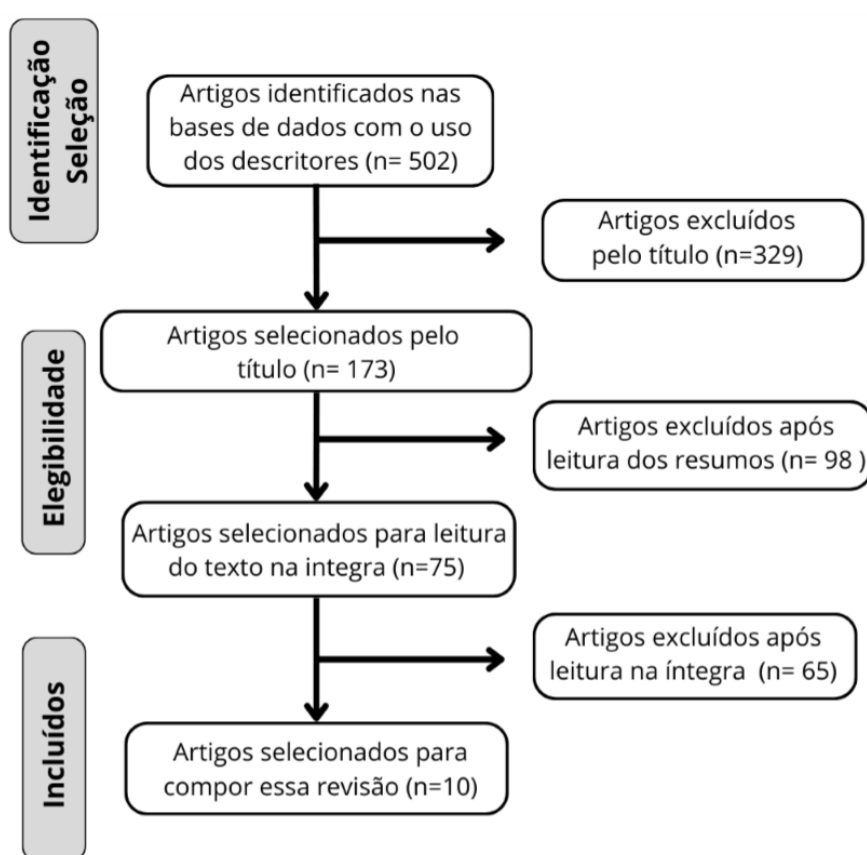
Disponível em: <https://periodicos.ufes.br/healthandbiosciences>

base na leitura dos títulos e resumos, artigos publicados antes de 2018 e materiais não disponíveis na íntegra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentro do período delimitado para a realização do levantamento bibliográfico foram encontrados 502 artigos nas bases de dados utilizando os descritores Hanseníase; *Mycobacterium leprae*; Imunologia e Diagnóstico. A seleção pode ser observada na figura 1.

Figura 1. fluxograma de levantamento bibliográfico.



Fonte: Elaborada pela própria autora, 2024.

Dos 10 artigos selecionados nas bases de dados, 6 abordam os aspectos imunológicos da hanseníase e 4 se referem aos métodos diagnósticos (Quadro 1).

Quadro 1. Artigos selecionados nas bases de dados para compor a revisão.

Títulos/ Autores/Ano	Objetivo geral	Principais resultados
Características fenotípicas e funcionais da imunidade inata e adaptativa como possíveis biomarcadores para estado clínico e reações hansênicas. CARVALHO et al., 2018	Identificar biomarcadores fenotípicos e funcionais associados a estados clínicos distintos de hanseníase ou reações hansênicas.	<ul style="list-style-type: none"> - <i>In vitro</i>: Aumento de TLR4 em neutrófilos (NEU TLR4+) são biomarcadores universais da hanseníase; Expressão aumentada TLR2+ e HLA-DR+ em monócitos (MONTLR2 e MONHLA-DR+), TLR2+ em células CD4+ (CD4+TLR2+) e CD8+ são Biomarcadores seletivos da reação hansênica - <i>Ex-vivo</i>: Pacientes com hanseníase apresentam níveis diminuídos de MON TGF-β+. - <i>In vitro e ex-vivo</i>: Aumento de CD8+IL10+ é considerado biomarcador específico do polo virchowiano; Níveis aumentados de CD8+IL-8 e MON IL-10+ são biomarcadores exclusivos das reações do Tipo 2.
A transcriptômica do sangue total revela o enriquecimento das vias de ativação de neutrófilos durante a reação do eritema nodoso hansênico ROSA et al., 2024	Identificar o papel desempenhando pelos neutrófilos na patogênese do eritema nodoso hansênico - ENH	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento de CD177 no ENH em comparação com o pólo virchowiano (HV); - Níveis séricos de CD177 mais elevados em pacientes com episódios moderados; - Aumento do número de pacientes com ENH expressando os genes <i>CHIT1</i> e <i>S100A</i>; - Expressão de <i>S100A8</i> pode discriminar ENH de HV.
Associação do polimorfismo do gene do receptor de vitamina D (VDR) com o risco de hanseníase na Amazônia brasileira PAZ et al., 2021	Avaliar a associação do polimorfismo de nucleotídeo único (SNPs) nas regiões FokI, TaqI e ApaI do gene receptor de vitamina D (VDR) com o risco de desenvolver a hanseníase.	<ul style="list-style-type: none"> - Os principais SNPs do gene VDR estão nas regiões FokI, TaqI e ApaI; - O SNP FokI e seus genótipos não tiveram associação com a hanseníase; - Manifestação MB: genótipo tt da TaqI e genótipo AA da ApaI; - Proteção da MB: genótipo Aa da ApaI e os genótipos estendidos AaTT e AaTt de ApaI e TaqI.
Associação do SNV CD209 (DC-SIGN) rs735240 com a hanseníase paucibacilar na população brasileira e seus efeitos funcionais GERMANO et al., 2022	Avaliar a associação de polimorfismos na região promotora do gene que codifica DC-SIGN (CD209) e a forma clínica da hanseníase	<ul style="list-style-type: none"> - Hanseníase paucibacilar (PB): Pacientes apresentaram genótipo GA heterozigoto do SNV rs735240; - Portadores do alelo A apresentaram menor expressão de DC-SIGN e níveis mais baixos de TGF-β1.
Interleucina-17A em pacientes egípcios com hanseníase: estudo clínico, genético e bioquímico FARAG et al., 2022	Investigar o polimorfismo do gene <i>IL-17A</i> (rs2275913) em pacientes com hanseníase, e correlacionar com diferentes aspectos clínicos da doença.	<ul style="list-style-type: none"> - Hanseníase virchowiana (MB): Pacientes apresentaram genótipo GG e o alelo G da <i>IL-17A</i>; - Hanseníase tuberculóide (PB): Portadores desse polo apresentaram genótipo AG;

		- Portadores do genótipo AG demonstraram os níveis séricos de IL-17 mais elevados.
Expressão de FoxP3 em diferentes formas de hanseníase e reações hansênicas LIMA et al., 2019	Quantificar o fator de transcrição (FoxP3), principal marcador de células Treg, nas diferentes formas de hanseníase.	- Níveis mais altos de FOXP3 foram encontrados em pacientes multibacilares (MB) e com reação hansênica tipo 1 em comparação ao grupo controle e paucibacilares (PB).
Avaliação da detecção de anticorpos contra os antígenos NDO-BSA, LID-1 e NDO-LID como testes confirmatórios para apoiar o diagnóstico de lepra na província de Yunnan, sudoeste da China JIAN et al., 2019	Avaliar a capacidade dos antígenos NDO-BSA e LID-1 e do conjugado, de detectar anticorpos nos soros de 113 pacientes com hanseníase e 166 indivíduos controle na província de Yunnan.	- O conjugado combinado de NDO-LID obteve resultado melhor do que aquele administrado independentemente pelos outros dois antígenos, LID-1 e NDO-BSA em pacientes multibacilares e paucibacilares.
Infecção latente de hanseníase identificada por positividade dupla de RLEP e anti-PGL-I: implicações para novas estratégias de controle SILVA et al., 2021	Avaliar a detecção dos testes na análise de amostras de sangue e SSS do lóbulo da orelha para anti-PGL-I por ELISA e a presença de DNA do <i>M.lepra</i> por PCR.	- Detecção de DNA RLEP no esfregaço cutâneo de fenda no lóbulo da orelha (SSS) foi maior que a sorologia IgM anti-PGL-I, nos quesitos sensibilidade, especificidade e acurácia. - A combinação dos dois testes laboratoriais obteve um aumento da sensibilidade, especificidade e precisão.
Marcador dominante (reação em cadeia da polimerase repetida de sequência inter-simples) versus marcador codominante (RLEP-polimerase Reação em Cadeia) para Diagnóstico Laboratorial de Hanseníase: Uma avaliação comparativa MOHANTY et al., 2020	Avaliar a eficácia do marcador dominante inter-sequência simples repetida-PCR (ISSR-PCR) para a detecção de hanseníase	- ISSR-PCR obteve maior número de casos positivos para hanseníase; - ISSR-PCR apresentou maior sensibilidade em relação ao RLEP-PCR e à coloração de BAAR.
Diagnóstico Laboratorial de Hanseníase: Dois Métodos de Coloração de Baciloscopia e teste rápido de fluxo de ML BELOTTI et al., 2021	Comparar qual a melhor opção para coloração e avaliar qual é mais positivo entre as três técnicas.	- O teste de fluxo ML obteve mais resultados positivos entre as 3 técnicas; - A sorologia e a técnica de Ziehl-Neelsen obteve maior concordância em comparação com a sorologia e Auramine O.

Fonte: Elaborado pela própria autora, 2024.

Os resultados das pesquisas apontam distintos pontos de vista a respeito das características imunológicas da hanseníase. Cada estudo experimental destacou utilizou em suas pesquisas diferentes marcadores, genes, proteínas e citocinas, mas que em conjunto podem esclarecer como o sistema imunológico responde ao *M. leprae*.

Os autores Carvalho e colaboradores (2018) identificaram que a expressão aumentada do receptor “Toll like-4” (TLR4) por neutrófilos configura-se como biomarcador universal da hanseníase. Além disso, encontraram uma gama de biomarcadores seletivos da reação hansênica tipo 1, caracterizados pelo aumento dos níveis de MONTLR2+, MONHLA-DR+, CD4+ TLR2+ e CD8+ sobre estímulos *in vitro* com antígeno *M. leprae*, justificando que reações do Tipo 1 estão associadas à ativação da imunidade celular, causando inflamação localizada na pele e nos nervos. Os autores Mendonça e colaboradores (2008) concordam que as lesões da reação hansênica tipo 1 apresentam-se infiltradas por linfócitos CD4⁺, com aumento da expressão de HLA-DR e do receptor para IL-2 em células do infiltrado, assim como os queratinócitos. Já os pacientes com reação hansênica tipo 2 apresentaram dois biomarcadores exclusivos, incluindo aumento dos níveis de MONIL-10+ no *ex-vivo* e CD8+ IL-8+ por estimulação *in vitro* com antígeno *M. leprae*. Além disso, as descobertas demonstraram que níveis diminuídos de MON TGF-β+ em pacientes com hanseníase foram capazes de discriminá-los daqueles com reações hansênicas.

Rosa e colaboradores (2024) avaliaram as vias de ativação de neutrófilos durante a reação do eritema nodoso hansênico (ENH), também conhecida como reação hansênica tipo 2. Foi identificado que o marcador de ativação de neutrófilos CD177 foi o gene mais enriquecido no ENH, sugerindo que a gravidade do episódio reacional pode estar ligada ao grau de ativação dos neutrófilos. Os genes *CHIT1* (quitinase 1) e *S100A8* (Migration Inhibitory Factor-Related Protein 8) apresentaram níveis médios de expressão mais elevados em pacientes com ENH em comparação com os níveis em pacientes com hanseníase virchowiana (HV). Uma maior expressão do gene *S100A9* (Migration Inhibitory Factor-Related Protein 14) também foi observado em lesões cutâneas do eritema nodoso hansênico (ENH), reforçando seu papel como ator-chave na inflamação. *CHIT1* codifica a enzima quitotriosidase (ou quitinase 1), que está ligada aos grânulos de neutrófilos e associada a um perfil inflamatório intenso. Já *S100A8 / A9* extracelular interage com os receptores de reconhecimento TLR4 e Receptor para Produtos de Glicação Avançada (RAGE), promovendo a ativação e o recrutamento celular (PRUENSTER et al., 2016). Sendo assim, é possível observar uma relação com os achados de Carvalho e colaboradores (2018), que observaram o aumento de MONIL-10+ e CD8+ IL-8+ como biomarcadores exclusivos de reações hansênicas tipo 2 e também identificaram que na reação tipo 1 há aumento nos níveis de TLR2.

Outros autores (PAZ et al., 2021; GERMANO et al., 2022 e FARAG et al., 2022)

avaliaram polimorfismos de nucleotídeo único (SNP). O Polimorfismo de Nucleotídeo Único, mais conhecido pela sigla SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*), é uma variação genética que ocorre quando uma única base de nucleotídeo em uma sequência de DNA é substituída por outra base. A base nitrogenada é a unidade variável dos nucleotídeos, havendo quatro bases nitrogenadas possíveis na composição dos nucleotídeos de DNA: adenina (A), timina (T), guanina (G) e citosina (C) (BECKER & BARBOSA, 2018). Variações nas sequências de DNA podem ter um grande impacto sobre a forma como os seres humanos respondem a doenças, bactérias, vírus, toxinas, produtos químicos, drogas e outras terapias. Entretanto, a maioria dos SNPs não é responsável pelo estado de uma doença, em vez disso, eles servem como marcadores biológicos para a identificação de uma doença sobre o mapa do genoma humano (FREITAS & OLIVEIRA, 2009).

Paz et al. (2021) avaliaram a associação de SNPs nas regiões FokI (rs2228570), TaqI (rs731236), ApaI (rs7975232) do receptor de vitamina D (*VDR*) de pacientes com hanseníase. Os estudos mostraram que o SNP FokI e seus genótipos não tiveram associação com a hanseníase. Quanto ao SNP da região TaqI o genótipo TT foi o mais prevalente (56,9%) quando comparado com o genótipo tt (7,8%), sendo esse último associado a manifestação da hanseníase MB. Na região ApaI foi observado alta prevalência do genótipo Aa (47,03%), seguido pelo genótipo aa (19,55%). A presença do genótipo AA foi associada aos pacientes MB, enquanto o genótipo Aa foi significativamente maior entre os pacientes PB. A análise de risco revelou que o genótipo Aa esteve associado a menor chance de manifestação MB de hanseníase.

Os pesquisadores Singh et al. (2018) também avaliaram os SNPs do gene *VDR* (Taq1, Fok1 e Apa1) na população indiana. Foi observada a associação de Taq1 e Fok1 com pacientes com hanseníase, sendo que os genótipos tt e ff são significativamente mais prevalentes em pacientes com hanseníase em comparação com o grupo controle. Tais resultados contrastam com Paz et al. (2021), que mostraram que o SNP FokI e seus genótipos não tiveram associação com a hanseníase. Embora o poder de associação seja uma limitação do estudo, as observações sugerem que os genótipos ff de Fok1 e tt de Taq1 podem estar associados à suscetibilidade à hanseníase. Não foi encontrada associação significativa do genótipo Apa1 do gene *VDR* com hanseníase, o que também diverge de Paz et al. (2021). Por fim, foi destacado que receptores *VDR* estão distribuídos em menores quantidades em pacientes com hanseníase.

Germano et al. (2022) analisaram polimorfismos na região promotora do DC-SIGN CD209, que é um receptor de lectina do tipo C expresso na superfície das células dendríticas

(DC). Quando esse receptor se liga à micobactérias, prejudica a maturação das DC e promove a persistência do patógeno. Foi avaliado os efeitos funcionais do SNP rs735240 na resposta imune contra *M. leprae*. O genótipo GA e a presença do alelo A de rs735240 foram associados à hanseníase PB. Portadores do alelo A apresentaram menor expressão do receptor DC-SIGN tanto em lesões cutâneas de hanseníase quanto em DCs derivadas de monócitos. Por consequência dessa menor expressão de DC-SIGN houve também uma redução dos níveis de TGF- β . Dessa forma, a menor expressão de DC-SIGN em portadores do alelo A apresenta característica benéfica ao paciente, tendo em vista que os níveis mais baixos de expressão podem implicar uma baixa produção de interleucina-10 (IL-10), concordando com o desenvolvimento de uma resposta imune mediada por células eficiente, observada em pacientes com hanseníase PB. A IL-10 é uma citocina com ação anti-inflamatória, agindo tanto na inibição de apresentação de antígenos por células dendríticas quanto na inibição da ativação e infiltração de macrófagos no local da lesão (STEEN et al., 2020). Segundo Junior et al. (2010) a IL-10 e TGF- β inibem a ativação e maturação de células dendríticas, reduzindo sua capacidade de apresentar antígenos e, conseqüentemente, modulando a resposta imune. Portanto, sem a inibição realizada por IL-10 e TGF- β as células dendríticas podem atuar de forma eficiente no combate ao *M. leprae*.

O autor Cavalcanti (2023) também avaliou o papel de DC-SIGN, porém na Tuberculose e Covid-19. Na primeira, o receptor demonstrou fazer parte do esquema de escape imunológico da bactéria, de forma a estimular a síntese da citocina anti-inflamatória, IL-10. Na segunda patologia citada, ao conseguir se ligar com epítomos glicosilados do SARS-Cov-2, promove a transinfecção do vírus para suas células alvo, facilitando a propagação do vírus.

Outro grupo de pesquisadores avaliou SNP de *IL-17A* (rs2275913A/G). O genótipo GG da *IL-17A* (rs2275913A/G) e o alelo G foram associados significativamente com a hanseníase virchowiana (HV) MB, enquanto o genótipo AG foi significativamente associado com casos de Hanseníase tuberculóide (HT) PB. Os autores revelaram que as concentrações de *IL-17A* estavam mais elevadas em pacientes HT do que em HV e controles. Além disso, demonstraram mais células CD4+ *IL-17A*+ em lesões cutâneas de pacientes HT do que em pacientes HV (FARAG et al., 2022).

As citocinas *IL-17* são produzidas pelas células Th17. Essas células são potentes indutoras de inflamação tecidual e requerem TGF- β em combinação com outras citocinas, como *IL-6* e *IL-23* para sua diferenciação (ZAMBRANO et al., 2014). Esses dados demonstram uma

forte discordância com os resultados obtidos por Germano e colaboradores (2022), quando comparados. Isso porque foi observado no estudo anterior que portadores do alelo A s735240 possuem menor expressão de DC-SIGN e por consequência redução dos níveis de TGF- β . Os portadores do alelo A são associados à hanseníase PB. Dessa forma, pacientes paucibacilares deveriam apresentar concentrações de IL-17A mais baixas, justificada pela redução de TGF- β nesse pólo da doença. Os autores Aarão e colaboradores (2016) também analisaram a expressão tecidual de IL-17 na hanseníase. As biópsias de pele foram coletadas e submetidas à imunohistoquímica utilizando anticorpos específicos para IL-17, fator de crescimento nervoso (NGF) e seu receptor (NGF R). A análise quantitativa da imunomarcagem mostrou diferença significativa entre as formas clínicas, com maior expressão de NGF e NGFR na hanseníase virchowiana (HV) e aumento de IL-17 na hanseníase tuberculóide (HT), concordando com Farag e colaboradores (2022).

A expressão de FOXP3 foi estudada por Lima et al. (2019). O FOXP3 é um membro da família de fatores de transcrição fork head. São proteínas que têm a função de regular a transcrição gênica e, conseqüentemente, a expressão de moléculas e proteínas. Ao contrário de outros membros da família, o FOXP3 é expresso principalmente em um subconjunto de células T reguladoras (Treg CD4+) que desempenham um papel supressor no sistema imunológico (KIM, 2009). Os resultados do estudo demonstraram um número maior de células FOXP3 em pacientes MB do que em pacientes PB. As células FOXP3 teriam então um papel patogênico crucial nos indivíduos MB, já que a elevação dessas células poderia aumentar a supressão da resposta Th1, reduzindo a liberação de interferon gama (IFN- γ) e outras citocinas Th1, favorecendo a sobrevivência e a proliferação dos bacilos. Outro achado importante foi o aumento de FOXP3 durante reação hansênica tipo 1 (RT1) e sua menor expressão em reação hansênica tipo 2 (RT2). Isso sugere uma possível Treg supressiva para controlar a imunidade mediada por célula exacerbada em RT1. Essa supressão é benéfica pois o aumento de Tregs durante RT1 regula o processo inflamatório agudo exacerbado, evitando lesões graves e incapacitantes. Saini e colaboradores (2016) também estudaram a expressão de FOXP3. Assim como no estudo de Lima et al. (2019), as Tregs estavam aumentadas no pólo virchowiano (HV), indivíduos MB, em comparação com pacientes PB. No entanto, os pacientes RT1 e RT2 apresentaram uma diminuição nas células Treg em comparação com a doença não reativa.

Em relação aos métodos de diagnóstico da Hanseníase, há uma grande variação. Atualmente, a baciloscopia de raspado por coloração de Ziehl-Neelsen ainda é muito utilizada

para detecção da doença. Entretanto, a cada dia, métodos inovadores têm encontrado espaço nas análises, principalmente por sua alta sensibilidade e especificidade. A seguir, estão relatados os métodos de diagnóstico selecionados na pesquisa bibliográfica.

Jian et al. (2019) avaliaram a capacidade dos antígenos NDO-BSA (mimético sintético do PGL-I), LID-1 e de seu conjugado (NDO-LID), de detectar anticorpos nos soros de pacientes com hanseníase e grupo controle. O glicolípido fenólico (PGL)-I é um componente de membrana específico para *M. leprae*. O dissacarídeo-octil natural (NDO) é um mimético sintético do PGL-I que, quando conjugado com albumina sérica bovina ou humana (BSA e HSA, respectivamente), é passível de métodos de diagnóstico convencionais, como ensaio imuno enzimático (ELISA). LID-1 é uma proteína de fusão única (*Leprosy IDRI Diagnostic*), que foi construída mantendo as características de dois antígenos (ML0405 e ML2331) para detecção de anticorpos IgG na hanseníase (BOVOLINI et al., 2019). LID-1 também pode ser usada como proteína transportadora para NDO. Os anticorpos circulantes contra NDO-BSA, LID-1 e NDO-LID foram quantificados por ELISA.

O conjugado combinado de NDO-LID obteve resultado melhor do que aquele administrado independentemente pelos outros dois antígenos, LID-1 e NDO-BSA, em pacientes multibacilares e paucibacilares, sendo que os casos de hanseníase MB apresentaram níveis mais elevados de anticorpos circulantes específicos do antígeno quando comparados com todos os outros grupos. Foram detectadas respostas positivas em 97,3%, 97,3% e 98,6% dos pacientes MB para anticorpos contra NDO-BSA, LID-1 e NDO-LID, respectivamente. Essas taxas diminuíram para pacientes PB, para os quais 69,2%, 56,4% e 74,4% tinham anticorpos contra NDO-BSA, LID-1 e NDO-LID, respectivamente. Além desses achados, também foi identificado que o conjugado NDO-LID produziu sensibilidade ainda maior do que separados. Foram detectadas respostas positivas em 98,6% dos pacientes MB, mas as taxas diminuíram para pacientes PB, apresentando 74,4%.

Os pesquisadores Silva et al. (2021) investigaram a presença de DNA do *M. lepra* por amplificação RLEP-PCR (*Repetitive Sequence-Specific Element Polymorphism*) de esfregaços cutâneos de fenda no lóbulo da orelha (SSS) e títulos de anticorpos positivos para o *M. leprae* por anti-PGL-I quantificados também por ELISA. A amplificação de uma sequência repetitiva específica do genoma do *M. leprae* é conhecida como sequência RLEP. A sequência repetitiva específica RLEP é uma técnica utilizada principalmente para identificar e diferenciar cepas de microrganismos, como bactérias, com base em padrões de sequências repetitivas específicas no

DNA (MOHANTY et al., 2020). A amplificação RLEP dentro do grupo de novos casos foi maior quando comparada com a detecção de anti-PGL-I, sendo de 87,3% nos casos MB e 68,8% nos casos PB. A sorologia IgM anti-PGL-I apresentou sensibilidade de 55%, especificidade de 51% e acurácia de 52%, enquanto a detecção de DNA RLEP no SSS foi maior, com sensibilidade de 84%, especificidade de 75% e acurácia de 77%. A combinação dos dois testes laboratoriais aumentou a sensibilidade para 88%, especificidade para 77% e a precisão para 79%.

Houve concordância entre os estudos de Jian et al. (2019) e Silva et al. (2021) sobre os títulos de anticorpos expressos pelos pacientes multibacilares e paucibacilares, sendo que casos de hanseníase MB apresentaram níveis mais elevados de anticorpos circulantes específicos do antígeno. A detecção de título NDO-BSA por Jian et al. (2019) foi 97,3% dos pacientes MB e 69,2% para pacientes PB. Já a detecção de anti-PGL-I por Silva et al. (2021), no grupo de casos novos, foi de 68,8% nos casos MB e 37,5% nos casos PB.

Assim como Silva et al. (2021), os autores Mohanty e colaboradores (2020) avaliaram a reação em RLEP-PCR, mas nesse caso foram utilizadas amostras de tecidos de pacientes e seus resultados foram posteriormente comparados com a PCR de repetição de sequência inter-simples (ISSR-PCR) e microscopia de BAAR.

ISSR-PCR é uma técnica que requer um único primer baseado em marcadores SSR (microsatélites). Os SSRs são comuns no genoma e alterações nos SSRs, como deleção ou inserção, levam ao polimorfismo ISSR (POYRAZ, 2016). As regiões amplificadas por marcadores do tipo ISSR são abundantes e se encontram distribuídas por todo o genoma. Por apresentar baixa especificidade e geralmente acessar diversos locos polimórficos, os marcadores ISSR se apresentam como uma ferramenta importante para estudos de diversidade genética, principalmente em espécies pouco exploradas (GUPTA et al., 1994). Por outro lado, RLEP é um marcador codominante que produz bandas de 129 pares de bases em gel de agarose 2%. Os marcadores dominantes, como o ISSR, têm uma vantagem sobre os marcadores codominantes, pois são hipervariáveis, estão presentes em múltiplas cópias e estão espalhados por todo o genoma do organismo.

A identificação dos pacientes recrutados para o estudo de Mohanty e colaboradores (2020) foi baseada em dois sinais cardinais: lesão cutânea hipopigmentada com perda parcial ou total de sensibilidade na lesão e positividade para coloração de BAAR em amostras de esfregaço de pele. Dos 168 pacientes recrutados, 58 (34,52%) eram pacientes MB e 110

(65,47%) eram pacientes PB. Desses, 106 (63,09%) foram positivos para RLEP-PCR. Dos pacientes positivados 49 (46,22%) eram MB e 57 (53,77%) eram PB. Apenas 41 (24,40%) casos foram positivos para BAAR em microscopia de esfregaço cutâneo e 123 (73,21%) foram positivos para ISSR-PCR. Portanto, o resultado mostrou melhor eficácia do ISSR-PCR em relação ao RLEP-PCR e à microscopia de BAAR.

Belotti e colegas (2021) realizaram os testes de baciloscopia por Ziehl-Neelsen e Auramine O e o teste rápido ML flow para detecção de anticorpos IgM anti-PGL-I e compararam os resultados. O corante Auramina O é um cloridrato que resulta em uma mancha fluorescente e é utilizado para demonstrar organismos ácido-resistentes em um método semelhante ao Ziehl Neelsen. Os esfregaços foram primeiro corados com Auramine O e, após leitura em microscópio de fluorescência, os esfregaços foram corados por Ziehl-Neelsen. A leitura foi realizada qualitativamente (positiva ou negativa) pela técnica de microscopia de fluorescência. Para a técnica de Ziehl-Neelsen foi utilizada a contagem do Índice Baciloscópico em microscópio de luz comum.

O estudo contou com a participação de 94 pacientes com suspeita da doença. Desses, 31 (32,9%) foram diagnosticados com hanseníase. Neste estudo, a positividade do teste ML flow ocorreu em 87,0% (n= 27) dos pacientes e a positividade pela técnica de Ziehl Neelsen foi superior à técnica de fluorescência, com resultados de 22,3% e 15,9%, respectivamente. O teste ML Flow apresentou a maior positividade entre as três técnicas avaliadas e houve maior concordância entre os resultados do teste sorológico ML Flow e da baciloscopia por Ziehl-Neelsen, quando comparados aos resultados da baciloscopia por Auramine O. Os autores Contin et al. (2011) avaliaram o teste ML-Flow como auxiliar na classificação e tratamento da hanseníase. Encontraram positividade de 82% dos pacientes testados, mas ressaltaram que assim como outros testes sorológicos, o ML-Flow não é diagnóstico, pois a maioria dos PB não desenvolve anticorpos detectáveis, mas pode ser usado como ferramenta para classificação em PB e MB após o diagnóstico inicial.

CONCLUSÃO

De modo geral, as características imunológicas apresentadas nos 6 estudos trouxeram informações complementares para melhor compreensão da hanseníase e reações hansênicas. Foi demonstrado que a expressão aumentada do receptor TLR4+ em neutrófilos aparece como biomarcador universal da hanseníase. Já a reação hansênica tipo I está intimamente associada a

atividade da imunidade celular.

As avaliações dos SNPs constataram que o genótipo GA e o alelo A do rs735240 *DC-SIGN CD209* estão associados a hanseníase (PB). O SNP de *IL-17A* (rs2275913A/G) mostrou que o genótipo AG se associa a hanseníase tuberculóide (PB), enquanto o genótipo GG e alelo G estão associados à hanseníase virshowiana (MB). Em relação aos polimorfismos nas regiões TaqI e ApaI, as manifestações MB tiveram como característica o genótipo tt da TaqI e genótipo AA da ApaI. A proteção da hanseníase MB teve como característica o genótipo Aa da ApaI e os genótipos estendidos AaTT e AaTt de ApaI e TaqI.

A expressão de FOXP3 demonstrou aumento em pacientes MB em relação aos PB. A FOXP3 também tem maior expressão durante RT1 em comparação com RT2, sendo que a supressão realizada por FOXP3 regula de forma benéfica o processo inflamatório exacerbado, evitando lesões graves e incapacitantes durante a RT1.

Na análise dos métodos diagnósticos, aferiu-se que o conjugado NDO-LID apresentou maior sensibilidade que NDO-BSA e LID-1 separadamente. Quando os testes RLEP-PCR, ISSR-PCR e microscopia de BAAR foram comparados, os resultados mostraram maior eficácia de ISSR-PCR diante dos dois outros testes. Quando comparados os testes de Baciloscopia por Ziehl-Neelsen e Auramine O e o teste rápido ML flow, notou-se que o teste ML Flow foi mais sensível que os outros dois testes realizados e a baciloscopia de Ziehl Neelsen continua sendo a melhor opção se tratando da identificação da presença de bacilos.

Assim, é possível concluir que o sistema imunológico está intimamente relacionado com o desenvolvimento da hanseníase. Ao analisar as ações de células, receptores, citocinas e anticorpos separadamente e em conjunto é possível compreender como e porque a doença se manifesta de diferentes formas. O polimorfismo de nucleotídeos deixa mais claro a suscetibilidade para determinado pólo da doença. A análise dos métodos diagnósticos esclarece que o uso de antígenos para detecção de anticorpos e a identificação e análise do DNA do *M. leprae* são métodos eficazes e rápidos, principalmente quando comparados com a baciloscopia, que apresenta baixa sensibilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AARÃO T, SOUZA J, BOTELHO B, FUZZI H, QUARESMA J. Correlation between nerve growth factor and tissue expression of IL-17 in leprosy. *Microb Pathog* 90: 64-68, 2016.
2. ARAÚJO M. Hanseníase no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 36(3): 373-382, 2003.
3. BARRETO J, BRANDÃO J, FRADE M, ANDRADE V. Guia prático sobre a hanseníase. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 68p.
4. BECKER R, BÁRBARA LF. Genética Básica. Porto Alegre: Grupo A, 2018, 255p.
5. BELOTTI N, NARDI S, PASCHOAL V, MONTANHA J, PEDRO H, GAZETTA Z. Laboratory diagnosis of leprosy: Two staining methods from bacilloscopy and rapid ml flow test. *Int J Mycobacteriol* 10(4): 393-397, 2021.
6. BOVOLINI G, SILVA E, SOUZA V. Desempenho dos antígenos PGL-I, LID-1e NDO-LID para diagnóstico sorológico de hanseníase em pacientes e contatos domiciliares: revisão de literatura. *Hansen Int* 44: e-2368, 2019.
7. CARVALHO J, ARAÚJO M, REIS J, MAGALÃES V, ALVARES V, MOREIRA M, CARVALHO A, FILHO O, ARAÚJO M. Phenotypic and functional features of innate and adaptive immunity as putative biomarkers for clinical status and leprosy reactions. *Microbial Pathogenesis* 125: 230-239, 2018.
8. CAVALCANTI MSB. Receptor de lectina do tipo C DC-SIGN e seu papel na tuberculose e COVID-19. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação), Centro de Biociências, Biomedicina, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023, 47p.
9. CONTIN L, ALVES C, FOGAGNOLO L, NASSIF P, BARRETO J, LAURIS J, NOGUEIRA M. Uso do teste ML-Flow como auxiliar na classificação e tratamento da hanseníase. *An Bras Dermatol* 86(1): 91-95, 2011.
10. CORIOLANO C, NETO W, PENNA G, SANCHEZ M. Fatores associados ao tempo de ocorrência das reações hansênicas numa coorte de 2008 a 2016 em Rondônia, Região Amazônica, Brasil. *Cad Saude Publica* 37(12): e00045321, 2021.
11. CRUVINEL W, JÚNIOR D, ARAÚJO J, CATELAN T, SOUZA A, SILVA N, ANDRADE L. Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. *Rev Bras Reumatol* 50(4): 434:461, 2010.
12. FARAG A, LABEED A, GERGES A, ELSHAIB M. Interleukin-17A in Egyptian leprosy

- patients: a clinical, genetic, and biochemical study. *An Bras Dermatol* 97(6): 735-741, 2022.
13. FONSECA A, SIMON M, CAZZANIGA R, MOURA T, ALMEIDA R, DUTHIE M, REED S, JESUS A. The influence of innate and adaptative immune responses on the differential clinical outcomes of leprosy. *Infect Dis Poverty* 6(1): 5, doi:10.1186/s40249-016-0229-3, 2017.
 14. FREITAS L, OLIVEIRA A. Utilização de polimorfismos de base única (SNPs) na identificação de doenças genéticas. *Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar*. ISBN 978-85-61091-05-7, 2009.
 15. GERMANO G, BRAGA A, CAMARGO R, BALLALAI P, BEZERRA O, MANTA F, BELONE A, SOARES C, DAS P, MORAES M, LATINI A, SOUZA V. Association of CD209 (DC-SIGN) rs735240 SNV with paucibacillary leprosy in the Brazilian population and its functional effects. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 117: e220014, 2022.
 16. GUPTA M, CHYI Y, SEVERSON J, OWEN J. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theor Appl Genet* 89(7-8): 998-1006, 1994.
 17. HASTINGS RC. Leprosy Review. *LEPRA* 65(4): 1-132, 1994.
 18. JIAN L, XIUJIAN S, YUANGANG Y, YAN X, LIANCHAO Y, DUTHIE M, YAN W. Evaluation of antibody detection against the NDO-BSA, LID-1 and NDO-LID antigens as confirmatory tests to support the diagnosis of leprosy in Yunnan province, southwest China. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 114(3): 193-199, 2020.
 19. JUNIOR D, ARAÚJO J, CATELAN T, SOUZA A, CRUVINEL W, ANDRADE L, SILVA N. Sistema imunitário - parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. *Bras J Rheumatol* 50(5):552-580, 2010.
 20. KIM C. FOXP3 and its role in the immune system. *Adv Exp Med Biol* 665: 17-29, 2009.
 21. KUNDAKCI N; ERDEM C. Leprosy: a great imitator. *Clin Dermatol* 37(3): 200-212, 2019.
 22. LIMA C, COSTA E, SAMPAIO L. Expression of FoxP3 in different forms of leprosy and reactions. *J Bras Patol Med Lab* 55(4): 434-441, 2019.
 23. MENDONÇA V, COSTA R, MELO G, ANTUNES C, TEIXEIRA A. Imunologia da hanseníase. *An Bras Dermatol* 83(4): 343-350, 2008.
 24. MOHANTY P, NAAZ F, BANSAL A, KUMAR D, SHARMA S, ARORA M, SINGH H, KATARA P, SONI N, PATIL S, SINGH. Molecular detection of *Mycobacterium leprae* using RLEP-PCR in post elimination era of leprosy. *Mol Biol Res Commun* 9(1):17-22,

2020.

25. MONHANTY P, BANSAL A, NAAZ F, PATIL S, ARORA M, SINGH M. Dominant marker (inter-simple sequence repeat-polymerase chain reaction) versus codominant marker (RLEP-polymerase chain reaction) for laboratory diagnosis of leprosy: A comparative evaluation. *Int J Mycobacteriol* 9(1): 18-23, 2020.
26. PAZ J, SILVESTRE M, MOURA L, FURLANETO I, RODRIGUES Y, LIMA K, LIMA L. Association of the polymorphism of the vitamin D receptor gene (VDR) with the risk of leprosy in the Brazilian Amazon. *Bioscience Reports* 41(7): BSR20204102, 2021.
27. POYRAZ I. Comparison of ITS, RAPD and ISSR from DNA-based genetic diversity techniques. *C R Biol* 339(5-6): 171-178, 2016.
28. PRUENSTER M, VOGL T, ROTH J, SPERANDIO M. S100A8/A9: From basic science to clinical application. *Farmacol Ther* 167: 120-131, 2016.
29. QUEIROZ T, CARVALHO F, SIMPSON C, FERNANDES A, FIGUEIRÊDO D, KNACKFUSS. Perfil clínico e epidemiológico de pacientes em reação hansênica. *Rev Gaúcha Enferm* 36(esp): 185-191, 2015.
30. ROSA T, TAVARES I, DIAS A, BARBOOZA M, COSTA F, BELONE A, HACKER M, BELISLE J, PESSOLANI M, CALVO T, MENDES M, PIAUY M, KAPUSCINSKI M, MARQUES M SALES A, MOREIRA M, MORAES M, SCHMITZ V. Whole blood transcriptomics reveals the enrichment of neutrophil activation pathways during erythema nodosum leprosum reaction. *Front Immunol* 15: 1366125, doi: 10.3389/fimmu.2024.1366125, 2024.
31. SAINI C, SIDDIQUI A, RAMESH V, NATH I. Leprosy Reactions Show Increased Th17 Cell Activity and Reduced FOXP3+ Tregs with Concomitant Decrease in TGF- β and Increase in IL-6. *PLoS Negl Trop Dis* 10(4): e0004592, 2016.
32. SILVA M, LI W, BOUTH R, GOBBO A, MESSIAS A, MORAES T, JORGE E, BARRETO J, FILHO F, CONDE G, FRADE M, SALGADO C, SPENCER J. Latent leprosy infection identified by dual RLEP and anti-PGL-I positivity: Implications for new control strategies. *PLoS One* 16(5): e0251631, 2021.
33. SINGH I, LAVANIA M, PATHAK V, AHUJA M, TURANKAR R, SING V, SENGUPTA U. VDR polymorphism, gene expression and vitamin D levels in leprosy patients from North Indian population. *Plos Negl Trop Dis* 12(11): e0006823, 2018.
34. STEEN E, WANG X, BALAJI S, BUTTE M, BOLLYKY P, KESWANI S. The Role of the

- Anti-Inflammatory Cytokine Interleukin-10 in Tissue Fibrosis. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 9(4): 184-198, 2020.
35. VAN BEERS SM, DE WIT MYL, KLASTER PR. MiniReview: The epidemiology of *Mycobacterium leprae*: Recent insight. *FEMS Microbiol Lett* 136: 221-230, 1996.
36. WHO. Global leprosy (Hansen disease) update, 2019: time to step-up prevention initiatives. *Wkly Epidemiol Rec* 95: 417-440, 2020.
37. ZAMBRANO J, MARTÍNEZ E, AVELAR M, MAGALLANES N, PÉREZ N. Th17 Cells in Autoimmune and Infectious Diseases. *Int J Inflam* 651503, doi: 10.1155/2014/651503, 2014.