

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE MEDICINA**

**DETECTAÇÃO DE ASSIMETRIA DE TEMPERATURA NAS MÃOS DE
PACIENTES COM HANSENÍASE E CONTATOS ASSINTOMÁTICOS POR
TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA INDICANDO DISFUNÇÃO AUTONÔMICA
PERIFÉRICA**

ELAINE FÁVARO PÍPI SABINO

**DOUTORADO
2019
ELAINE FÁVARO PÍPI SABINO**

**DETECTAÇÃO DE ASSIMETRIA DE TEMPERATURA NAS MÃOS DE PACIENTES
COM HANSENÍASE E CONTATOS ASSINTOMÁTICOS POR TERMOGRAFIA
INFRAVERMELHA INDICANDO DISFUNÇÃO AUTONÔMICA PERIFÉRICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Isabela Maria Bernardes Goulart

UBERLÂNDIA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

S116d Sabino, Elaine Fávoro Pipi, 1980-
2019 Detecção de assimetria de temperatura nas mãos de pacientes com
hanseníase e contatos assintomáticos por termografia infravermelha
indicando disfunção autonômica periférica [recurso eletrônico] / Elaine
Fávoro Pipi Sabino. - 2019.

Orientadora: Isabela Maria Bernardes Goulart.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de
Pós-Graduação em Ciências da Saúde.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2021.5546>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Ciências médicas. I. Goulart, Isabela Maria Bernardes, 1959-,
(Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 61

Glória Aparecida
Bibliotecária - CRB-6/2047



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
 Av. Pará, 1720, Bloco 2H, Sala 09 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
 Telefone: 34 3224-3828 - www.ppcsa.famed.ufu.br - copme@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Ciências da Saúde				
Defesa de:	Tese de Doutorado N8 015/PPCSA				
Data:	02.09.2019	Hora de início:	13:30h	Hora de encerramento:	18:30h
Matrícula do Discente:	11513CS0006				
Nome do Discente:	Elaine Fávora Pipi Sabino				
Título do Trabalho:	Termografia Infravermelha Detecta Assimetria de Temperatura das Mãos de Pacientes com Hanseníase e Contatos Assintomáticos Indicando Disfunção Autonômica Periférica.				
Área de concentração:	Ciências da Saúde				
Linha de pesquisa:	3: Fisiopatologia das doenças e dos agravos à saúde				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Aplicações da nanobiotecnologia em doenças infecciosas, parasitárias e crônico-degenerativas				

Reuniu-se no anfiteatro do bloco 8B, Campus Umuarama, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, assim composta: Professores Doutores: Helena Barbosa Lugão (USP), José Antônio Garbino (Instituto Lauro de Souza Lima), Yara Cristina de Paiva Maia (UFU), Diogo Fernandes dos Santos (UFU) e Isabela Maria Bernardes Goulart (FAMED/UFU) orientadora da candidata.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Dr. Isabela Maria Bernardes Goulart, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu a Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(as) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.

Documento assinado eletronicamente por Isabela Maria Bernardes Goulart, Professor(a) do Magistério Superior, em 03/09/2019, às 10:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento



no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Helena Barbosa Lugão, Usuário Externo**, em 03/09/2019, às 10:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jose Antonio Garbino, Usuário Externo**, em 03/09/2019, às 10:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Yara Cristina de Paiva Maia, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/09/2019, às 16:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Diogo Fernandes dos Santos, Professor(a) do Magistério Superior**, em 04/09/2019, às 22:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 1515428 e o código CRC A8690797.

**DETECTAÇÃO DE ASSIMETRIA DE TEMPERATURA NAS MÃOS DE
PACIENTES COM HANSENÍASE E CONTATOS ASSINTOMÁTICOS POR
TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA INDICANDO DISFUNÇÃO AUTONÔMICA
PERIFÉRICA**

Presidente da banca: Profa. Dra. Isabela Maria Bernardes Goulart

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde.
Área de concentração: Ciências da Saúde.

Banca examinadora

Titular: Profa. Dra. Isabela Maria Bernardes Goulart

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Titular: Profa. Dra. Helena Barbosa Lugão

Instituição: Universidade de São Paulo (USP)

Titular: Prof. Dr. José Antônio Garbino

Instituição: Instituto Lauro de Souza Lima (ILSL)

Titular: Prof. Dra Yara Cristina de Paiva Maia

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Titular: Prof. Dr. Diogo Fernandes dos Santos

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Suplente: Profa. Dra. Camilla Zamfoline Hallal

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Suplente: Prof. Dr. Douglas Eulálio Antunes

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais Elisa (in memoriam) e Valdir,
por sempre me incentivarem a estudar. Sem o amor e o exemplo deles eu não
seria o que sou.*

AGRADECIMENTOS

À Deus.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Isabela Maria Bernardes Goulart, por ser minha professora e amiga. Obrigada por sua disponibilidade, amor, dedicação e ensinamentos durante nossos inúmeros encontros. Por ter me recebido em sua casa várias vezes, inclusive em domingos e feriados, para me ensinar sobre hanseníase e tantos outros assuntos que levarei para sempre em meu coração. Você é exemplo para mim, como profissional que se dedica ao trabalho, tornando mais leve o sofrimento dos pacientes acometidos por uma doença negligenciada; como professora, que tem todo o cuidado com os alunos a qualquer dia e hora ensinando várias vezes a mesma coisa se necessário; e como mulher, que demonstra coragem, força e amor em suas atitudes. Obrigada por tudo Isabela!

Ao meu esposo Robinson, por todo amor e incentivo. Obrigada por sempre estar ao meu lado me ajudando e me apoiando para a finalização desse trabalho. Amo você.

Aos meus filhos Álvaro e Thomás, meu mais puro amor. Nasceram durante esses anos de doutorado e entendem a importância desse trabalho para mim. Vocês são minha vida.

Ao meu irmão Angelo que se fez presente mesmo estão longe fisicamente, porém foi minha alegria nos dias sombrios em que eu pensava que eu não conseguiria. Você é minha Luz.

À equipe do CREDESH, sem vocês esse trabalho não teria sido concluído. Vocês não mediram esforços para me ajudar. Obrigada por tudo que aprendi com vocês durante esses anos.

À Dulcinéa, Dr Adeílson e Dra Cida por terem me ensinado sobre hanseníase com todo amor e paciência, e por encaminharem os contatos e os pacientes para que esse trabalho fosse concluído.

À Lídia, Maria Cristina, Geisa, Elisângela, Angela e Daniela responsáveis pelo administrativo do CREDESH, por terem me acolhido desde o primeiro dia que cheguei no setor. Vocês estarão para sempre em meu coração!

Aos amigos do grupo de pesquisa, em especial Diogo, Douglas e Liliane, pela troca de conhecimentos e pelo companheirismo nesses anos.

Aos meus grandes amigos de diferentes cidades, agradeço o apoio com palavras sábias e leves, por cuidarem dos meus filhos nos dias que precisei e por me amarem como sou. Vocês são muito especiais.

Às secretarias da pós-graduação Gisele e Viviane, pela disponibilidade em me ajudar sempre que precisei.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da UFU, pela oportunidade de realização do doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado.

A todos pacientes de hanseníase, que os resultados desse trabalho possam auxiliar a equipe de saúde na detecção precoce de comprometimento neural periférico, prevenindo a instalação de incapacidades que pode ocorrer no decorrer da doença.

RESUMO

Introdução: A hanseníase é uma doença infecciosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae* sendo uma das causas mais comuns de neuropatia periférica não traumática em todo o mundo. O *M. leprae* afeta fibras nervosas que acometem primeiramente a sensibilidade térmica seguida da sensibilidade tátil. Um recurso que tem sido usado para avaliar a alteração da temperatura na superfície do corpo é a termografia por infravermelho (IR). As imagens obtidas com a câmera termográfica têm sido usadas no estudo de doenças que causam modificação de temperatura superficial decorrente de anormalidades clínicas, como a neuropatia autonômica periférica. **Objetivo:** Detectar a assimetria de temperatura nas mãos de pacientes com hanseníase e contatos assintomáticos por termografia infravermelha. **Metodologia:** Trata-se de um estudo transversal realizado com 48 pacientes de hanseníase (16 dimorfo tuberculóide, 10 dimorfo dimorfo, 10 dimorfo virchowiano e 12 virchowiano), 66 contatos assintomáticos soropositivos para anti-glicolípídeo-fenólico-1 (anti-PGL-I), 55 contatos assintomáticos soronegativos (anti-PGL-I) e 23 indivíduos saudáveis. A temperatura da pele foi medida pela câmera FLIR® T420 IR em dez regiões de interesse (ROIs) em cada mão com temperatura ambiente controlada. O teste sensorial com monofilamentos de Semmes-Weinstein foi usado para avaliar a perda da sensibilidade cutânea e o teste voluntário de força muscular para avaliar a perda de força muscular. **Resultados:** Artigo 1: Os indivíduos saudáveis não apresentaram três ou mais pontos de assimetria entre os dez pontos avaliados nas mãos. No entanto, foi demonstrada assimetria de temperatura em 25,0% (12/48) dos pacientes com hanseníase, sendo 18,7% (03/16) da BT, 40,0% (04/10) do BB, 20% (02/10) do BL e 25,0 % (03/12) do LL. Artigo 2: 4,2% (01/23) de indivíduos saudáveis apresentaram assimetria de temperatura em dois ou mais pontos das mãos entre os dez pontos avaliados. Em relação aos grupos de contatos assintomáticos, 81,8% (54/66) dos soropositivos e 60,0% (33/55) dos soronegativos apresentaram assimetria de temperatura em mãos. A razão de chances dos grupos apresentarem assimetria em relação aos sujeitos saudáveis foram: 99 vezes mais chances de apresentar assimetria de temperatura e os soronegativos 33 vezes. Quando comparado contatos soropositivos e soronegativos, o primeiro grupo apresentou 3 vezes mais chances de apresentar assimetria. Comparando as três avaliações demonstradas, pode-se

observar que os pacientes com a forma clínica DT apresentaram 25 vezes mais chance de desenvolver comprometimento neural autonômico em relação ao comprometimento sensitivo e ao motor ($p < 0.05$), as demais formas clínicas não apresentaram significância estatística. Além disso, os contatos soropositivos e os soronegativos apresentaram alta proporção de acometimento autonômico periférico detectado pela termografia quando comparado com a perda sensorial detectada pelos monofilamentos de Semmes-Weinstein ($p < 0.05$). **Conclusão:** O estudo ressalta que a termografia por infravermelho pode detectar assimetria de temperatura nas mãos de pacientes com hanseníase e contatos assintomáticos soropositivos e soronegativos, indicando disfunção autonômica periférica relacionada ao comprometimento neural precoce nessa doença.

ABSTRACT

Introduction: Leprosy is a chronic infectious disease caused by *Mycobacterium leprae* and is one of the most common causes of nontraumatic peripheral neuropathy worldwide. *M. leprae* affects nerve fibers that primarily affect thermal sensitivity followed by tactile sensitivity. One tool that has been used to evaluate body surface temperature alterations is infrared (IR) thermography. Thermographic images have been used to study diseases that cause surface temperature modification due to clinical abnormalities, such as peripheral autonomic neuropathy. **Objective:** the aim of present study was to use IR thermography to identify asymmetric temperature between both hands in leprosy patients and asymptomatic leprosy contacts. **Material and Methods:** It is a cross-sectional study with 48 leprosy patients (16 borderline tuberculoid (BT), 10 mid-borderline (BB), 10 borderline lepromatous (BL) and 12 lepromatous (LL)), 66 asymptomatic contacts seropositive for anti-glycolipid-phenolic-1 (anti-PGL-I), 55 asymptomatic contacts seronegative (anti-PGL-I) and 23 healthy subjects. Skin temperature was measured by the FLIR® T420 IR camera in ten regions of interest (ROIs) in each hand at controlled room temperature. The Semmes-Weinstein monofilament sensory test was used to assess the loss of skin sensitivity and the voluntary muscle strength test to assess muscle strength loss was performed in all groups. **Results:** The presence of 3 or more points with hand asymmetry was not observed in healthy subjects. However, it was observed in 43.7% (26/48) of leprosy patients, with 37.5% (06/16) of BT, 40.0% (04/10) of BB, 40% (04/04). 10) LB and 58.4% (07/12) of LL, in 65.1% of seropositive contacts and 50.9% of seronegative contacts. The odds ratios of all groups presenting temperature asymmetry when compared with healthy subjects were: 5.7-fold chance for BT, 10.5-fold chance for BB, 6.7-fold chance for BL, and 13.5-fold chance for LL. However, seropositive contacts showed 26.1-fold chance to develop asymmetric temperature and seronegative contacts presented 9.6-fold than healthy. Regarding the patients who presented more chance to develop autonomic dysfunction than sensory and motor neural impairment, it was demonstrated that BT patients presented 25-fold more chance ($p < 0.05$). However, other clinical forms were not statistically significant. Seropositive and seronegative contacts showed a high proportion of peripheral autonomic impairment detected by IR thermography when compared with sensory loss detected by monofilaments ($p < 0.05$). **Conclusion:** The study highlights that IR thermography may

detected temperature asymmetric in the hands of leprosy patients and asymptomatic seropositive and seronegative contacts, indicating peripheral autonomic dysfunction related to early neural impairment in this disease.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Figure 1. Distribuição geográfica dos novos casos de hanseníase 2017.....	19
Figure 2. Classificação de Ridley & Jopling, 1966.....	22
Figure 3. Principais nervos acometidos.....	27
Figure 4. Mapa térmico com paletas de cores representativa.....	31
Figure 2. Fluxo sanguíneo na pele.....	33

ARTIGO 1: Evaluation of skin temperature in hands of leprosy patients detecting peripheral autonomic dysfunction by infrared thermography.

Figure 1. (A) Thermogram with one ROI on the dorsal side and (B) nine ROIs on the dorsal side of the hand: D: dorsal, P: palmar, FP: proximal phalanx and FD: distal phalanx.....	45
Figure 2. Threshold of temperature (T) values and (ΔT) temperature difference for each ROI in right and left hands.....	46
Figure 3. Schematic draw of a proposed pathway for neurological and vascular involvement detected by IR thermography in leprosy contacts.....	56

ARTIGO 2: Asymptomatic leprosy contacts present asymmetrical skin temperature in hands by infrared thermography.

Figure 1. (A) Thermal images with one ROI on the dorsal side and (B) nine ROIs on the dorsal side of the hand: D: dorsal, P: palmar, FP: proximal phalanx and FD: distal phalanx.....	89
Figure 2. Threshold of ΔT value considering the average plus upper limit of normality based on healthy group for each ROI.....	90
Figure 3. Schematic draw of a proposed pathway for neurological and vascular involvement detected by IR thermography in leprosy contacts.....	91
Figure 4. Algorithm for annual household contact evaluation, including IR thermography for seropositive and seronegative leprosy contacts.....	92

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1: Evaluation of skin temperature in hands of leprosy patients detecting peripheral autonomic dysfunction by infrared thermography.

Table 1. Laboratory tests positivity and disability grade according to clinical form of leprosy patients.....	48
Table 2. Percentage of healthy, BT, BB, BL and LL leprosy groups with decrease of temperature in both hands, considering ten ROIs for each hand.....	49
Table 3. Odds ratio (OR) of decrease of skin temperature in left and right hands considering ≥ 6 ROIs from healthy vs. BT, healthy vs. BB, healthy vs. BL and healthy vs. LL.....	50
Table 4. Percentage of healthy, BT, BB, BL and LL groups with temperature asymmetry in ten ROIs according with threshold of ΔT	51
Table 5: OR of thermal asymmetry considering ≥ 2 asymmetric ROIs from healthy vs. BT, healthy vs. BB, healthy vs. BL and healthy vs. LL.....	52
Table 6. Percentage of sensory loss by Semmes-Weinstein monofilament in hands between healthy subjects and leprosy patients (BT, BB, BL and LL clinical form).....	53
Table 7. Percentage of muscle strength in hands between healthy subjects and leprosy patients (BT, BB, BL and LL clinical form).....	54
Table 8: Odds ratio of neural impairment comparing asymmetric temperature by IR thermography with sensory testing and VMT in BT, BB, BL and LL leprosy patients.....	54

ARTIGO 2: Asymptomatic leprosy contacts present asymmetrical skin temperature in hands by infrared thermography

Table 1. Percentage of healthy, seropositive and seronegative LC groups with temperature asymmetry in ten ROIs.....	88
Table 2. Odds Ratio to thermal asymmetry considering ≥ 2 asymmetric ROIs from healthy vs. seropositive HHC, healthy vs. seronegative HCC and seropositive HHC vs. seronegative HHC.....	89

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

CREDESH	Centro de Referência em Dermatologia Sanitária e Hanseníase
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
PGL	Glicolípideo Fenólico
OMS	Organização Mundial de Saúde
CO	Classificação Operacional
T	Tuberculóide
V	Virchowiana
DT	Dimorfo Tuberculóide
DD	Dimorfo Dimorfo
DV	Dimorfo Virchowina
MB	Multibacilar
PB	Paucibacilar
β	Beta
ENMG	Eletroneuromiografia
α	Alfa
MBP	<i>Major Basic Protein</i>
PQT	Poliqumioterapia
IR	Infravermelho
°C	Grau Celsius
ROI	Região de Interesse
ΔT	Diferença de Temperatura
AVA	Anastomose Arteriovenosa

ARTIGOS

BT	<i>Bordeline Tuberculoid</i>
BB	<i>mid-Bordeline</i>
BL	<i>Bordeline Lepromatous</i>
LL	<i>Lepromatous</i>

ROI	<i>Region of Interest</i>
IR	<i>Infrared</i>
LASER	<i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i>
°C	<i>Celsius Degree</i>
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CREDESH	<i>National Reference Center for Sanitary Dermatology and Leprosy</i>
HIV	Human Immunodeficiency Virus Infection
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
PGL	<i>Phenolic Glycolipid</i>
IgM	<i>Imunoglobulin</i>
OD	<i>Optical Density</i>
EI	<i>ELISA Index</i>
BI	<i>Bacillary Index</i>
AFB	<i>Acid Fast Bacilli</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
qPCR	<i>real time Polimerase Chain Reaction</i>
SWM	Semmes-Weinstein Monofilaments
VMT	Voluntary Muscle Testing
DG	Disability Grade
ΔT	Temperature Difference
CMC	Carpometacarpal
D	Dorsal
P	Palmar
FP	Proximal Phalanx
FD	Distal Phalanx
SD	Standard Deviation
IQR	Interquartile Range
OR	ODDS RATIO
CI	Confidencial Interval
AVA	Arteriouvenous Anastomoses
WHO	World Health Organization
LC	Leprosy Contacts

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO.....	18
1.1- Considerações Iniciais.....	20
2 - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	21
2.1 – Hanseníase.....	21
2.1.1 - Epidemiologia.....	21
2.1.2 - Vias de transmissão do <i>Mycobacterium leprae</i>	23
2.1.3 - Formas clínicas.....	24
2.1.4 - Diagnóstico.....	26
2.1.5 - Comprometimento Neural em Hanseníase.....	28
2.1.6 - Tratamento.....	32
2.2 - Termografia por infravermelho (IR).....	32
2.3 - Temperatura cutânea.....	35
3 – OBJETIVOS.....	38
3.1 - Objetivo Geral.....	38
3.2 - Objetivos Específicos.....	38
4 – RESULTADOS.....	39
Artigo 1.....	39
Artigo 2.....	68
5 – CONCLUSÕES.....	98
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	99

1 - INTRODUÇÃO

A hanseníase é uma doença neuro-dermatológica que pode comprometer fibras autonômicas, sensitivas e motoras do sistema nervoso periférico (SHETTY *et al.*, 1988; GARBINO, 2007; SCOLLARD *et al.*, 2015). Esse comprometimento pode ser irreversível levando como consequência incapacidade física aos indivíduos expostos ao *M. leprae*. Com isso, se faz necessário a implantação de políticas públicas para a aquisição de equipamentos que auxiliem no diagnóstico precoce de comprometimento neural, sendo que esse poderá acometer o indivíduo antes do aparecimento de lesão de pele.

Os doentes e os contatos de hanseníase avaliados nesse trabalho são atendidos no Centro de Referência Nacional em Dermatologia Sanitária e Hanseníase, do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia- MG (CREDESH/ HC / UFU-MG), sendo um dos seis centros de referência nacional em hanseníase do Brasil. Este local é composto por uma equipe multidisciplinar com experiência na aplicação de ferramentas sorológicas, moleculares e neurofisiológicas nos pacientes e contatos domiciliares para identificar comprometimento neural precoce, essencial para o diagnóstico e acompanhamento dessa doença neuro-dermatológica.

Desde o ano 2000, o CREDESH identifica grupos de risco realizando o diagnóstico precoce da hanseníase em casos novos e em contatos através do monitoramento de contatos. Nesse último, os contatos de pacientes com hanseníase são acompanhados por um período de mais de 7 anos, o que nos permite analisar os possíveis danos neurais que podem ocorrer precocemente, como também avaliar o processo de adoecimento desse grupo, correlacionando as condições clínicas e laboratoriais envolvidas nesse processo.

Além do atendimento ao paciente, esse centro de referência atua no desenvolvimento de pesquisa experimental e clínica com alunos de iniciação científica, mestrado e doutorado apresentando à sociedade os resultados dos achados por meio de publicações que abordam vários temas voltados para o estudo da hanseníase.

Ferramentas diagnósticas que detectam precocemente o comprometimento neural devem estar disponíveis para monitoramento de neuropatias subclínicas em pacientes e na vigilância de contatos, grupo com maior risco de adoecer, melhorando o prognóstico e, conseqüentemente, prevenindo incapacidades decorrentes da

hanseníase.

Contudo, o reconhecimento precoce do comprometimento neural nessa doença, sobretudo em contatos domiciliares assintomáticos, representa um grande desafio na prática clínica pois poucos centros de referências no Brasil dispõem de câmera termográfica infravermelha, eletroneuromiografia, testes sorológicos, moleculares e biópsia de nervo periférico que auxiliam na comprovação diagnóstica, sendo extremamente necessários pois muitas vezes o acometimento neural é subclínico.

Esta tese é a materialização dos ideais acima expostos, propondo a implantação da câmera termográfica infravermelha para avaliação do comprometimento de fibras autonômicas em doentes e contatos assintomáticos de hanseníase, detectando de forma precoce a disfunção autonômica periférica nesses grupos, visto que o *M. leprae* é um bacilo virulento, não por ser letal, mas por afetar os nervos periféricos causando deficiências, deformidades e estigmas sociais.

1.1- Considerações Iniciais

A formatação desta tese foi realizada de acordo com o modelo alternativo proposto pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, o qual determina que os resultados do estudo sejam apresentados em formato de artigos científicos.

A tese foi organizada nas seguintes seções: **Fundamentação Teórica**, a qual está apresentada como forma de revisão da literatura sobre os temas abordados; **Objetivos**, em que são expostos os propósitos do estudo; **Resultados**, que contempla dois manuscritos elaborados; **Conclusão**, que discorre sobre a síntese dos principais resultados do estudo; **Pós-texto**, na qual estão incluídos referências bibliográficas e anexos.

O primeiro manuscrito intitulado **“Evaluation of skin temperature in hands of leprosy patients detecting peripheral autonomic dysfunction by infrared thermography”** teve como objetivo analisar o potencial da termografia por infravermelho e detectar as alterações da temperatura superficial nas mãos de pacientes com hanseníase; pretende-se submetê-lo à revista *Plos Neglected Tropical Diseases* (fator de impacto: 4.48).

O segundo manuscrito intitulado **“Asymptomatic leprosy contacts present asymmetrical skin temperature in hands by infrared thermography”** teve como objetivo identificar a assimetria de temperatura em contatos assintomáticos soropositivos e soronegativos para ELISA anti-PGL-I com o uso da termografia infravermelha; pretende-se submetê-lo à revista *Clinical Infection Disease* (fator de impacto: 9.055).

2 - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 – Hanseníase

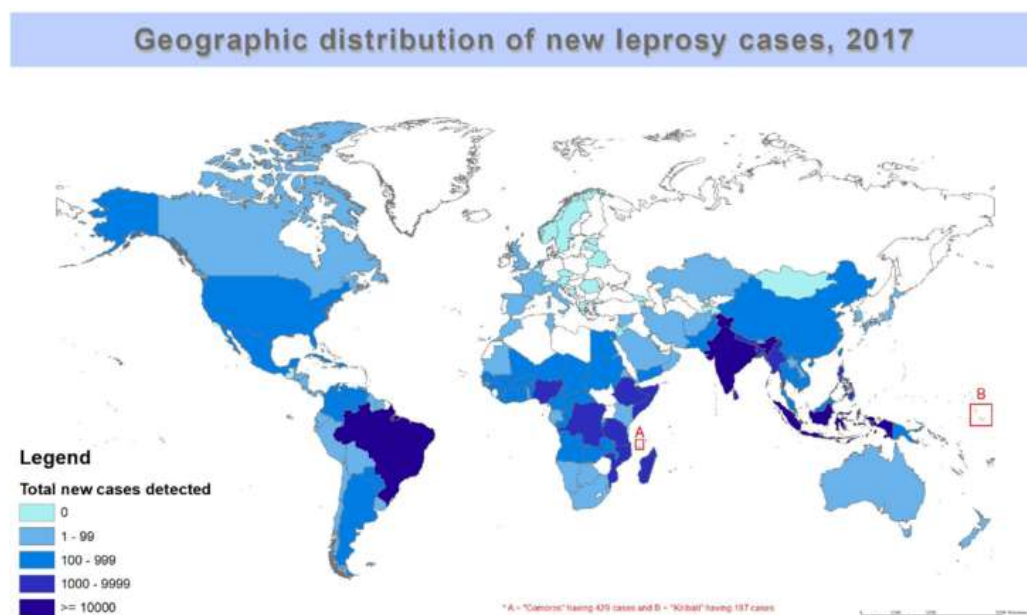
2.1.1 - Epidemiologia

A hanseníase é uma infecção crônica, causada pelo bacilo *Mycobacterium leprae*, que provoca uma gama de respostas imune celulares em humanos. Além disso, esta doença é uma neuropatia periférica iniciada por infecção e eventos imunológicos que a acompanham, sendo a infecção curável porém não evitável (SCOLLARD *et al.*, 2006).

Entre as doenças infecciosas, a hanseníase é considerada uma das principais causas de incapacidades físicas, em razão do seu potencial de causar lesões neurais (BRASIL, 2018). O alto poder incapacitante mantém a doença como um problema de saúde pública, especialmente nos países em desenvolvimento (SCOLLARD *et al.*, 2006; BRASIL, 2018). Cerca de 30% das pessoas com hanseníase desenvolvem danos nos nervos que resultam em um conjunto de distúrbios sensitivos, motores e autonômicos (REINAR *et al.*, 2013).

Em 2017, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), 150 países reportaram 210.671 casos novos de hanseníase, o que representa uma taxa de detecção de 2,7 casos por 100 mil habitantes (Figura 1), sendo a Índia, o Brasil e a Indonésia responsáveis por 80,2% de novos casos diagnosticados no mundo (WHO, 2018a).

Figura 1. Distribuição geográfica dos novos casos de hanseníase em 2017.



A prevalência global de hanseníase foi de 192.713 casos (0,25 / 10.000 habitantes) no final de 2017, um aumento de 20.765 casos em relação a 2016. O aumento foi observado em todas as regiões da OMS: 42,8% (9189 casos) na África, 19,5% (5162 casos) nas Américas, 42% (1303 casos) nos países que abrangem o Mediterrâneo Oriental, 3,4% (3875 casos) Sudeste Asiático e 20,9% (1220 casos) na região do Pacífico Ocidental. Os países europeus reportaram uma prevalência registrada de 32 casos no final de 2017, enquanto 33 novos casos foram relatados durante o ano (WHO, 2018a).

Em 2018 foram notificados 28.660 casos novos no Brasil, perfazendo uma taxa de detecção de 13,7/100 mil habitantes. Esses parâmetros classificam o país como de alta carga para a doença, sendo o segundo com o maior número de casos novos registrados no mundo (SAÚDE, 2017; WHO, 2017).

Em 2017, 12.189 casos com grau dois de incapacidade foram detectados no mundo durante diagnóstico, apresentando uma taxa de 1,6 casos para cada 1 milhão de habitantes (WHO, 2017). No Brasil, entre os anos de 2012 a 2016 essa taxa foi quase dez vezes maior, apresentando 10,5 casos diagnosticados com grau 2 de incapacidade para cada 1 milhão de pessoas (BRASIL, 2018). O número de casos com grau dois de incapacidade (deformidade visível nas mãos e/ou pés e/ou olhos) no momento do diagnóstico reflete a necessidade da detecção precoce pelo sistema de saúde e a conscientização da população sobre a hanseníase, pois esses pacientes já apresentam lesões neurológicas irreversíveis e/ou deformidades visíveis.

O Centro de Referência Nacional em Hanseníase e Dermatologia Sanitária (CREDESH), local onde esse estudo foi desenvolvido, notificou 232 casos de hanseníase no ano de 2018, sendo 56% (130/232) classificados como casos novos, o que representa uma taxa de detecção de 11,3/100 mil habitantes. Esse parâmetro é considerado como alta taxa de detecção indicando que a cidade de Uberlândia-MG está localizada em área endêmica. Em relação ao grau de incapacidade, o CREDESH registrou 12,9% dos casos novos com Grau 2 de incapacidade sendo considerado um parâmetro alto, com taxa de detecção de 1,46/100 mil habitantes.

No período de 2012 a 2016, 77% dos contatos dos casos novos de hanseníase diagnosticados no Brasil foram avaliados (BRASIL, 2018). Em dados atuais fornecido pelo CREDESH, 78,9% (255/323) contatos de casos novos com hanseníase foram examinados no ano de 2018. Além disso, foram registrados, no mesmo período 438 contatos sendo que desses 83,3% (365/438) foram examinados.

2.1.2 - Vias de transmissão do *Mycobacterium leprae*

A transmissão do *Mycobacterium leprae* acontece pelo contato de pessoas suscetíveis à doença com os doentes não tratados das formas multibacilares, indicando que essas pessoas apresentam risco 10 vezes maior de adoecer (GOULART *et al.*, 2008; ARAUJO *et al.*, 2015). Além disso, indivíduos assintomáticos portadores do *M. Leprae* também fazem parte da cadeia de transmissão da doença (PATROCINIO *et al.*, 2005). No entanto, o contato íntimo e prolongado com os indivíduos doentes pode gerar infecção nos contactantes intradomiciliares que apresentam risco de adoecer, merecendo uma atenção especial nos serviços de saúde pois podem também transmitir a doença (GOULART *et al.*, 2008; ARAÚJO *et al.*, 2012; GOULART *et al.*, 2015).

Estudo publicado por nosso grupo de pesquisa demonstrou a presença de DNA de *M. leprae* em amostras de concha e swab nasal por PCR em tempo real (qPCR) além de sorologia positiva para ELISA anti-PGL-I em pacientes e contatos de hanseníase, indicando que o nariz é a principal via de transmissão desse bacilo. A exposição do indivíduo leva à uma infecção da mucosa nasal provocando respostas imunes; se a colonização for bem sucedida, o bacilo é transportado pela corrente sanguínea e disseminado para locais que sejam favoráveis para o seu crescimento, como as células de *Schwann* (ARAUJO, S. *et al.*, 2016).

Embora o *M. leprae* possua capacidade de infectar um grande número de indivíduos (alta infectividade), poucos desenvolvem a doença (baixa patogenicidade) (DESIKAN e SREEVATSA, 1995). Estima-se que a maioria da população possua imunidade contra esse bacilo e devido a isso a maior parte das pessoas que entrarem em contato ele não adoecerão. Familiares de pessoas com hanseníase possuem maior chance de adoecer pois a susceptibilidade ao *M. leprae* possui influência genética (BRASIL, 2016).

Atuais estratégias para conter a transmissão dessa doença estão direcionadas para a busca ativa de casos e vigilância epidemiológica de contatos (domiciliar ou social). Como definição desses termos o Ministério da Saúde classifica o contato domiciliar como toda e qualquer pessoa que resida ou tenha residido com o doente de hanseníase, independente da classificação operacional e o tempo de convívio, e define o contato social como qualquer pessoa que conviva ou tenha convivido em relações familiares ou não, de forma próxima e prolongada com o doente não tratado (BRASIL, 2016).

A vigilância dos contatos, no entanto, facilita o diagnóstico precoce, contribui para a quebra da cadeia de transmissão e reduz a incidência de incapacidade e estigma relacionado à doença, decorrente do atraso no diagnóstico (ARAÚJO *et al.*, 2012; HACKER *et al.*, 2012; ARAUJO, SERGIO *et al.*, 2016). Consonante com a Estratégia Global para o Controle da Hanseníase (2016-2020) publicada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) que tem como objetivo reduzir a carga de hanseníase no âmbito global e local e é fundamentada em três pilares: fortalecimento do controle e da parceria governamental, combate da hanseníase e suas complicações e o enfrentamento da discriminação com promoção da inclusão social (WHO, 2016).

Cada pilar estabelecido abrange amplas áreas de intervenção: (1) ênfase na detecção precoce de casos antes do surgimento de incapacidades visíveis; (2) detecção mais rápida e redução do número pacientes com incapacidade de grau 2 por ocasião do diagnóstico; (3) exame de todos os contatos intradomiciliares; (4) promoção das etapas rumo ao uso de um esquema terapêutico uniforme e mais curto para todos os tipos de hanseníase e (5) incorporação de intervenções específicas contra o estigma e a discriminação das pessoas com hanseníase (WHO, 2016).

2.1.3 - Formas clínicas

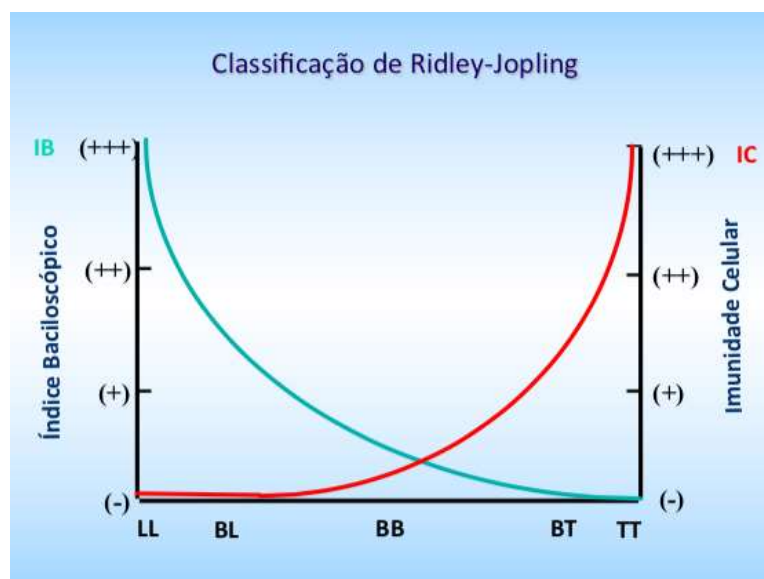
A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda a Classificação Operacional (CO) para fins de tratamento. Essa classificação divide os pacientes de uma forma simplificada em paucibacilares (PB), quando apresentam um número menor ou igual a 5 lesões cutâneas, e multibacilares (MB), quando apresentam mais de 5 lesões. Contudo, se o exame baciloscópico estiver disponível, os pacientes que apresentarem baciloscopia do esfregaço dérmico positiva são classificados como MB, independentemente do número de lesões cutâneas (WHO, 2007). No Brasil, o Ministério da Saúde adota a classificação operacional na classificação dos doentes (BRASIL, 2016).

Um outro critério para orientar a classificação clínica espectral da doença foi proposto na década de 60 por Ridley & Jopling (figura 1), que se baseia em aspectos clínicos, baciloscópios, imunológicos e histopatológicos. De acordo com isso, os pacientes com melhor resposta imunológica do tipo celular são classificados como tuberculóides (T), enquanto os pacientes anérgicos, com uma deficiência importante

na resposta imune celular são classificados como virchowianos (V) (RIDLEY e JOPLING, 1966).

Entre estes dois extremos, encontram-se os pacientes definidos como “borderline”, por apresentarem respostas imunológicas intermediárias, classificados como dimorfo-tuberculóides (DT), dimorfo-dimorfo (DD) ou dimorfo-virchowianos (DV). Essas formas clínicas podem sofrer alterações em um mesmo indivíduo, dependendo do seu estado imunológico em relação a própria doença (RIDLEY e JOPLING, 1966; GOULART *et al.*, 1996).

Figura 2. Classificação de Ridley & Jopling, 1966.



Fonte: <https://pt.slideshare.net/vlsboeira/hansenase-ladern>

A hanseníase indeterminada, apesar de não ter sido descrita por Ridley & Jopling, corresponde à fase inicial da doença em que não é possível determinar clinicamente em qual dos polos o paciente se encontra ou irá evoluir. Essa forma clínica é considerada a mais precoce da doença e, frequentemente, não é diagnosticada (THANGARAJ e YAWALKAR, 1988). Além disso, a hanseníase indeterminada é caracterizada pelo aparecimento de manchas hipocrômicas com limites imprecisos e alteração de sensibilidade, sendo observada alteração sensitiva térmica com preservação tátil e dolorosa. Ainda não há comprometimento de troncos neurais, apenas de ramúsculos nervosos cutâneos (OPROMOLLA e URA, 2002; ARAÚJO, 2003).

Na forma tuberculóide o paciente apresenta uma forte resposta imune celular. Clinicamente, as lesões se apresentam com bordas bem delimitadas, sendo única na maioria dos casos, com distúrbio de sensibilidade tátil, térmica e dolorosa,

frequentemente acompanhadas por um comprometimento neural, inclusive com formação de abscessos em casos mais graves (SOUZA, 1997; OPROMOLLA e URA, 2002).

As formas instáveis da hanseníase apresentam comprometimento cutâneo, neural e/ou sistêmico. Os pacientes DT apresentam lesões em placa com bordas pouco delimitadas e lesão neural assimétrica intensa. Os DD são caracterizados clinicamente pela presença de lesões com contornos irregulares, tonalidade ferruginosa em que o centro se apresenta plano, liso e circular; a borda da lesão é espessa de característica foveolar. Além disso, podem apresentar comprometimento neural intenso e extenso (SOUZA, 1997; OPROMOLLA e URA, 2002). No grupo DV, as lesões são numerosas, infiltradas e de coloração acastanhada. Adicionalmente, há presença de nódulos (hansenomas), poucas lesões neurais e presença de comprometimento visceral (SOUZA, 1997; OPROMOLLA e URA, 2002; ARAÚJO, 2003).

A manifestação da forma clínica virchowiana (V) é identificada pela pouca resistência à proliferação do *Mycobacterium leprae* o que torna o hospedeiro incapaz de apresentar uma resposta imune eficaz. O doente pode apresentar as seguintes características clínicas: infiltração cutânea difusa e progressiva, sendo mais acentuada na face e nos membros; comprometimento das mucosas das vias aéreas superiores, olhos, testículos, nervos, linfonodos, fígado e/ou baço; pele luzidia, xerótica, com tonalidade acobreada e aspecto apergaminhado; rarefação de pelos particularmente nos cílios e supercílios com ocorrência de madarose; comprometimento neural nos ramúsculos da pele, sistema vascular e troncos nervosos levando a deficiências funcionais e sequelas tardias; obstrução nasal, rinorréia serossanguinolenta; lesões periodontais; laringites (rouquidão); lesões osteoarticulares; e edemas de membros inferiores (OPROMOLLA e URA, 2002; ARAÚJO, 2003).

2.1.4 - Diagnóstico

O diagnóstico da hanseníase é prioritariamente clínico. A OMS recomenda que o diagnóstico de hanseníase seja baseado na presença de pelo menos um dos três sinais cardinais: (1) perda definitiva da sensibilidade em área hipopigmentada ou avermelhada da pele; (2) espessamento de nervo periférico com perda de sensibilidade e/ou fraqueza muscular; ou (3) presença de bacilos álcool-ácido

resistentes em esfregaço de raspado intradérmico (WHO, 2018b). Porém esses sinais nem sempre são aparentes o que pode contribuir para erros no diagnóstico ou para o subdiagnóstico (DUTHIE *et al.*, 2014).

O raspado intradérmico é coletado nos lóbulos auriculares, cotovelos e joelhos e o resultado do exame baciloscópico é fornecido após os protocolos laboratoriais realizados com a amostra. Quando nenhum bacilo é encontrado em cem campos na análise das lâminas, o resultado da baciloscopia é negativo, quando encontra-se mais de 10 bacilos o exame será positivo (SHEPARD e MCRAE, 1968).

No ano de 2018 a OMS publicou as diretrizes para o diagnóstico, tratamento e prevenção da hanseníase não recomendando testes adicionais, além dos métodos padrão supracitados, no diagnóstico da doença (WHO, 2018b). No entanto, estudos demonstram que o testes moleculares tem apresentado resultados favoráveis para a detecção do DNA do *Mycobacterium leprae* em amostras de pacientes diagnosticados e até mesmo em contatos domiciliares infectados pelo bacilo (PATROCINIO *et al.*, 2005; MARTINEZ *et al.*, 2011; ARAÚJO *et al.*, 2012; ARAUJO, SERGIO *et al.*, 2016; ARAUJO *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2018; BARBIERI *et al.*, 2019).

Outro exame laboratorial que pode contribuir para o diagnóstico da doença é o teste sorológico que utiliza o antígeno glicolípido fenólico I (PGL-I). Esse teste tem demonstrado resultados que contribuem com grandes avanços em pesquisas na hanseníase (DUTHIE *et al.*, 2007; GOULART e GOULART, 2008; DUTHIE *et al.*, 2014). A soropositividade em pacientes com hanseníase que apresentam classificação operacional MB é praticamente universal, o que ocorre ao contrário em pacientes PB, sendo a titulação dos anticorpos anti-PGL-I diretamente proporcional à carga bacilar (CHO *et al.*, 2001; LOBATO *et al.*, 2011; SPENCER; BRENNAN, 2011).

Além de detectar anticorpos em pacientes de hanseníase, os testes sorológicos anti-PGL-I detectam anticorpos específicos contra o *Mycobacterium leprae* em população sadia e em contatos domiciliares de pacientes com hanseníase (DOUGLAS *et al.*, 2004; MARTINEZ *et al.*, 2011; ARAÚJO *et al.*, 2012; ARAUJO *et al.*, 2015; ARAUJO, S. *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2018). Esses estudos indicam que os indivíduos que foram expostos ao bacilo apresentam uma resposta imune humoral com produção de anticorpos pelos linfócitos B, caracterizados como assintomáticos com infecção subclínica (LOBATO *et al.*, 2011).

Em relação a detecção de dano de nervos sensitivos, a avaliação da sensibilidade utilizando os monofilamentos de Semmes-Weinstein é um teste barato

e de fundamental importância no diagnóstico e tratamento de lesões dos nervos periféricos, permitindo uma intervenção precoce a fim de evitar uma perda progressiva e permanente no nervo (VAN BRAKEL *et al.*, 1996). Estudos demonstram que a avaliação sensitiva utilizando os monofilamentos é um método padrão para avaliar perda sensitiva, sendo essencial para a prevenção de incapacidades em pacientes hansenianos (VAN BRAKEL *et al.*, 1997; ANDERSON e CROFT, 1999; ROBERTS *et al.*, 2007; LEITE *et al.*, 2010). Esse exame é recomendado pelo Ministério da Saúde do Brasil e é de fácil aplicação, sendo necessário um ambiente silencioso para que não ocorra distração do paciente ao responder os estímulos do toque dos monofilamentos (LEHMAN *et al.*, 1997).

A eletroneuromiografia (ENMG) é um outro importante exame para detecção de disfunção neural pois fornece dados como a velocidade de condução de nervos sensitivos e motores auxiliando no diagnóstico da hanseníase. Essa disfunção pode ocorrer em todas as formas clínicas da doença e até mesmo antes do aparecimento dos sintomas (CHAURASIA *et al.*, 2011; GARBINO *et al.*, 2011; LOCKWOOD e SAUNDERSON, 2012; VITAL *et al.*, 2012; NASCIMENTO, 2013). Estudo realizado pelo nosso grupo de pesquisa em contatos soropositivos e soronegativos para anti-PGL-I demonstrou que 31,4% soropositivos e 14,1% com sorologia negativa apresentaram comprometimento neural detectado pela ENMG, o que indica que a hanseníase é uma doença primariamente neural (SANTOS *et al.*, 2018).

2.1.5 - Comprometimento Neural em Hanseníase

A apresentação neural da hanseníase é caracterizada por danos das fibras autonômicas, sensitivas e motoras dos nervos periféricos que pode resultar em sintomas como anidrose, dormência e fraqueza muscular quando não diagnosticados precocemente. O padrão clínico mais comum de lesão neural é caracterizado por mononeurite múltipla, com comprometimento nas células de Schwann mielinizadas e não mielinizadas (VAN BRAKEL, 2000; WILDER-SMITH e VAN BRAKEL, 2008; SCOLLARD *et al.*, 2015). As fibras finas mielinizadas A-beta e não mielinizadas tipo C são acometidas primeiramente em relação as fibras grossas mielinizadas A-delta. No entanto, já está descrito que perda da sensibilidade térmica precede o dano sensitivo (VAN BRAKEL *et al.*, 2005; MANZANO *et al.*, 2008). O acometimento neural pode ocorrer devido ao efeito direto da infecção pelo *Mycobacterium leprae* (Ex: dano aos neurofilamentos e desmielinização por contato), mecanismos decorrentes de

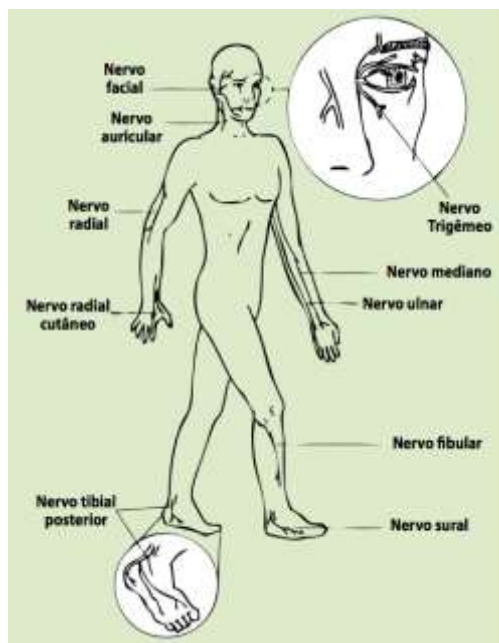
processos inflamatórios imunomediados (Ex.: citotoxicidade, ativação de linfócitos T) e também por edema e processos mecânicos que pode levar a um comprometimento isquêmico de troncos nervosos (VAN BRAKEL *et al.*, 2007).

O comprometimento do sistema nervoso periférico nessa doença é baseado em dois conceitos: infecção das células de Schwann e presença de inflamação perineural. Após a entrada do *Mycobacterium leprae* no organismo humano pelas vias respiratórias, há um tropismo desse bacilo pelos macrófagos e células de Schwann, levando a uma infecção destes tipos celulares. Com isso, o *M. leprae* infecta os nervos invadindo sobretudo o compartimento endoneural (SCOLLARD, 2008).

A invasão do bacilo nas células de Schwann pode ser atribuída a sua afinidade pelo domínio G da laminina $\alpha 2$, uma proteína de matriz celular que está presente na lâmina basal dessas células. A partir disso, o complexo *M. leprae*/laminina $\alpha 2$ liga-se a complexos de destroglicano, associando-se a molécula α -dístroglicana, enquanto a β -dístroglicana conecta-se com a distrofina, uma proteína intracelular associada à actina, formando um complexo constituído pela laminina, α -dístroglicana, β -dístroglicana e distrofina. É importante ressaltar também a existência de moléculas presentes no próprio bacilo responsáveis pela sua ligação com a laminina $\alpha 2$, tais como a proteína de ligação do *M. leprae* à laminina ML-LBP2 e o glicolípido fenólico espécie-específico (PGL-1), responsáveis por mediar o processo de invasão do bacilo (MATSUMURA *et al.*, 1997; FREEDMAN *et al.*, 1999; RAMBUKKANA, 2001; SCOLLARD *et al.*, 2015)

Os nervos periféricos mais acometidos na hanseníase estão localizados superficialmente, sobretudo em regiões frias do corpo (região anterior do joelho, posterior do cotovelo e face) e sujeitas a traumatismos (Figura 2). Estes locais mais frios são adequados para a proliferação do *M. leprae*, cujo crescimento é extremamente influenciado pela temperatura corporal, com uma maior proliferação do patógeno em temperaturas em torno de 27 a 30 graus Celsius ($^{\circ}\text{C}$) (AGRAWAL *et al.*, 2005).

Figura 3. Principais nervos acometidos



Fonte: Guia de prevenção de incapacidade (Ministério da Saúde)

Entre os pacientes que não apresentam manifestações cutâneas da hanseníase, apresentam múltiplos acometimentos nervosos de forma assimétrica, sendo o nervo ulnar o mais envolvido, seguido pelo nervo tibial posterior. (MENDIRATTA *et al.*, 2006). Aproximadamente 10% dos pacientes paucibacilares e 40% dos multibacilares apresentam comprometimento neural periférico clínico detectável. Entretanto, no comprometimento neural subclínico, que pode ocorrer em muitos pacientes com hanseníase, 30% das fibras nervosas precisam ser destruídas antes que as alterações sensitivas se tornem detectáveis (VAN BRAKEL e KHAWAS, 1994; SCOLLARD *et al.*, 2015)

Em relação às diferentes formas clínicas o comprometimento dos nervos periféricos ocorre de forma mais leve na forma tuberculóide com poucos nervos alterados e hipostesia dolorosa e térmica em áreas do corpo com temperatura inferior a temperatura central do paciente. No entanto, com a progressão da doença a resposta inflamatória mediada por linfócitos T pode levar a lesão neural caracterizada com o acometimento de nervos de maior calibre, como os nervos mistos (compostos de fibras sensitivas e motoras) subjacentes à lesão de pele e/ou dos ramos nervosos intradérmicos (SABIN *et al.*, 2005).

Em contatos assintomáticos, ainda não está claro a associação da exposição ao *M. leprae* ao início do comprometimento neural subclínico. Apesar disso há evidências de que danos iniciais ocorrem em fibras nervosas não mielinizadas (SHETTY *et al.*, 1977; SHETTY *et al.*, 1978; SHETTY *et al.*, 1988). Esse danos foram evidenciados por reflexos vasomotores anormais e avaliação do fluxo sanguíneo por *laser Doppler* em contatos domiciliares assintomáticos demonstrando disfunção no sistema nervoso autonômico periférico nesse grupo (WILDER-SMITH e WILDER-SMITH, 1996; WILDER-SMITH *et al.*, 1997).

Na neuropatia hansênica ocorre tanto o comprometimento neural de troncos nervosos como de ramos cutaneous distais. As queixas iniciais mais prevalentes são os sintomas sensitivos (NASCIMENTO, 2013). Além de alteração da sensibilidade, há disfunção autonômica periférica em pacientes com neuropatia hansênica, caracterizada por diminuição de temperatura em mãos consequente a diminuição do fluxo sanguíneo nessa área (ABBOT *et al.* 1992; SHETTY *et al.* 1988; WILDER-SMITH *et al.*, 1996).

As manifestações clínicas neurais na hanseníase são determinadas pela imunidade inata do hospedeiro ao *M. leprae*. Aproximadamente 95% dos adultos têm imunidade nativa ao *M. leprae* e não se infectarão mesmo com exposição substancial (SCOLLARD, 2000). No entanto, a presença de uma resposta imune celular adequada pode ser benéfica, pois promove mecanismos capazes de destruir o bacilo. Porém, o quadro inflamatório que acompanha a infecção dos nervos periféricos pode resultar em danos graves e irreversíveis nos pacientes acometidos (SCOLLARD, 2008; SCOLLARD *et al.*, 2015).

A hanseníase deve ser considerada como uma doença primariamente neural, reforçando a necessidade do diagnóstico e tratamento precoce a fim de evitar o comprometimento neural periférico que constitui a principal causa de sequelas e incapacidades nessa doença. Apesar disso, ainda há muita dificuldade no reconhecimento do comprometimento neural pelos profissionais de saúde, pois para muitos a hanseníase continua sendo uma doença dermatológica, já que as manifestações cutâneas são mais conhecidas e mais facilmente reconhecidas na prática clínica (VAN BRAKEL, 2000; WILDER-SMITH e VAN BRAKEL, 2008; SANTOS *et al.*, 2018).

2.1.6 - Tratamento

A OMS estabeleceu em 1988 os critérios para o tratamento ambulatorial da hanseníase por meio de esquemas terapêuticos padronizados de acordo com a classificação operacional do paciente. A Poliquimioterapia (PQT) padrão consiste na associação de 3 medicações conhecidas como Rifampicina, Dapsona e Clofazimina que serão fornecidas ao paciente já na primeira consulta, após definição do diagnóstico (BRASIL, 2017)

Os pacientes PBs são tratados com regime de 6 cartelas (6 meses), sendo uma dose mensal supervisionada de 600 mg de Rifampicina e 100 mg de Dapsona diariamente (em casa). O tempo de tratamento é de 6 meses (6 cartelas). Caso precise suspender a Dapsona, essa deverá ser substituída pela Clofazimina 50 mg por dia, e o paciente a tomará também 300 mg uma vez por mês na dose supervisionada. Em relação ao paciente MB, receberá no ambulatório uma dose mensal supervisionada de 600 mg de Rifampicina, 100 mg de Dapsona e de 300 mg de Clofazimina. Em casa, o paciente tomará diariamente 100 mg de Dapsona e 50 mg de Clofazimina por 12 meses (12 cartelas). A Dapsona deverá ser substituída pelo Ofloxacino 400 mg (na dose supervisionada e diariamente) ou pela Minociclina 100 mg (na dose supervisionada e diariamente) se for necessário. Na sexta dose para o paciente PB e na décima segunda dose para o MB, todos devem ser submetidos ao exame dermatológico, avaliação neurológica, do grau de incapacidade física e receber alta por cura de acordo com os resultados dos exames.

2.2 - Termografia por infravermelho (IR)

Desde 400 aC há relatos demonstrando a relação entre a temperatura corporal e as alterações fisiológicas no tratamento de doenças. Em 1950, pesquisadores começaram a apresentar estudos biomédicos envolvendo avaliações de imagens termográficas (JIANG *et al.*, 2005). Nesse período, mais precisamente no ano de 1956, foi publicado pela primeira vez um estudo utilizando a termografia na área médica, em que verificou-se aumento de temperatura de uma mama com câncer em relação a tecidos normais (LAWSON, 1956).

A partir disso, três tipos de técnicas para medição de infravermelho foram utilizadas: termografia por cristal líquido, termografia por microondas, e termografia infravermelha, sendo essa última a mais aceita e utilizada na atualidade (NIEHOF, 2007). Portanto, a termografia infravermelha (*InfraRed Thermography - IR*) é um exame

que permite a análise das alterações de temperatura na superfície do corpo, captando a radiação infravermelha emitida pela superfície do corpo humano e gerando uma imagem termográfica para posterior análise (SANCHES, 2009).

Essa técnica oferece um meio não invasivo, sem radiação ionizante e indolor para avaliar a emissão de calor de dermatomas cutâneos do corpo por detecção de radiação infravermelha (HILDEBRANDT *et al.*, 2010) e tem sido apresentada como uma alternativa viável no diagnóstico de doenças vasculares (SOULEN *et al.*, 1972), inflamações (ANBAR, 1998), detecção de comprometimento neural (HERRICK e HERRICK, 1987), tumores (LEVY *et al.*, 2010), alterações metabólicas (SOULEN *et al.*, 1972), dentre outros. Avanços recentes indicaram que a sensibilidade da técnica é capaz de detectar mudanças minúsculas relacionadas a temperatura corporal ocasionadas por mudanças no fluxo sanguíneo periférico em diferentes áreas da medicina (TATTERSALL, 2016)

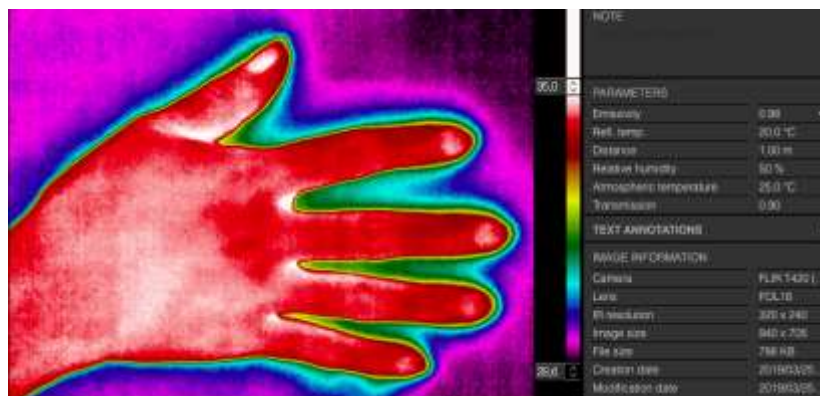
Há evidências de que o sistema nervoso autônomo é o principal regulador da circulação sanguínea na pele, atuando também como regulador da radiação térmica (CHARKOUDIAN, NISHA, 2003). A radiação é variável de acordo com a temperatura da superfície corporal que, por sua vez, é influenciada pelo nível de perfusão sanguínea na pele. A imagem térmica infravermelha é adequada para detectar aumento da perfusão sanguínea que pode ocorrer devido a processos inflamatórios, angiogênese ou outras causas, levando ao aumento na temperatura. Enquanto que a degeneração, a redução da atividade muscular devido a fraca perfusão pode ser apresentada por diminuição da temperatura (SCHAEFER *et al.*, 2009; HILDEBRANDT *et al.*, 2010).

As câmeras que captam as imagens por termografia infravermelha estão cada vez mais modernas, o que permite a obtenção de imagem de alta resolução. São capazes de distinguir diferenças de temperatura menores que 0,07°C em menos de 0,01 segundo, isto é, 30 vezes mais do que a capacidade normal humana. Além disso, os programas utilizados nas análises das imagens estão mais sofisticados permitindo avaliações funcionais com subtração de imagens, fusão com imagens de ressonância magnética e até mesmo reconstrução tridimensional (BRIOSCHI *et al.*, 2002).

O mecanismo de captação da imagem termográfica ocorre com a conversão da radiação térmica captada pelo sensor e convertida em um sinal elétrico, em seguida é transformada em uma imagem colorida que pode ser visualizada em tempo real no

monitor da câmera termográfica. As imagens são acompanhadas por uma paleta de cores indicando que as regiões mais aquecidas apresentam cores branca e vermelha, e as áreas mais frias, cores azul e negro. A avaliação pode ser quantitativa, representada pelo valor e/ou pela diferença de temperatura entre áreas denominadas regiões de interesse (ROI), ou qualitativa, descrevendo o padrão de distribuição de temperatura cutânea em determinada região, denominado de mapa térmico (Figura 4) (BRIOSCHI, 2011).

Figura 4: Mapa térmico com paletas de cores representativa.



Fonte: acervo próprio

O uso da termografia infravermelha na identificação e avaliação de disfunções é baseado principalmente na presença de assimetrias de temperaturas entre a área inervada envolvida e a correspondente no lado oposto do corpo, uma vez que o sistema nervoso que controla a termorregulação é anatomicamente e fisiologicamente simétrico (UEMATSU *et al.*, 1988; BRIOSCHI, 2011).

Uma temperatura assimétrica anormal é definida com valor de ΔT para cada área específica do corpo, ao invés de usar um único valor para comparações (UEMATSU *et al.*, 1988; GATT *et al.*, 2015). Essa anormalidade pode variar em diferentes condições patológicas que desencadeiam respostas motoras variadas. Portanto, em certos casos clínicos, um valor de ΔT menor que 1 °C pode ser significativo (UEMATSU *et al.*, 1988). É importante ressaltar que esse valor ainda não está bem definido para algumas doenças, entre elas a hanseníase.

A termografia utilizada na pesquisa científica e na prática clínica requer procedimentos padronizados na obtenção de imagens confiáveis. O tempo necessário para a aclimatização e a temperatura do ambiente são fatores importantes na captura

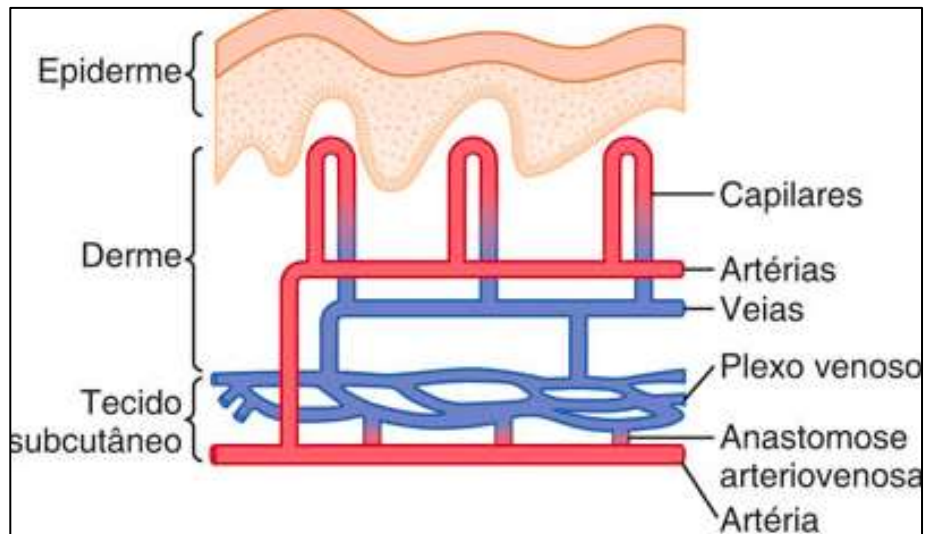
das imagens pois isso estabilizará a pressão sanguínea e a temperatura da pele do paciente. O tempo de aclimatização recomendado varia entre os estudos, com períodos de 10 minutos (ROY *et al.*, 2006), 15 minutos (ZONTAK *et al.*, 1998; SCHWARTZ *et al.*, 2006) e 20 minutos (SCHWARTZ *et al.*, 2006; MERLA *et al.*, 2010) sugeridos para o paciente permanecer em repouso em uma sala com temperatura e umidade controlada (SCHWARTZ *et al.*, 2006). No entanto, quando a aclimatização excede 30 minutos pode ocorrer oscilação de temperatura, levando a uma assimetria entre o lado direito e esquerdo do indivíduo (RING e AMMER, 2000).

Apesar da termografia infravermelha ser uma técnica bem estabelecida em algumas áreas como engenharia e medicina, ela ainda é pouca estudada. Devido a isso é necessário o desenvolvimento de trabalhos científicos que associem as análises das imagens termográficas com os fenômenos fisiopatológicos do sistema nervoso autônomo, além da criação de protocolos com padronização metodológica dessas imagens em qualquer região do corpo humano, resultando em maior confiança no uso da técnica que apresenta um método barato e rápido para diagnóstico, prognóstico e monitorização de doenças (VARGAS *et al.*, 2009)

2.3 - Temperatura cutânea

A pele é o maior órgão sensorial do nosso corpo, e contribui para a homeostase, detectando distúrbios térmicos e desencadeando respostas de defesa (ROMANOVSKY, 2014). Sua camada superficial contém capilares e terminações nervosas. Com a elevada presença dos capilares sanguíneos, o fluxo de sangue na pele pode ser muito superior às exigências nutricionais, contribuindo para a termorregulação. Existem também numerosas anastomoses artério-venosas (AVAs) que permitem ao sangue contornar capilares conservando deste modo o calor (Figura 3) (JEMATSU *et al.*, 1988; CHARKOUDIAN, N., 2003).

Figura 5. Fluxo sanguíneo na pele.



Fonte: Fisiologia da termorregulação normal – Revista de Neurociências

O fluxo sanguíneo da pele em humanos pode aumentar em resposta ao estresse térmico promovendo vasodilatação ou vasoconstricção. A vasodilatação e consequentemente o aumento do fluxo sanguíneo da pele (em conjunto com a transpiração) são essenciais para dissipação de calor durante a exposição ao calor e/ou exercício físico. O que difere da exposição ao frio, em que ocorre diminuição do fluxo sanguíneo da pele devido a vasoconstricção diminuindo com isso a perda de calor (CHARKOUDIAN, NISHA, 2003).

A medida da temperatura cutânea resulta da distribuição circulatória de calor, influenciada pelo fluxo sanguíneo e atividade motora dos vasos controlada por impulsos gerados pelos nervos autonômicos. Com isso, essa medida é importante no diagnóstico de doenças pois a alteração do fluxo sanguíneo apresenta implicações clínicas importantes (CHARKOUDIAN, NISHA, 2003).

No entanto, a temperatura cutânea é importante no diagnóstico de doenças pois o controle alterado do fluxo sanguíneo apresenta implicações clínicas importantes. Além disso, sua medida resulta da distribuição circulatória de calor, influenciada pela atividade motora. A fisiologia e anatomia do suprimento vascular da pele apresentam um padrão simétrico de distribuição de temperatura típico em indivíduos saudáveis e quando há um desvio deste padrão, caracterizado por assimetria, pode estar acontecendo algum quadro patológico caracterizado por

disfunção do nervo autonômico periférico (UEMATSU *et al.*, 1988; WILDER-SMITH *et al.*, 1996; WILDER-SMITH e VAN BRAKEL, 2008; BRIOSCHI, 2011).

No nosso melhor conhecimento, até o momento nenhum estudo com avaliação por termografia infravermelha mostrou a redução de temperatura em mãos com padrão assimétrico em contatos assintomáticos de pacientes com hanseníase. Além disso, alguns estudos apresentam redução de temperatura em mãos de doentes portadores de *M.leprae* porém o padrão assimétrico avaliado por termografia infravermelha será apresentado pela primeira vez nesse trabalho. Considerando que a disfunção autonômica periférica é muitas vezes subclínica, a detecção precoce desse acometimento neural é de fundamental importância tanto em contatos como em doentes de hanseníase afim de evitar comprometimentos neurais mais severos diagnosticados tardiamente.

3 - OBJETIVOS

3.1 - Objetivo Geral

Avaliar a diminuição e a assimetria de temperatura da pele em mãos de pacientes com hanseníase e contatos assintomáticos por termografia infravermelha detectando disfunção autonômica periférica.

3.2 - Objetivos Específicos

- Demonstrar as chances de detecção de comprometimento neural em pacientes com hanseníase comparando termografia com avaliação sensitiva e avaliação motora (Artigo 1).
- Demonstrar as chances de detecção de comprometimento neural em contatos de pacientes com hanseníase comparando termografia com eletroneuromiografia e avaliação sensitiva (Artigo 2).

4 - RESULTADOS

Artigo 1

Evaluation of skin temperature in hands of leprosy patients detecting peripheral autonomic dysfunction by infrared thermography.

Esse artigo será submetido na revista Plos Neglected Tropical Diseases

Fator de impacto: 4.48

Evaluation of skin temperature in hands of leprosy patients detecting peripheral autonomic dysfunction by infrared thermography

Elaine Fávaro Pípi Sabino¹, Diogo Fernandes dos Santos¹, Douglas Eulálio Antunes¹, Maria Aparecida Gonçalves¹, Adeílson Vieira da Costa¹, Isabela Maria Bernardes Goulart^{1,2}

¹ CREDESH, National Reference Center for Sanitary Dermatology and Leprosy, Clinics' Hospital, School of Medicine, Federal University of Uberlandia (UFU), Uberlandia, MG, Brazil.

² Graduate Program in Health Sciences, School of Medicine, Federal University of Uberlandia (UFU), Uberlandia, MG, Brazil.

Keywords: *Mycobacterium leprae*, peripheral neuropathy, thermography, microcirculation.

Correspondence to: Prof. Dra. Isabela Maria Bernardes Goulart, National Reference Center of Sanitary Dermatology and Leprosy, Clinics' Hospital, School of Medicine, Federal University of Uberlandia (UFU), Uberlandia, MG, Brazil. Rua Capricórnio, 94 Jardim Brasília, CEP 38401404, Uberlândia, MG, Brazil. Phone: +55 34 3229-1311 or +55 34 32391312.

E-mail: imbgoulart@gmail.com

Abstract

Background. Leprosy affects firstly thin myelinated A-delta type fibers and thin unmyelinated C type fibers than thick myelinated nerve fibers. Besides, it was described that the loss of thermal sensibility precedes reduced tactile sensibility. Thermography has been used to detect skin temperature in several physiological and pathophysiological conditions, however, applications in leprosy are just beginning to emerge. Therefore, the objective of this study was to analyze the potential of thermography to detect changes in skin temperature of hands in leprosy patients.

Methods. In this cross-sectional study, 22 healthy subjects and 48 leprosy patients - 16 borderline tuberculoid (BT), 10 mid-borderline (BB), 10 borderline lepromatous (BL) and 12 lepromatous (LL) patients were recruited in a leprosy national reference center in Brazil. During 2016 to 2018, the patients were diagnosed based on clinical and laboratory tests. Infrared (IR) thermography was used to measure skin temperature at ten sites in each hand under resting condition in a controlled temperature room. Besides that, we evaluated sensory loss by Semmes Weinstein Monofilament and muscle strength by voluntary muscle testing. All data were analyzed with GraphPad Prism 7.0.

Results/Principal findings: The presence of 3 or more points with asymmetry in the interest regions (ROIs) was not observed in healthy subjects. However, the presence of 3 or more ROIs with temperature asymmetry was observed in 25.0% (12/48) of leprosy patients, being 18.7% (03/16) of BT, 40.0% (04/10) of BB, 20% (02/10) of BL and 25.0% (03/12) of LL, this one presented 19-fold greater chances to develop temperature asymmetry than healthy subjects (OR=19; CI_{95%} 3.18 to 113.3; p<0.001). BT patients conferred 25-fold chance of developing autonomic neural impairment than sensory and motor impairment.

Conclusion: This study presented a potential benefit to use IR thermography to evaluate asymmetry of skin temperature in hands, detecting early peripheral autonomy dysfunction in leprosy patients.

Introduction

Mycobacterium leprae is a bacillus that affects peripheral somatic and autonomic system. The latter appears to be the focus of initial nerve damage as the small autonomic fibers may be more vulnerable to *M. leprae* (1, 2). Leprosy affects neurons producing enlargement, autonomic dysfunction, sensory loss and motor weakness (2-7).

Leprosy continues to persist a public health issue in developing countries in endemic areas (8), such as Brazil, which is the second country worldwide in incidence (9). Prompt diagnosis during the incipient stages is imperative to avoid leprosy complications (10).

Leprosy affects firstly thin myelinated A-delta type fibers and thin unmyelinated C type fibers than thick myelinated nerve fibers. Besides, it was described that the loss of thermal sensibility precedes reduced tactile sensibility (11, 12). In early skin lesions in leprosy, temperature or pain may be impaired, while touch sensibility is preserved. However, in more advanced stages of the disease, all forms of sensibility are impaired (13).

The analysis of skin temperature was demonstrated in hands of leprosy patients using a stress cold measurement and LASER doppler flowmetry (14-16). However, both analyzes are difficult to apply to public health services due to the high costs of the devices and the long time for application. Besides, a classical study of Abbot and co-workers (1992) demonstrated cold fingers and lower blood flow in leprosy patients, suggesting impairment of vasomotor control in hands.

Actually, IR thermography may detected radiation from the surface of the body and it is correlated with changes in temperature caused by peripheral circulation (17, 18). Thereby the IR makes possible evaluate skin temperature with high accuracy non-invasively (19). Studies have reported that radiation thermal imaging has been used to study diseases that modify skin temperature due the increase or decrease blood flow on clinical abnormality (18, 20). A study conducted by our group using IR Thermography showed a decrease in temperature in the

hand of leprosy patients, with loss sensibility by Semmes Weinstein monofilament, when compared to healthy subjects. The temperature in hands of patients and controls were 32.6°C and 34.4°C, respectively, demonstrating 1.8°C of temperature difference when compared both groups (21).

It is important to emphasize that the subclinical autonomic nerve impairment in leprosy patients has not yet been well established and this study analyzed the use of IR thermography in leprosy patients. Here, we tested the hypothesis that peripheral autonomic nerve dysfunction of hands can be detected by IR thermography in leprosy patients. Our goal was to analyze the potential of infrared thermography to evaluate decrease and asymmetry of skin temperature in hands detecting peripheral autonomic dysfunction in leprosy patients.

Methods

Ethics statement

The Ethics Committee of the Federal University of Uberlandia approved the study (CAAE: 82089317.8.0000.5152). Written informed consent was obtained from all participants.

Subjects

This is a cross sectional study that measured the hands skin temperature in a convenience sample of 70 subjects with 18 to 70 years old and both genders, divided in Healthy (n=22): subjects without leprosy and without contact of leprosy patients; and multibacillary leprosy patients (n=48) subdivided in according with clinical form: Borderline tuberculoid (BT) (n=16), Mid-borderline (BB) (n=10), borderline lepromatous (BL) (n=10) and lepromatous leprosy (LL) (n=12) (see Supplementary figure 1). All leprosy patients were under treatment with multidrug therapy. During 2017 to 2018, a committee of leprosy experts based on clinical and laboratory tests at National Reference Center for Sanitary Dermatology and Leprosy (CREDESH) diagnosed leprosy patients and then they were evaluated by protocols

described above. CREDESH is a public health unit with a multi-professional staff and routinely works on leprosy prevention.

We excluded individuals who presented other comorbidities, such as: cardiopulmonary diseases, chronic alcoholism, diabetes mellitus, thyroid disease, hormonal dysfunctions, malnutrition, hereditary neuropathy, hepatitis B or C, HIV, autoimmune diseases, women in menstrual period and people who use medications for depression and anxiety.

Laboratory analyses

ELISA anti-PGL-I IgM serology: Serology ELISA was used to detect circulating immunoglobulin M antibodies against the *Mycobacterium leprae*-derived PGL-I antigen (obtained from BEI Resources) on all leprosy patients. Results for the antibody titers measured by optical density (OD) at 492 nm were converted into an ELISA index (EI) considering positive threshold $EI \geq 1.0$, as described previously (23).

Bacillary Index (BI): The protocol to collected slit-skin smears was described elsewhere (24). Slit-skin smears from six sites were performed in two ear lobes, both elbows and two knees were evaluated for the presence of acid-fast bacilli (AFB) with optical microscopy using Ziehl-Neelsen staining. The samples with observed AFB were considered positive

DNA Extraction and Real Time Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR): The protocols to collected slit-skin smears and skin biopsy samples were previous described (24) and were used to DNA extraction. We used qPCR primer/probe assay to detect *M. leprae* DNA (25) to target the *M. leprae* species-specific genomic element of dispersed repeat (RLEP) (ABI 7300 real time PCR system; Applied Biosystem). The same qPCR assay was used to evaluate slit-skin smear and skin biopsy from the multibacillary patients. The sensitivity and lower limit of detection per qPCR reaction was determined in previous study (26). The qPCR instrument software was used to quantify the samples, using interpolation from the standard curve to yield the number of bacilli per reaction.

Monofilaments Sensory Test

The sensory evaluation was performed with Semmes-Weinstein monofilament (SWM), representing six different force of 0.05g (green), 0.2g (blue), 2g (purple), 4g (red), 10g (orange) and 300g (magenta) that were applied to the skin. In a quiet room, the procedure was explained to leprosy patients, asking them not to look but to verbally respond when they felt that they were being touched. They closed their eyes and turn their head away. The test began with lightest filament (0,05g) on the six palmar surface areas (ulnar nerve supply: distal and proximal phalanges of little finger and hypothenar eminence; median nerve supply: distal and proximal phalanges of index finger and proximal phalanx of thumb) and one area on dorsal (radial nerve supply) of each hand. Normal reference value is 0.05g (green) for the hands (27).

Voluntary muscle test (VMT)

Standard procedures were used for VMT testing of ulnar, median and radial nerves, namely little finger abduction (hypothenar muscles), thumb abduction (radial thenar muscles) and wrist extension (wrist extensors). We used the 0 – 5 scale described by Brandsma coded in the range 5 (normal strength) to 0 (paralyzed). The test is performed by checking the ability of the patient to move a body part to a given position and to hold that position against resistance applied by the tester. A nerve scoring lower than 5 is considered impaired (28)

Functional disability

The level of functional disability was evaluated, according to the recommended protocol of the Ministry of Health (29), which evaluates the neural function integrity and the degree of physical disability, through voluntary muscle testing and sensory evaluation of the hands.

When there is no neural involvement, patients are classified as disability grade zero (DG=0), disability grade 1 (DG=1) occurs when there is a decrease or loss of sensitivity in the eyes, hands, and feet, and DG=2 when there are more serious injuries in the eyes, hands, and feet (29).

Infrared Thermography

The study used FLIR® T420 IR camera (FLIR Systems, Inc., Täby, Sweden) with an image resolution of 240×320 pixels, thermal sensitivity of < 0.045°C to 30 °C and spectral emissivity was set to 0.98. The procedures was realized based on guidelines to neuromusculoskeletal IR medical thermography of the American Academy of Thermology (30). As, recommended, body temperature was measured in degrees Celsius (°C) using a thermometer. The IR images were obtained from the palmar and dorsal region of healthy subjects and leprosy patients.

The hands temperature measurements were captured in a room with an ambient temperature of 23 ± 1 °C and thermal losses due to forced convection of air directly on the volunteer were prevented. The relative humidity of air did not exceed 60% and cold lights (fluorescent bulbs) were used. The windows were fitted with outside screens to prevent sunlight entering the room and the air conditioner had sufficient thermal capacity for the size of the room.

All subjects were instructed not to use any type of moisturizer or cream in the six hours and not performing vigorous physical exercise in the 24 hours preceding the measurements. In addition, nicotine and caffeine products should be discontinued at least 4 hours prior to imaging.

The IR camera was switched on 30 min before measurements began. The distance between the subjects and the camera was 0.71 m. Before the measurements were obtained, each participant rested for at least 15 min to acclimatize to the temperature of the room. For the image capture, all subjects were requested to sit on a chair and their hands were put on a styrofoam base. They were instructed not to palpate, press, rub or scratch the skin at any time and relax the muscles, until the examination was concluded.

Interpretation of IR thermographic images

After obtaining all the IR thermographic images, they were saved in JPEG (Joint Photographic Experts Group) format. In this study, 280 images (four per subjects) of right and

left hands (palm/back) were evaluated in the FLIR Tools® version 2.1 program (FLIR Systems© Inc.). This software showed values of maximum, average and minimum temperature. We choose the minimum temperature because some studies showed neural impairment in unmyelinated nerve fibers of leprosy patients indicating decreased of blood flow (2, 15, 16, 31, 32), which can be detected in lower areas by high-resolution IR thermography.

The values of hands temperature, in degree Celcius (°C), and the standard deviation were calculated using the pixel values within each ROI. Besides that, we calculated the difference between hands temperature for each ROI from one side to the contralateral side ($\Delta T = T_{\text{right hand}} - T_{\text{left hand}}$).

Ten regions of interest (ROIs), nine on the palm and one on the back of the right and left hand, as illustrated in Figure 1, were used to measure the skin surface temperature. Of nine ROIs on the palm, one was placed on the distal phalanges and one on proximal phalanges of thumb, index and middle finger, one on proximal phalanx of ring and little finger and one the carpometacarpal (CMC) area. Of ROI on the back, we considered one region carpometacarpal (CMC). The CMC area was defined as part of the hand between the wrist (styloid process of ulna) and the base of the fingers (metacarpophalangeal joints). The ROIs on the CMC region had a size of approximately 6.400 pixels and were positioned at the same part of palmar and dorsal side. On the distal and proximal phalanges, the ROIs had a size of approximately 200 pixels. The proximal ROIs were placed between the metacarpophalangeal joints and the proximal interphalangeal joints. The distal ROIs were positioned between the fingertip and the distal interphalangeal joint.

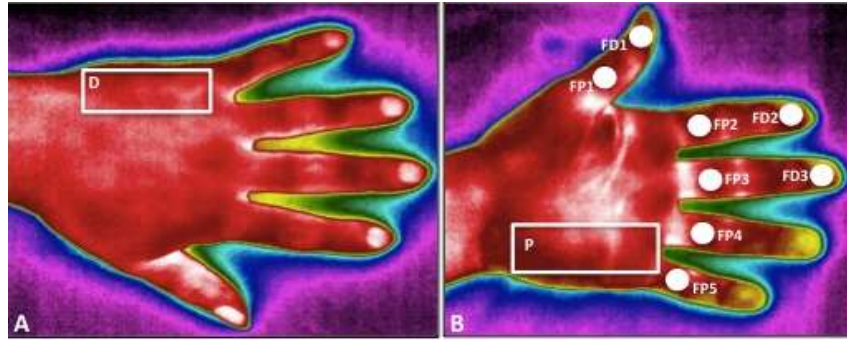


Figura 1. (A) Thermogram with one ROI on the dorsal side and (B) nine ROIs on the p side of the hand: D: dorsal, P: palmar, FP: proximal phalanx and FD: distal phalanx.

We established a threshold to ΔT value considering the average plus two standard deviation based on healthy group for each ROI. After that, we considered an asymmetric point when the temperature of each ROI analyzed was greater or equal to specific threshold for each ROI.

Before we set the regions of interest (ROIs) for this study, we conducted a pilot study with 14 ROIs and we observed that four points presented similar values of ΔT between studied groups e higher standard deviation, demonstrating that these areas are unstable for all subjects.

Statistical analysis

All data were analyzed with GraphPad Prism 7.0. The Shapiro Wilk test was used to test the data normality. For continuous variables, the mean with standard deviation (SD) is presented when normally distributed. In case of a skewed distribution, the median with interquartile range (IQR) is presented. For assessing statistical significance, the ANOVA test and Mann Whitney U-test were used. The statistical significance was determined at a p-value of 0.05. The measure of association adopted was the ODDS RATIO (OR).

Results

Comparisons of age between health (40.6 ± 11.6) and BT (39.1 ± 9.9), BB (53.2 ± 9.5), BL (50.8 ± 18.4) and LL (51.2 ± 13.0) did not show any significant difference ($p > 0.05$). Similar with age, the body temperature did not present significant difference when compared healthy (35.8 ± 0.24) with BT (35.7 ± 0.22), BB (35.7 ± 0.24), BL (35.9 ± 0.14) and LL (35.9 ± 0.20)

groups ($p > 0.05$). Regarding gender, in healthy group 27.6% (06/22) of subjects were men and 72.4% (16/22) were women. Among leprosy patients, in BT group 18.7% (03/16) were men and 81.2% (13/16) were women; BB group 60% (06/10) were men and 40% (04/10) were women; BL group 70% (07/10) were men and 30% (03/10) were women; LL group 66.6% (08/12) were men and 33.4% (04/12) were women.

Table 1 showed the comparison of laboratory tests and incapacity degree between leprosy groups. Except the skin smears qPCR all laboratory tests and incapacity degree presented significant difference when compared BT, BB, BL and LL clinical form ($p < 0.05$).

Table 1. Laboratory tests positivity and disability grade according to clinical form of leprosy patients.

Laboratory tests (positivity)	BT (n=16)		BB (n=10)		BL (n=10)		LL(n=12)		Chi-squared test	
	n	%	n	%	n	%	n	%	χ^2	p value
BI in skin biopsies	00	00	05	50	08	80	11	91.6	27.93	< 0.001
Skin biopsy qPCR	02	12.5	06	60	08	80	11	91.6	20.93	< 0.001
BI in skin smears	01	6.25	02	20	09	90	10	83.3	27.44	< 0.001
Skin smears qPCR	07	43.7	06	60	09	90	11	91.6	8.98	0.029
ELISA Anti-PGL-I	16	100	10	100	10	100	12	100	*	*
Disability grade										
(hands)										
0	15	93.7	09	90.0	06	60.0	02	16.6		
1	01	6.2	01	10.0	03	30.0	09	75.0	22.32	0.001
2	-		-	-	01	10.0	01	8.4		

The skin temperature, observed by IR thermography images of dorsal and palmar right hand, was diminished in LL patients, in all of 10 ROIs, compared of healthy subjects ($p < 0.05$), indicating a group with more alterations in ROIs. The BT, BB and BL presented diminished of skin temperature in dorsal region ($p < 0.05$). Evaluating the palmar region, the BT group presented decrease of temperature in FP1, FD1, FP2, FD2, FP3, FD3, and FP4 ROIs. The BB subjects presented diminished of temperature in FD2 ($p=0.041$), FD3 ($p=0.005$) and BL group in P1 ($p=0.000$) ROIs, respectively (Supplementary table 1).

In the left hands, the temperature of LL group was diminished in 9 of 10 ROIs when compared with healthy groups ($p < 0.05$), similar of right hands this group presented a greater number of altered ROIs. In BT patients, the temperature was significantly reduced in 8 of 10 ROIS than healthy subjects ($p < 0.05$). Besides, the BB and BL presented decreased ($p < 0.05$) in temperature of 2 of 10 ROIs (Supplementary table 2).

Table 2 shows ΔT Value ($^{\circ}\text{C}$) to each ROI in hands. The ΔT Value was calculated by the difference between the same ROI in both hands ($\Delta T = T_{\text{right hand}} - T_{\text{left hand}}$). This value was used to determine the threshold for each area to calculate the percentage of subjects with assymmetric reduction of hands' temperature.

Table 2: Threshold of temperature difference (ΔT) for each ROI between right and left hands.

ROIs	REGION	ΔT Value ($^{\circ}\text{C}$)
D	dorsal	≥ 1.2
P	palmar	≥ 1.3
FP1	proximal phalanx of thumb	≥ 1.8
FD1	distal phalanx of thumb	≥ 3.0
FP2	proximal phalanx of index	≥ 0.7
FD2	distal phalanx of index	≥ 2.5

FP3	proximal phalanx of middle finger	≥ 0.6
FD3	distal phalanx of middle finger	≥ 1.0
FP4	proximal phalanx of ring	≥ 0.7
FP5	Proximal phalanx of little finger	≥ 1.3

Table 3 shows the percentage of subjects with temperature difference (ΔT) at ROIs of right and left hand among healthy, BT, BB, BL and LL groups. The presence of 3 or more points with asymmetry in the ROIs was not observed in healthy subjects. However, the presence of 3 or more ROIs with temperature asymmetry was observed in 25.0% (12/48) of leprosy patients, being 18.7% (03/16) in BT, 40.0% (04/10) in BB, 20% (02/10) in BL and, 25.0% (03/12) in LL. The asymmetry was limited in healthy subjects (13.6%), however it was detected in 43.7% of BT, 50% of BB, 50% of BL, and 58.3% of LL patients.

Table 3. Percentage of healthy, BT, BB, BL and LL groups with temperature asymmetry in ten ROIs according with threshold of ΔT .

ROI	Healthy n=22(%)	BT n=16(%)	BB n=10(%)	BL n=10(%)	LL n=12(%)
0	14 (63.6)	3 (18.7)	00	2 (20.0)	0
1	5 (22.7)	6 (37.5)	5 (50.0)	3 (30.0)	5 (41.7)
2	3 (13.6)	4 (25.0)	1 (10.0)	3 (30.0)	4 (33.3)
≥ 3	0	3 (18.7)	4 (40.0)	2 (20.0)	3 (25.0)

NOTE: (0): no temperature asymmetric; (1): one ROI with temperature asymmetric; (2) two ROIs with temperature asymmetric and (≥ 3): three or more ROIs with temperature asymmetric

Table 4 showed the chance of occurrence temperature asymmetric between right and left hands to multibacillary leprosy patients with DT, DD, DL and LL clinical forms with 2 or more ROIs. The LL, BL, BB, and BT patients presented significative increase in the chances to

develop asymmetric temperature than healthy subjects.

Table 4: OR of thermal asymmetry considering ≥ 2 asymmetric ROIs from healthy vs. BT, healthy vs. BB, healthy vs. BL and healthy vs. LL

	p value	OR	IC/CI 95%
Healthy vs. BT	0.0462	4.9	1.0 – 23.6
Healthy vs. BB	0.0373	6.3	1.6 – 35.9
Healthy vs. BL	0.0373	6.3	1.1 – 35.9
Healthy vs. LL	0.0106	8.8	1.6 – 47.2

Notes: p values in bold font are statistically significant at a p <0.05 level. *

Considering ≥ 2 asymmetric ROI to allow calculate ODDS ratio.

Regarding the presence of neural thickening, it was observed in 43.7% (07/16) in BT, 60.0% in BB, 90.0% in BL and 100% in LL evaluating right and left hands. Among them, the ulnar nerve alteration was the most frequently one and it presented in all patients with commitment (70.8%, 34/48).

Sensory loss occurs when the subjects do not feel the touch of the green monofilament (0.05g). In the control group, no individual presented sensory impairment on the hands. In the leprosy groups, 52% (25/48) of the patients presented at least one abnormality. The individuals most affected were those of the LL group (91.6%; 11/12) followed by BB (70%; 7/10), BL (60%; 6/10) and BT (6.2%; 1/16). The Binomial test indicated lower proportions of neural sensory dysfunction in BT patients (p<0.001). Otherwise, LL patients showed higher proportion of this dysfunction (p<0.001). However, the proportion of BB and BL was similar to neural sensory dysfunction (table 5).

Table 5. Percentage of sensory loss by Semmes Weinstein monofilament in hands between healthy subjects and leprosy patients (BT, BB, BL and LL clinical form)

Groups	Abnormal		Normal		Binomial test
	n	%	n	%	
Healthy	0	0	22	100	*
BT	1	6.2	15	93.8	< 0.0001
BB	7	70	3	30	0.0736
BL	6	60	4	40	0.3711
LL	11	91.6	1	8.3	< 0.0001

Notes: ^[1]_{SEP} p values in bold font are statistically significant at a p <0.05 level.

VMT was used to evaluate muscle strength in healthy and leprosy patients. Furthermore, healthy group did not presented diminish of muscle strenght, but 31.2% (15/48) of leprosy patients, being 6.1% (1/12) of BT , 10% (01/10) of BB, 40 % (04/10) of BL and 75% (09/12) of LL patients presentend a score lower than 5, indicating motor neural dysfunction. Considering the proportion of motor neural impairment in leprosy patients, the Binomial test indicated lower proportions of neural commitment in BT, BB, and higher proportion in LL patients (p<0.05) (table 6).

Table 6. Percentage of muscle strength in hands between healthy subjects and leprosy patients (BT, BB, BL and LL clinical form).

Groups	Abnormal		Normal		Binomial test
	n	%	n	%	p value
Healthy	0	0	22	100	*
BT	1	6.2	15	93.7	0.001
BB	1	10.0	9	90.0	0.001
BL	4	40.0	6	60.0	0.371
LL	9	75.0	3	25.0	0.001

Notes: p values in bold font are statistically significant at a p <0.05 level

In order to further explore the complex interaction among patients with neural impairment, Odds Ratio method was conducted to confirm the chance of occurrence neural impairment comparing IR thermography, Sensory testing and VMT, demonstrating that BT patients confers higher chance of developing autonomic neural impairment than sensory and motor impairment (table 8).

Table 8: Odds ratio (OR) of neural impairment comparing asymmetric temperature by IR thermography with sensory testing and VMT in BT, BB, BL and LL leprosy patients.

	p value	OR	IC/CI 95%
IR thermography vs. Sensory test			
BT	0.032	11.6	1.22 – 110.9
BB	0.365	0.42	0.06 – 2.6
BL	0.653	0.66	0.11 – 3.91
LL	0.085	0.12	0.01 – 1.33
IR thermography vs. VMT			
BT	0.032	11.6	1.22 – 110.9
BB	0.073	9.00	0.80 – 100.1
BL	0.653	1.50	0.25 – 8.8
LL	0.390	0.46	0.08 – 2.65

Notes: p values in bold font are statistically significant at a $p < 0.05$ level.

Discussion

The present study shows that leprosy promotes reduction in skin temperatures indicating temperature asymmetry in hands. Based on The IR thermography showed higher relative risk of temperature asymmetric in both BT, BB, BL, and LL patients than healthy control subjects. Besides, the IR thermography was most effective than sensory test and VMT to detect changes in BT patients, which indicate that autonomic neural dysfunction occurs previously than sensory loss and motor weakness in these patients.

Several investigators have neurologically classified the peripheral neuropathy of leprosy as multiple mononeuropathy bilateral (33, 34) and asymmetric (35, 36). It was showed that ENMG detected neural impairment with asymmetric pattern in all leprosy patients (35). In this context, leprosy patients presented higher incidence of asymmetric neural impairment in BL and LL patients by ultrasonography (US) (36), which was parallel with higher incidence of asymmetric temperature in those BL and LL patients. Besides, the present study also showed higher asymmetric temperature detection by US in both BT and LL patients.

A possible explanation for the asymmetric temperature due the decrease of temperature in leprosy patients is the presence of the decrease of unilateral sympathetic vasoconstrictor nerve conduction (37). This system is anatomically and physiologically symmetrical, thus the asymmetric temperature changes at the body surface may indicate peripheral autonomic nerve dysfunction (38). The sympathetic vasoconstrictor nerves are numerous and richly present in arteriovenous anastomoses (AVA), the opening or closing of these AVA can promote substantial changes in skin blood flow in glabrous skin. Therefore, the increase of blood flow in AVA promotes significant decrease in skin capillary blood flow with parallel alterations in skin temperature (37) (Figure 3). The autonomic dysfunction may occur at the onset of the disease in a subclinical period and subsequently may evolve to sensory and motor lesions (39).

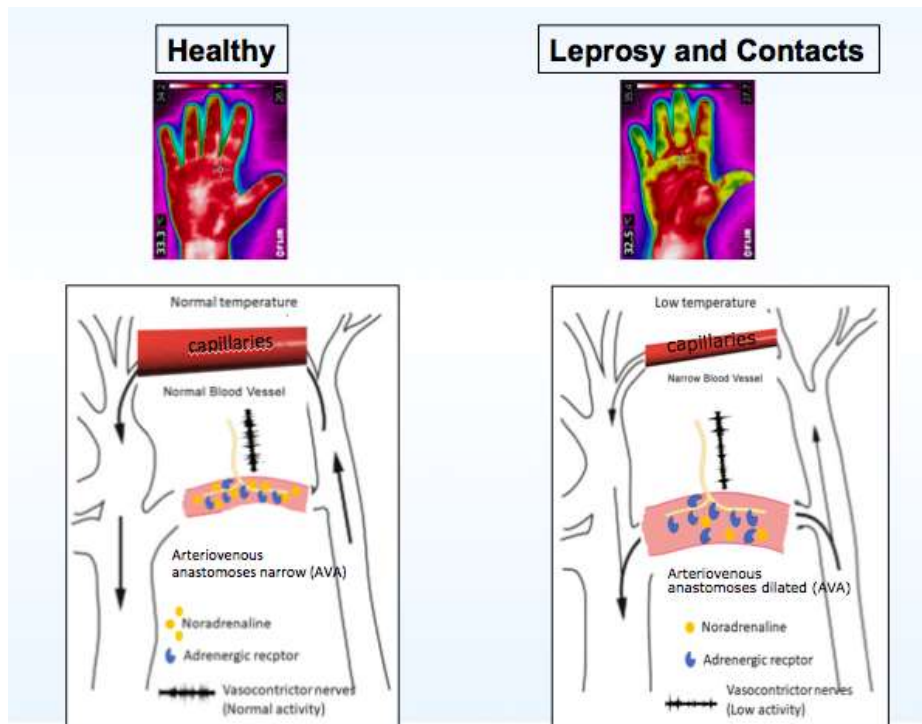


Figure 3. Schematic draw of a proposed pathway for neurological and vascular involvement detected by IR thermography in leprosy contacts. Modified from Walloe L, 2016.

In addition of asymmetry involvement, we demonstrated that significant part of leprosy patients presented decrease in skin temperature of hands evaluated by IR thermography. Some studies showed decreased of blood flow in hands by LASER Doppler velocimetry, measuring the vasoconstrictor response of leprosy patients and showed autonomic dysfunction in this group (16, 40, 41). However, there are limitation of laser Doppler flowmetry to evaluate peripheral autonomic neuropathies, this device presents issues of reproducibility due to a minimal displacement of the probe system, limitation of lower areas to analyze vascular changes, extended application time and the system are expensive (16). On the other hand, there is a growing interest in IR thermography as an additional tool for peripheral neuropathies detection (18). It is non-invasive, non-ionizing radiation and painless method and it has been receiving credibility and acceptance of thermal analysis in several areas of medicine (42).

The multiple asymmetric mononeuropathy caused by *M. leprae* can promotes

autonomic, sensory and motor dysfunction (43). Recurrently, sensory symptoms are considered as the initial and most common complaints of patients followed by motor fiber impairment (11, 44). We evaluated loss sensory in leprosy patients by SWM and demonstrated that 52% of leprosy patients showed loss sensory, being the LL group more committed than other groups and BT was the less one. BB clinical form However, some studies present a mean of 45% leprosy patients with peripheral sensory damage by SWM (45, 46). In according with Ridley & Jopling classification the LL clinical form present anesthesia of the hands more intense than BT, favoring the appearance of injuries and wounds (22).

In this study, evaluating by VMT presented decreased of muscle strength in 31.2% of leprosy patients, being 75% of LL follow by BL, BB and BT, respectively. A study with 396 new cases of leprosy showed 24.2% presented motor function impairment (34). Other study corroborated of our investigation, demonstrating that 70% of LL patients presented neural motor dysfunction follow by BL, BB and BT leprosy patients (47).

Large proportion of leprosy patients has subclinical neuropathy that was not evident when only sensory monofilament testing and VMT were used. A positive concordance between sensory testing by monofilaments and thermal sensory threshold indicates that, if touch sensation was impaired, often, thermal sensation was affected also (11). In our study, we compared leprosy patients with asymmetric temperature by IR thermography than patients with loss sensory by SWM and decreased of muscle strength by VMT. Thereby we showed that BT multibacillary patients presented 25-fold chance to developing neural damage detecting by IR thermography than SWM and VTM testing. However, IR thermography was important to detect neural impairment early than sensory and VMT testing, according to other study that showed a large proportion of leprosy patients with subclinical neuropathy that was not evident using sensory monofilament test and VMT (40).

Considering that BT as the most prevalent clinical form characterized by early, asymmetric and severe neural damage as compared with others clinical forms, the IR

thermography may detect the early neural impairment in BT patients than SWM and VTM (24, 48, 49). Additionally, BT in skin may be represented by almost any part of the spectrum in nerve, because bacilli in nerve, being immunologically undetected, grow more rapidly than in exposed site in skin without at first affecting the histological response. Bacilli therefore tend to be more numerous in relation to the histological classification than would be the case in a skin lesion, justifying the early neural lesion in BT patients (50).

In last years, high rates of clinical and subclinical abnormalities in leprosy were been described in Brazil (24, 35, 48, 51-53). These studies performed for leprosy diagnosis based on clinical, serological and molecular variables. This study demonstrated the confirmation of leprosy by a diagnostic method that combines classical and novel tools, indicating more detection of *M leprae* in qPCR testing than bacilloscopy analysis in slit skin smear and biopsy, demonstrating that this method is directly proportional to the bacillary load and humoral response detected by ELISA anti-PGL-I IgM (26, 48, 54, 55).

In summary, we showed that leprosy promotes reduction in superficial temperature indicating the presence of temperature asymmetry in hands. Additionally, IR thermography detected higher frequency of temperature asymmetric demonstrating that LL patients as the most commitment; follow BL, BB and BT patients. Besides that, BT patients presented temperature asymmetry detected in higher frequency than loss sensory and decreased muscle strength. Finally, this study presented a potential benefit to use IR thermography to evaluate decrease and asymmetry of skin temperature in hands, detecting early peripheral autonomy dysfunction in leprosy patients.

Referências bibliográficas:

1. Rambukkana A. Molecular basis for the peripheral nerve predilection of *Mycobacterium leprae*. *Curr Opin Microbiol.* 2001;4(1):21-7.
2. Shetty VP, Mehta LN, Antia NH, Irani PF. Teased fibre study of early nerve lesions in

leprosy and in contacts, with electrophysiological correlates. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1977;40(7):708-11.

3. Job CK. Nerve damage in leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1989;57(2):532-9.

4. Britton WJ, Lockwood DN. Leprosy. *Lancet*. 2004;363(9416):1209-19.

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

6. Scollard DM, Truman RW, Ebenezer GJ. Mechanisms of nerve injury in leprosy. *Clin Dermatol*. 2015;33(1):46-54.

7. Acosta CCD, Dias AA, Rosa TLSA, Batista-Silva LR, Rosa PS, Toledo-Pinto TG, et al. PGL I expression in live bacteria allows activation of a CD206/PPAR γ cross-talk that may contribute to successful *Mycobacterium leprae* colonization of peripheral nerves. *PLoS pathogens*. 2018;14(7):e1007151.

8. WHO. Global leprosy update, 2015: time for action, accountability and inclusion. *Weekly Epidemiological Record= Relevé épidémiologique hebdomadaire*. 2016;91(35):405-16.

9. WHO. Global leprosy update, 2017: reducing the disease burden due to leprosy. *Weekly Epidemiological Record [on-line]*. 2018:445-6.

10. Rodrigues Junior IA, Silva IC, Gresta LT, Lyon S, Villarroel Mde F, Arantes RM. Degree of skin denervation and its correlation to objective thermal sensory test in leprosy patients. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(12):e1975.

11. Van Brakel WH, Nicholls PG, Das L, Barkataki P, Maddali P, Lockwood DN, et al. The INFIR Cohort Study: assessment of sensory and motor neuropathy in leprosy at baseline. *Lepr Rev*. 2005;76(4):277-95.

12. Manzano GM, Giuliano LM, Nobrega JA. A brief historical note on the classification of nerve fibers. *Arq Neuropsiquiatr*. 2008;66(1):117-9.

13. Srinivasan H, Stumpe B. Leprosy diagnosis: a device for testing the thermal sensibility of skin lesions in the field. *Bull World Health Organ*. 1989;67(6):635-41.

14. Illarramendi X, Buhner-Sekula S, Sales AM, Bakker MI, Oliveira A, Nery JA, et al. High prevalence of vasomotor reflex impairment in newly diagnosed leprosy patients. *Eur J Clin Invest.* 2005;35(10):658-65.
15. Shetty VP, Antia NH, Jacobs JM. The pathology of early leprosy neuropathy. *J Neurol Sci.* 1988;88(1-3):115-31.
16. Wilder-Smith E, Wilder-Smith A, Van Brakel WH, Egger M. Vasomotor reflex testing in leprosy patients, healthy contacts and controls: a cross-sectional study in western Nepal. *Lepr Rev.* 1996;67(4):306-17.
17. Gatt A, Formosa C, Cassar K, Camilleri KP, De Raffaele C, Mizzi A, et al. Thermographic patterns of the upper and lower limbs: baseline data. *Int J Vasc Med.* 2015;2015:831369.
18. Ring EF, Ammer K. Infrared thermal imaging in medicine. *Physiol Meas.* 2012;33(3):R33-46.
19. Diakides N, Diakides M, Lupo J, Paul J, Balcerak R. Advances in medical infrared imaging: an update. *Medical infrared imaging: principles and practices.* 2012:1.-.15.
20. Tattersall GJ. Infrared thermography: A non-invasive window into thermal physiology. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology.* 2016;202:78-98.
21. Cunha ACR. Termografia para avaliação do acometimento neural das mãos de pacientes com hanseníase. Uberlândia-MG: Universidade Federal de Uberlândia (UFU); 2016.
22. RIDLEY D, Jopling W. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *International journal of leprosy.* 1966;34(3):255-73.
23. Lobato J, Costa MP, Reis Ede M, Goncalves MA, Spencer JS, Brennan PJ, et al. Comparison of three immunological tests for leprosy diagnosis and detection of subclinical infection. *Lepr Rev.* 2011;82(4):389-401.
24. Araujo S, Freitas LO, Goulart LR, Goulart IMB. Molecular Evidence for the Aerial

Route of Infection of *Mycobacterium leprae* and the Role of Asymptomatic Carriers in the Persistence of Leprosy. *Clinical Infectious Diseases*. 2016;63(11):1412-20.

25. Truman RW, Andrews PK, Robbins NY, Adams LB, Krahenbuhl JL, Gillis TP. Enumeration of *Mycobacterium leprae* using real-time PCR. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2(11):e328.

26. Araujo S, Freitas LO, Goulart LR, Goulart IM. 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*. 2016;63(11):1412-20.

27. Lehman LF, Orsini MBP, Fuzikawa PL, Lima RC, Gonçalves SD. Avaliação neurológica simplificada. *Avaliação neurológica simplificada* 1997.

28. Brandsma JW, van Brakel WH. Protocol for motor function assessment in leprosy and related research questions. *Indian J Lepr*. 2001;73(2):145-58.

29. Brasil. Cadernos de Prevenção e Reabilitação em Hanseníase. In: Saúde Md, editor. Brasília 2008. p. 135.

30. Schwartz R, Elliott R, Goldberg G, Govindan S, Conwell T, Hoekstra P. The american academy of thermology. Guidelines for neuromusculoskeletal thermography. *Thermol Int*. 2006;16:5-9.

31. Karanth SS, Springall DR, Lucas S, Levy D, Ashby P, Levene MM, et al. Changes in nerves and neuropeptides in skin from 100 leprosy patients investigated by immunocytochemistry. *J Pathol*. 1989;157(1):15-26.

32. Shetty V, Mehta L, Antia N. Unmyelinated fibres in leprosy neuritis. An ultrastructural study. *Bull Electron Microsc Soc India*. 1978;2:2-5.

33. Jennekens FG, Jennekens-Schinkel A. Neurological examination of patients suffering from leprosy: is it worthwhile? *Lepr Rev*. 1992;63(3):269-76.

34. Van Brakel WH, Khawas IB. Nerve damage in leprosy: an epidemiological and clinical study of 396 patients in west Nepal--Part 1. Definitions, methods and frequencies. *Lepr Rev*.

1994;65(3):204-21.

35. Santos DFD, Mendonca MR, Antunes DE, Sabino EFP, Pereira RC, Goulart LR, et al. Revisiting primary neural leprosy: Clinical, serological, molecular, and neurophysiological aspects. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(11):e0006086.
36. Lugao HB, Nogueira-Barbosa MH, Marques W, Jr., Foss NT, Frade MA. Asymmetric Nerve Enlargement: A Characteristic of Leprosy Neuropathy Demonstrated by Ultrasonography. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(12):e0004276.
37. Charkoudian N. Skin blood flow in adult human thermoregulation: how it works, when it does not, and why. *Mayo Clin Proc*. 2003;78(5):603-12.
38. Uematsu S, Edwin DH, Jankel WR, Kozikowski J, Trattner M. Quantification of thermal asymmetry. Part 1: Normal values and reproducibility. *J Neurosurg*. 1988;69(4):552-5.
39. Garbino JA. O paciente com suspeita de hanseníase primariamente neural. *Hansenologia Internationalis (Online)*. 2007;32(2):203-6.
40. van Brakel WH, Nicholls PG, Wilder-Smith EP, Das L, Barkataki P, Lockwood DN, et al. Early diagnosis of neuropathy in leprosy--comparing diagnostic tests in a large prospective study (the INFIR cohort study). *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2(4):e212.
41. Abbot NC, Beck JS, Mostofi S, Weiss F. Sympathetic vasomotor dysfunction in leprosy patients: comparison with electrophysiological measurement and qualitative sensation testing. *Neurosci Lett*. 1996;206(1):57-60.
42. BRIOSCHI ML. Metodologia de Normalização de Análise do Campo de Temperaturas em Imagem Infravermelha Humana. Curitiba: Universidade Federal de Curitiba; 2011.
43. Wilder-Smith EP, Van Brakel WH. Nerve damage in leprosy and its management. *Nat Clin Pract Neurol*. 2008;4(12):656-63.
44. Lima PO, Cunha FM, Goncalves Hde S, Aires MA, De Almeida RL, Kerr LR. Correlation between clinical tests and electroneuromyography for the diagnosis of leprosy neuropathy. *Lepr Rev*. 2016;87(1):60-70.

45. Leite SN, Barros ARSB, Fonseca MdCR, Andrade TAM, Foss NT, Frade MAC. Avaliação sensitiva de hansenianos pelos monofilamentos semmes-weinstein em serviço terciário de fisioterapia. *Hansenologia Internationalis (Online)*. 2010;35(2):9-15.
46. Saranjit W, Penvadee P, Onjuta C, Kamonpan L, Pacharee I, Suteeraporn C. Comparison between Different Methods of Monofilament Test in Multibacillary Leprosy. *J Med Assoc Thai*. 2015;98(11):1124-32.
47. Bell-Krotoski J. A study of peripheral nerve involvement underlying physical disability of the hand in Hansen's disease. *Journal of Hand Therapy*. 1992;5(3):133-42.
48. Reis EM, Araujo S, Lobato J, Neves AF, Costa AV, Goncalves MA, et al. *Mycobacterium leprae* DNA in peripheral blood may indicate a bacilli migration route and high-risk for leprosy onset. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(5):447-52.
49. Kil AKA, Silvestre CM, Kaminice LM, Quintino LB, Lima LBd, Paranhos MB, et al. Deficiências e incapacidades por hanseníase: avaliação clínica e epidemiológica dos pacientes atendidos em um Centro de Referência Nacional do Brasil. *Hansenologia Internationalis (Online)*. 2012;37(1):25-33.
50. Ridley DS. *Skin biopsy in leprosy*. 3 ed. Switzerland 1990. 63 p.
51. Araujo S, Rezende MM, Sousa DC, Rosa MR, Santos DC, Goulart LR, et al. Risk-benefit assessment of Bacillus Calmette-Guerin vaccination, anti-phenolic glycolipid I serology, and Mitsuda test response: 10-year follow-up of household contacts of leprosy patients. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2015;48(6):739-45.
52. Araujo S, Lobato J, Reis Ede M, Souza DO, Goncalves MA, Costa AV, et al. Unveiling healthy carriers and subclinical infections among household contacts of leprosy patients who play potential roles in the disease chain of transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2012;107 Suppl 1:55-9.
53. Frade MAC, de Paula NA, Gomes CM, Vernal S, Bernardes Filho F, Lugão HB, et al. Unexpectedly high leprosy seroprevalence detected using a random surveillance strategy in

midwestern Brazil: A comparison of ELISA and a rapid diagnostic test. PLoS neglected tropical diseases. 2017;11(2):e0005375.

54. Santos DFD, Mendonca MR, Antunes DE, Sabino EFP, Pereira RC, Goulart LR, et al. Molecular, immunological and neurophysiological evaluations for early diagnosis of neural impairment in seropositive leprosy household contacts. PLoS Negl Trop Dis. 2018;12(5):e0006494.

55. Patrocinio LG, Goulart IM, Goulart LR, Patrocinio JA, Ferreira FR, Fleury RN. Detection of *Mycobacterium leprae* in nasal mucosa biopsies by the polymerase chain reaction. FEMS Immunol Med Microbiol. 2005;44(3):311-6.

Supplementary dates

Table 1: Minimum dorsal and palmar skin temperature of right hand among healthy subjects and leprosy (BT, BB, BL and LL) patients.

	Healthy (n= 22)	BT (n=16)	Healthy x BT	BB (n=10)	Healthy x BB	BL (n=10)	Healthy x BL	LL (n=12)	Healthy x LL
Dorsal									
D1	33.7	32.5	0.003	32.7	0.049	32.9	0.048	32.1	0.001
median [IIQ]	[33.2-34.6]	[31.7-33.5]		[31.8-34.4]		[32.1-33.7]		[29.5-33.2]	
Palmar									
P1	33.6	32.8	0.134	32.7	0.112	31.7	0.001	32.1	0.015
mean (SD)	(±1.0)	(±1.8)		(±1.8)		(±1.4)		(±2.1)	
FP1	34.2	33.3	0.029	34.0	0.535	33.9	0.324	32.9	0.009
mean (SD)	(±0.8)	(±1.6)		(±1.3)		(±0.8)		(±1.9)	
FD1	33.0	30.9	0.002	31.9	0.238	33.6	0.287	31.0	0.018
mean (SD)	(±0.9)	(±1.8)		(±2.0)		(±0.6)		(±2.1)	
FP2	34.4	33.2	0.018	33.6	0.150	34.1	0.339	32.9	0.011
mean (SD)	(±0.9)	(±1.8)		(±2.0)		(±0.6)		(±2.1)	
FD2	33.0	30.5	0.001	31.6	0.041	32.3	0.338	30.2	0.001
mean (SD)	(±1.7)	(±1.7)		(±1.5)		(±1.4)		(±2.2)	
FP3	34.5	33.2	0.011	33.7	0.132	33.9	0.097	32.8	0.005
mean (SD)	(±0.8)	(±1.8)		(±1.8)		(±0.9)		(±2.2)	
FD3	33.0	30.7	0.001	32.4	0.005	33.0	0.916	30.6	0.001
median [IIQ]	[32.3-33.9]	[29.3-32.0]		[29.2-32.8]		[32.7-33.9]		[27.7-32.0]	
FP4	34.3	33.0	0.012	33.7	0.241	33.5	0.062	32.5	0.004
mean (SD)	(±0.8)	(±1.9)		(±1.6)		(±1.2)		(±2.4)	
FP5	33.5	33.4	0.132	34.3	0.947	32.7	0.426	31.9	0.010
median [IIQ]	[33.1-34.3]	[30.2-34.3]		[31.2-35.3]		[32.0-34.0]		[30.2-33.8]	

Notes: p values in bold font are statistically significant at a p <0.05 level_[SEP]. IQR: Interquartile range_[SEP]. SD: Standard deviation_[SEP].

Temperature was showed in Celcius degree (°C).

Table 2: Minimum dorsal and palmar skin temperature of left hand among healthy subjects and leprosy (BT, BB, BL and LL) patients

	Healthy (n= 22)	BT (n=16)	Healthy x BT	BB (n=10)	Healthy x BB	BL (n=10)	Healthy x BL	LL (n=12)	Healthy x LL
Dorsal									
D1	33.8	32.5	0.015	32.3	0.027	32.9	0.029	31.5	0.001
median [IIQ]	(±1.0)	(±1.9)		(±2.4)		(±0.8)		(±1.9)	
Palmar									
P1	33.7	32.5	0.033	33.1	0.330	32.3	0.010	31.8	0.005
mean (SD)	(±1.1)	(±1.8)		(±1.5)		(±1.3)		(±2.4)	
FP1	34.3	33.8	0.087	34.4	0.516	33.4	0.352	33.4	0.064
mean (SD)	[33.6-34.9]	[32.5-34.4]		[32.0-35.3]		[32.7-35.0]		[30.8-34.8]	
FD1	32.8	31.2	0.030	32.1	0.492	33.1	0.519	30.43	0.009
mean (SD)	(±1.9)	(±2.2)		(±2.5)		(±0.9)		(±2.9)	
FP2	34.5	33.1	0.014	33.7	0.103	33.9	0.148	32.7	0.004
mean (SD)	(±0.8)	(±2.0)		(±1.7)		(±1.1)		(±2.2)	
FD2	33.3	31.3	0.001	31.9	0.023	33.1	0.915	30.8	0.001
mean (SD)	[32.6-33.7]	[30.3-31.9]		[29.3-34.1]		[32.6-34.2]		[27.9-32.1]	
FP3	34.0	33.2	0.104	33.8	0.649	33.7	0.456	32.6	0.026
mean (SD)	(±1.1)	(±1.9)		(±1.4)		(±1.2)		(±2.3)	
FD3	32.9	30.6	0.001	31.8	0.082	32.8	0.932	30.1	0.001
median [IIQ]	(±1.1)	(±2.1)		(±2.0)		(±0.7)		(±2.7)	
FP4	34.3	33.0	0.022	33.6	0.190	32.8	0.182	30.1	0.001
mean (SD)	(±1.1)	(±2.0)		(±1.9)		(±1.1)		(±2.5)	
FP5	33.8	32.5	0.034	32.5	0.056	33.5	0.582	31.8	0.006
median [IIQ]	(±1.1)	(±2.2)		(±2.4)		(±1.1)		(±2.7)	

Notes: p values in bold font are statistically significant at a p <0.05 level_[SEP]. IQR: Interquartile range_[SEP]. SD: Standard deviation_[SEP]. Temperature was showed in Celcius degree (°C).

CROSS-SECTIONAL STUDY

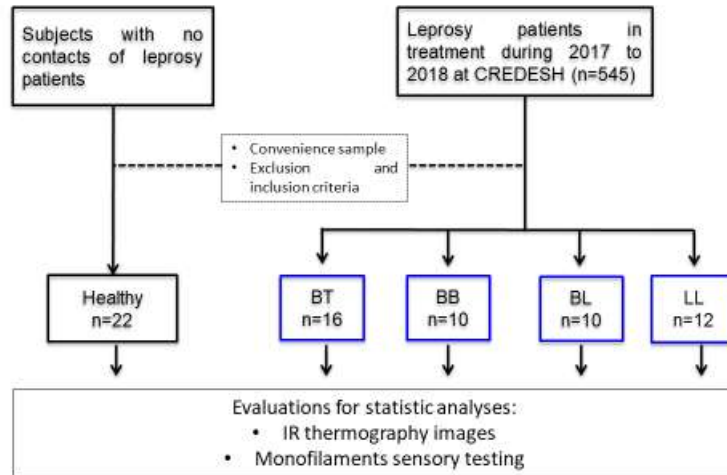


Figure 1: Cross section study design. BT=bordeline tuberculoid, BB: mid-bordeline, BL: bordeline lepromatous, LL: lepromatous

Artigo 2

Asymptomatic leprosy contacts present asymmetrical skin temperature in hands by infrared thermography

Esse artigo será submetido na revista *Clinical Infectious Diseases*

Fator de impacto: 9.05

Asymptomatic leprosy contacts present asymmetrical skin temperature in hands by infrared thermography

Elaine Fávaro Pípi Sabino^{1,2}, Diogo Fernandes Santos^{1,2}, Douglas Eulálio Antunes¹, Dulcinéa de Oliveira Bernardes de Souza¹, Isabela Maria Bernardes Goulart^{1,2}

¹ CREDESH, National Reference Center for Sanitary Dermatology and Leprosy, Clinics' Hospital, School of Medicine, Federal University of Uberlandia (UFU), Uberlandia, MG, Brazil.

² Postgraduate Program in Health Sciences, School of Medicine, Federal University of Uberlandia (UFU), Uberlandia, MG, Brazil.

Running title: Peripheral autonomic nerve dysfunction in leprosy contacts.

Correspondence: Prof. Dra. Isabela Maria Bernardes Goulart, National Reference Center of Sanitary Dermatology and Leprosy, Clinics' Hospital, School of Medicine, Federal University of Uberlandia (UFU). Rua Capricórnio, 94 Jardim Brasília, CEP 38401404, Uberlandia, MG, Brazil. Phone: +55 34 3229-1311 or +55 34 32391312.

E-mail: imbgoulart@gmail.com

Article will be submitted to: Clinical Infectious Diseases

Abstract

Background. Leprosy is a chronic infectious disease caused by *Mycobacterium leprae* and is one of the most common causes of non-traumatic peripheral neuropathy worldwide. Most of the individuals exposed to *M. leprae*, don't manifest the disease, which supports the hypothesis of asymptomatic infection and its potential role to the chain of leprosy transmission. Infrared (IR) thermography may detect body temperature through increase or decrease of blood flow. Thermal imaging has been used to study diseases that modify skin temperature on clinical abnormality, as peripheral autonomic neuropathy. Thus, the aim of present study was to use thermography to identify asymmetric temperature between both hands in asymptomatic leprosy contacts.

Methods. We recruited 144 subjects divided in three groups: 23 healthy subjects, 66 seropositive and 55 seronegative leprosy contacts with anti-phenolic glycolipid I (anti-PGL1) serology. Skin temperature was measured by FLIR® T420 IR camera on ten regions of interest (ROIs) in each hand at controlled room temperature. The electroneuromyography (ENMG) exam was performed in seropositive leprosy contacts aiming to evaluate the neural asymmetry in hands sensory and motor conduction. Sensory test by Semmens-Weinstein monofilament was used to evaluating cutaneous sensory in all groups, six areas were examined on the palmar surface and one on the back of each hand.

Results: Skin temperature of both hands was reduced ($p < 0.05$) on all ROIs in seropositive contacts and in the three ROIs of distal phalanges in seronegative contacts ($p < 0.05$) than healthy subjects. The presence of 3 or more ROIs with temperature asymmetry was observed in 65.1% (43/66) of seropositive and 50.9% (28/55) in seronegative contacts. These temperature alterations indicate that the seropositive contacts presented 26.1 and seronegative leprosy contacts presented 9.6-fold chance to develop asymmetric temperature than healthy ($p < 0.05$). ENMG demonstrated that 25.7% (17/66) seropositive leprosy contacts presented neural

impairment. Sensory loss was observed in 9.0% (08/66) of leprosy contacts. The comparison among IR thermography, ENMG and sensory test revealed that the first detects neural impairment with higher proportion than others ($p=0.001$).

Conclusion: In summary, the study highlights that IR thermography may detect temperature asymmetry in hands of seropositive and seronegative leprosy contacts indicating peripheral autonomic dysfunction related to early neural impairment in leprosy. This reinforces the importance of implementation evaluates to detect early neural impairment in the epidemiological surveillance of contacts, thus preventing the evolution of neural damage and consequently the installation of physical disabilities

Keywords: *Mycobacterium leprae*, epidemiologic surveillance, autonomic nerves, thermography, phenolic glycolipid I

Introduction

Leprosy is a debilitating chronic infectious disease caused by *Mycobacterium leprae* who not only affects somatic motor and sensory nerves but also autonomic nerve fiber. The *M. leprae* has predilection for infecting macrophages in skin and Schwann cells in peripheral nerves, however nerve involvement occurs in all leprosy patients, resulting in loss of sensation, an early symptom of the disease with an asymmetrical impairment (1-8). This disease still represents a problem for public health in developing countries such as Brazil, which is the second worldwide in the number of new cases in world (9).

Several studies have demonstrated that leprosy contacts of multibacillary (MB) patients present 10-fold greater risk of developing leprosy than the general population (10, 11). On the other hand, most of the exposed individuals do not manifest the disease, which supports the hypothesis of asymptomatic infection and its potential role to the chain of transmission of *Mycobacterium leprae* (12-15).

The investigation of the infectivity of *M. leprae* through molecular and immunological tools has shown about 18% of leprosy contacts presented subclinical infection with positive anti-phenolic glycolipid I (PGL-I) indicating a higher relative risk of almost 6-fold to develop leprosy (14, 16, 17). Previous study from our group corroborates the results above showing that ENMG may detect neural impairment in 31.4% of seropositive and 13.1% of seronegatives contacts, conferring 4.04-fold greater chance of neural damage (8).

Meanwhile, there are evidences that initial neural impairment occurs in small or unmyelinated nerve fibers in leprosy patients and contacts (6, 18-21) and the clinical manifestation of dysautonomia is characterized by thermal regulation and sensory loss (22). Thirty years ago, Shetty *et al.* (1977) showed that leprosy contacts presented demyelinated nerves resulting in a decrease nerve conduction velocity.

Actually, infrared (IR) thermography may detected thermal radiation from the surface of the body and it is correlated with changes in temperature caused by peripheral circulation (23, 24). Thereby the IR makes possible to evaluate skin temperature with high accuracy and non-invasively (25). Studies have reported that radiation thermal imaging has been used to study diseases that modify skin temperature due the increase or decrease blood flow on clinical abnormality (24, 26). A study conducted by our group using IR Thermography showed a decrease in temperature in the hands of leprosy patients when compared with healthy subjects. The temperature in hands of patients and controls, were 32.6 °C and 34.4 °C, respectively, demonstrating 1.8 °C of temperature difference when compared both groups (27).

It is important to emphasize that the subclinical autonomic nerve impairment in leprosy contacts has not yet been well established and this study analyzed for the first time the use of IR thermography in asymptomatic leprosy contacts. Such elucidation would enable the discussion of chemoprophylaxis and early treatment, as a complementary strategy for leprosy control. Here, we tested the hypothesis that peripheral autonomic nerve dysfunction of hands

can be detected by IR thermography in asymptomatic leprosy contacts. In this manner, our goal was to use IR thermography to identify asymmetric temperature among both hands in seropositive and seronegative asymptomatic leprosy contacts for anti-PGL-I immunoglobulin M (IgM) antibodies.

Methods

Ethics statement

The Ethics Committee of the Federal University of Uberlandia approved the study (CAAE: 82089317.8.0000.5152). Written informed consent was obtained from all participants.

Subjects

This is a cross-section study that measured the the asymmetry in hands temperature in 144 subjects from 18 to 70 years old and both genders, during the period from 2017 to 2019. The sample size was determined to be sufficient through calculations using the GPower 3.1.1 computer program software (28). Power analysis indicated that a total of 117 participants were obtained after considering that the size of the mains effects was 0.37 (according to previous study data using temperature averages of the palmar region), the probability for type α error was 0.05 (5%), test power of 0.95 and the total number of 3 groups, using analysis of variance (ANOVA), within-between subject interactions.

After that, the subjects were divided in three groups: (I) healthy (n=23): subjects without leprosy and without contact of leprosy patients; (II) asymptomatic leprosy contacts who presented positive serology for enzyme-linked immunosorbent (ELISA) anti-PGL-I (n=66) and (III) asymptomatic leprosy contacts with negative serology for ELISA anti-PGL-I (n=55) (see Supplementary Figure 1). Leprosy contacts were defined as persons who live or have lived in the same dwelling as a patient with leprosy in the last 5 years before the leprosy

diagnosis (29). They were evaluated at National Reference Center for Sanitary Dermatology and Leprosy (CREDESH) that is a public health unit with a multi-professional staff and routinely works on leprosy prevention, particularly by monitoring contacts, actively searching for early cases, and administering treatment to those affected by the disease.

We excluded individuals who presented other comorbidities, such as: cardiopulmonary diseases, chronic alcoholism, diabetes mellitus, thyroid disease, hormonal dysfunctions, malnutrition, hereditary neuropathy, hepatitis B or C, HIV, autoimmune diseases, anxiety, women in menstrual period, and leprosy contacts who presented signs of leprosy at first examination (coprevalence cases).

Epidemiological and clinical characterization

The leprosy contacts are followed up annually for a period of at least 7 years and they were submitted to dermatoneurological examination and biological samples were collected for ELISA anti-PGL-I analysis. They are referred for evaluation by a multidisciplinary team if they present signs, symptoms and/or combination of laboratory tests.

Leprosy contacts were classified according to the number of BCG scars (0, 1, or 2 scars) (30) and according to the clinical classifications of their index cases as per the Ridley-Jopling classification: TT (tuberculoid), BT (borderline-tuberculoid), BB (borderline-borderline), BL (borderline-lepromatous), and LL (lepromatous) (31), and also per operational classifications for paucibacillary (PB) or multibacillary (MB).

ELISA anti-PGL-I IgM serology

Serology ELISA was used to detect circulating immunoglobulin M antibodies against the *Mycobacterium leprae*-derived PGL-I antigen (obtained from BEI Resources) on all leprosy contacts. Results for the antibody titers measured by optical density (OD) at 492 nm were converted into an ELISA index (EI) considering positive threshold $EI > 1.1$, as described

previously (32).

Monofilaments sensory testing

The sensory testing, recommended by World Health Organization (WHO), was performed with Semmes-Weinstein monofilament (SWM), composed by six different force of 0.05g (green), 0.2g (blue), 2g (purple), 4g (red), 10g (orange) and 300g (magenta) which allowed by touching different areas in the hands. Six areas were examined on the palmar surface (ulnar nerve supply: distal and proximal phalanges of little finger and hypothenar eminence; median nerve supply: distal and proximal phalanges of index finger and proximal phalanx of thumb) and one area on back (radial nerve supply) of each hand. The sensory testing is considering normal when the subjects feel the 0.05 g monofilaments (33).

In a quiet room, the procedure was explained to leprosy contacts, asking them not to look but to verbally respond when they felt that they were being touched. The subjects closed their eyes and turn their head away. The test began with lightest filament (0.05g), if the subject detected the stimuli a thicker filament was used following the same procedure (33).

Functional disability

The level of functional disability was evaluated, according to the recommended protocol of the Brazilian Ministry of Health (34), which evaluates the neural function integrity and the degree of physical disability, through voluntary muscle testing and sensory evaluation of hands. When there is no neural involvement, patients are classified as disability grade zero (DG=0), disability grade 1 (DG=1) occurs when there is a decrease or loss of sensitivity in hands, and DG=2 when there are more serious injuries in hands. (34).

Electroneuromiography (ENMG)

ENMG studies were carried out utilizing the MEB 4200K (NIHON-KODHEN) device. In this study, this examination was performed only in seropositive leprosy contacts because it is a protocol of the CREDESH where the data was collected. ENMG evaluated the

neural asymmetry in the hands by sensory conduction in the median, ulnar, dorsal hand cutaneous, radial and lateral antebrachial cutaneous, median antebrachial cutaneous. In the neuronal motor conduction study in both hands, the median and ulnar nerves were examined, supplemented by techniques for focal impairment identification at compression sites often affected in leprosy neuropathy, such as median nerve at the wrist and ulnar nerve at the elbow (8).

Infrared Thermography

The study used FLIR® T420 IR camera (FLIR Systems, Inc., Täby, Sweden) with an image resolution of 240×320 pixels, thermal sensitivity of $< 0.045^{\circ}\text{C}$ a 30°C and spectral emissivity was set to 0.98. The procedures was realized based on guidelines to neuromusculoskeletal IR medical thermography of the American Academy of Thermology (35). As, recommended, body temperature was measured in degrees Celsius ($^{\circ}\text{C}$) using a thermometer. The IR images were obtained from the palmar and dorsal region.

The hands temperature measurements were captured in a room with an ambient temperature of $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ and thermal losses due to forced convection of air directly on the volunteer were prevented. The relative humidity of air did not exceed 60% and cold lights (fluorescent bulbs) were used. The windows were fitted with outside screens to prevent sunlight entering the room and the air conditioner had sufficient thermal capacity for the size of the room.

All subjects were instructed not to use any type of moisturizer or cream in the six hours and not performing vigorous physical exercise in the 24 hours preceding the measurements. In addition, nicotine and caffeine products should be discontinued at least 4 hours prior to imaging.

The Infrared (IR) camera was switched on 30 min before measurements began. The distance between the subjects and the camera was 0.71 m. Before the measurements were

obtained, each participant rested for at least 15 min to acclimatize to the temperature of the room. For the image capture, all subjects were requested to sit on a chair and their hands were put on a styrofoam base. They were instructed not to palpate, press, rub or scratch the skin at any time and relax the muscles, until the examination was concluded.

Interpretation of IR thermographic images

After obtaining all the IR thermographic images, they were saved in JPEG (Joint Photographic Experts Group) format. In this study, 576 images (four per subjects) of right and left hands (palm/back) were evaluated in the FLIR Tools® version 2.1 program (FLIR Systems© Inc.). This software showed values of maximum, average and minimum temperature. We choose the minimum temperature due to some studies showed neural impairment in unmyelinated nerve fibers of leprosy patients and contacts indicating decreased of blood flow (6, 18-21), which can be detected in lower areas by high-resolution IR thermography.

The mean of the temperature, in degree Celcius (°C), and the standard deviation were calculated using the pixel values within each ROI. Besides that, we calculated the difference between hands temperature for each ROI from one side to the contralateral side ($\Delta T = T_{\text{right hand}} - T_{\text{left hand}}$).

Ten regions of interest (ROIs), nine on the palm and one on the back of the right and left hand, as illustrated in Figure 1, were used to measure the skin surface temperature. Of nine ROIs on the palm, one was placed on the distal phalanges and one on proximal phalanges of thumb, index and middle finger, one on proximal phalanx of ring and little finger and one the carpometacarpal (CMC) area. Of ROI on the back, we considered one region carpometacarpal (CMC). The CMC area was defined as part of the hand between the wrist (styloid process of ulna) and the base of the fingers (metacarpophalangeal joints). The ROIs on the CMC region had a size of approximately 6.400 pixels and were positioned at the same part of palmar and

dorsal side. On the distal and proximal phalanges, the ROIs had a size of approximately 200 pixels. The proximal ROIs were placed between the metacarpophalangeal joints and the proximal interphalangeal joints. The distal ROIs were positioned between the fingertip and the distal interphalangeal joint.

Before we set the regions of interest (ROIs) for this study, we conducted a pilot study with 14 ROIs and we observed that four points presented similar values of ΔT between studied groups e higher standard deviation, demonstrating that these areas are unstable for all subjects.

Statistical analysis

All data were analyzed with GraphPad Prism 7.0. The Shapiro Wilk test was used to test the data normality. For continuous variables, the mean with standard deviation (SD) is presented when normally distributed. In case of a skewed distribution, the median with interquartile range (IQR) is presented. For assessing statistical significance, the ANOVA test, Mann Whitney U-test were used. The statistical significance was determined at a p-value of 0.05. The Wilcoxon-Mann-Whitney U Test was carried out, and the Binomial Test was applied to the Study of Dichotomous Variables, with significance defined as p value of less than 0.05. The measure of association adopted was the Odds Ratio (OR).

Results

Comparisons of age, gender and body temperature between groups of health and leprosy contacts did not show any significant difference (see Supplementary Table 1).

Among 121 leprosy contacts, 54.5% (66/121) presented positive result and 45.5% (55/121) negative for anti-PGL-1 ELISA. The mean anti-PGL-I IgM ELISA index was 1.67 in seropositive contacts, and 0.27 in seronegative contacts ($p < 0.0001$). Any seropositive and seronegative had changes in the incapacity degree.

Comparisons of type of contacts, Operational Classification (OC) and clinical form (CF) of the index case and BCG scars between leprosy contacts groups did not show any significant difference (see Supplementary Table 2).

The skin temperature, observed in IR thermography images of dorsal and palmar right hands, was diminished in seropositive leprosy contacts, on all of 10 ROIs, when compared to healthy subjects ($p < 0.05$). In relation to seronegative leprosy contacts, the temperature was significantly reduced in FD1 ($p=0.001$), FD2 ($p=0.0005$) and FD3 ($p=0.0002$) than healthy subjects. Similar with right hand, the skin temperature of left hand in seropositive leprosy contacts were reduced ($p < 0.05$) in all of 10 regions compared to healthy subjects, while in seronegative leprosy contacts the temperature was also reduced in FD1 ($p=0.007$), FD2 ($p=0.002$) and FD3 ($p=0.007$) when compared with healthy subjects (see Supplementary table 3 and 4).

The averages of temperature difference (ΔT) in the right and left hand between healthy, seropositive and seronegative groups was diminished in FP3 region ($p < 0.05$) when compared between healthy, seropositive and seronegative leprosy contacts. Besides, ΔT of FP2, FP4, FD4 and FP5 was also reduced ($p < 0.05$) in seropositive leprosy contacts than healthy controls (see Supplementary table 5).

We established a threshold to ΔT value considering the average plus upper limit of normality based on healthy group for each ROI, as described in figure 2. After that, we considered an asymmetric point when the temperature of each ROI analyzed was higher than this specific threshold to each ROI.

Table 1 shows the percentage of subjects with temperature difference (ΔT) among ROIs of right and left hand between healthy, seropositive and seronegative leprosy contacts. The presence of two or more points with asymmetry in the ROIs was observed in 4.3% (1/23) healthy subjects, being more prevalent in seropositive leprosy contacts with 81.8% (54/66)

followed by seronegative representing 60.0% (33/55).

In order to further explore the complex interaction among results, the Odds ration (OR) measure was calculated to confirm the association among variables elucidated above with the chance of occurrence of asymmetric temperature between right and left hands to seropositive contacts and seronegative contacts (Table 2). Leprosy contacts with positive results for ELISA anti-PGL-I confer a 99.0-fold greater chances of asymmetric temperature than healthy subjects ($p<0.0001$). In the same way, the chances of asymmetric temperature are increased 33.0-fold in seronegative leprosy contacts than healthy subjects ($p<0.0001$). When we compared seropositive and seronegative contacts, the seroposive presented 3-fold greater chances of asymmetric temperature than seronegative contacts ($p=0.014$).

Among seropositive leprosy contacts who were evaluated by ENMG, 25.7% (17/66) presented neural impairment (sensory and/or motor nerves) in while 81.8% (54/66) presented neural autonomic damage verified by IR thermography. Altogether, the binomial test indicated that thermal asymmetry detects changes in seropositive contacts with higher proportion ($p=0.001$) than ENMG evaluation.

Sensory loss occurs when the subjects do not feel the touch of the green monofilament (0.05g). In this study, 9.0% (11/121) of leprosy contacts showed loss sensory, among them 12.1% (08/66) seropositive leprosy contacts and 5.45% (03/55) seronegative ($p=0.204$). Considering that thermal asymmetry was detected in 71.9% (87/121) leprosy contacts, being 81.8% (54/66) of seropositive leprosy and 60.0% (33/55) of seronegative and comparing the proportions of changes by the two tests (9% vs. 71.9%) through the binominal test, it is noted that IR thermography may detect neural damage with higher proportion than sensory evaluation ($p=0.001$).

It is important to emphasis that 13% (9/66) of seropositive contacts had diagnosis of leprosy during the study development, between them all had neural impairment detected by

EMG and by IR thermography. This proves that in many cases there is potential for the disease to be ongoing and autonomic neural dysfunction may be its initial manifestation.

Discussion

Seropositive and seronegative leprosy contacts showed asymmetric temperature in hands indicating peripheral autonomic neuropathy. The asymmetric temperature increased 26.1-fold chance in seropositive leprosy contacts and 9.6-fold in seronegative compared with healthy subjects. A possible explanation for this finding is the presence of the decrease of sympathetic vasoconstrictor nerves conduction. These nerves are numerous and richly present in arteriovenous anastomoses (AVA) which are localized in human cutaneous circulation areas of glabrous skin (hands), the opening or closing of these AVA can cause substantial changes in skin blood flow. Therefore, the increase of blood flow in AVA promotes significant decrease in skin capillary flow with parallel alterations in skin temperature (36).

This system is anatomically and physiologically symmetrical. For this reason, localized asymmetric temperature changes at the body surface may indicate peripheral autonomic nerve dysfunction (37). We believe that asymmetric temperature at the body surface indicate subclinical autonomic neural dysfunction in asymptomatic leprosy contacts. This dysfunction may occur at the onset of the disease in a subclinical period and subsequently may evolve to sensory and motor lesions slowly (38).

Leprosy contacts present a higher relative risk of almost 6-fold to develop leprosy (14, 16, 17) and conferring 4.04-fold greater chance of neural damage (8). Twenty years ago, studies have already demonstrated autonomic nerve impairment in this group. LASER Doppler velocimetry of microvascular blood flow in hands measured the vasoconstrictor response to an autonomic stimulus, showing abnormal results in 80% of leprosy patients and 50% - 55% of asymptomatic leprosy contacts (21). Furthermore, in the same period, other study demonstrated

that 58% of contacts had some degree of autonomic nerve dysfunction, evidenced by blood flow reduction in hands being higher in asymptomatic leprosy contacts and in hospital contacts than control (39). Corroborating the previous studies, we presented that 58.6% (71/121) of the leprosy contacts showed 3 or more ROIs with temperature asymmetry in hands, indicating subclinical peripheral dysautonomy, being a early impairment of leprosy (38).

There are limitation of laser Doppler flowmetry such as: expensive system, extended application time (21), changes in effect by gender and age, presence of marked callouses and high variability vasomotor reflex and limitation of lower areas to analyze vascular changes. On the other hand, despite some specific points, the thermography is non-invasive, non-ionizing radiation and painless method and it has been receiving credibility and acceptance of thermal analysis in several areas of medicine (24).

To evaluate the impairment of sensory and motor nerves, a potential advantage of using ENMG have been reported to detect neurophysiological impairment in leprosy contacts (8). In the present study, the seropositive contacts were evaluated by ENMG and we observed that 25.7% of this group presented neural impairment. Recently, our research group showed that neural damages detected by ENMG was present in 31.4% of seropositive contacts and in 13.3% of seronegative contacts, conferring 4.04-fold greater chance of neural damage in seropositive contacts. Thereby an algorithm for follow-up of leprosy contacts was created including ENMG to seropositive leprosy contacts (8).

Besides that, it was observed that 12.1% of seropositive and 5.45% of seronegative contacts, respectively, showed loss sensory in hands through the sensory evaluation with Semens-Weinstein monofilaments, showing that sensory damage is not present in most cases. However, there is evidence of peripheral autonomic dysfunction due to the high proportion of altered cases detected by IR thermography when compared with sensory testing. Some studies corroborated this find demonstrating that autonomic dysfunction may be the first sign of

developing leprosy (39-41).

Considering that thermal asymmetry was detected in a highest proportion than the sensory symptoms and sensory nerve conduction, we believe that IR thermography could be used to detect peripheral neuropathy earlier. These results reinforce the importance of epidemiological surveillance and follow-up of leprosy contacts, allowing early recognition of neural impairment in this population.

It is important to emphasize that studies showed peripheral autonomic nerve damage in asymptomatic contacts of leprosy patients, however these ones do not classified the population in seropositive or seronegative contacts with gold standard characterization (20, 21, 42). This is the first study in an endemic area evidencing peripheral autonomic dysfunction in leprosy contacts by IR thermography. It may be the first clinical manifestation of leprosy, and when appropriately recognized may contribute to early diagnosis and treatment of leprosy.

Therefore, according to the global leprosy strategy to reduce the global burden of disease, the development of new tools as based-asymmetry IR thermography protocol in leprosy may detect neural impairment caused by *M. leprae* in seropositive and seronegative contacts, which permit identify individual with autonomic neuropathy more earlier than current analysis. It may contribute to the early leprosy diagnoses combined with current exams. Taking into consideration our findings, we propose an algorithm for the surveillance of leprosy contacts (Figure 3).

In summary, the study highlights that IR thermography may detected temperature asymmetric in hands of seropositive and seronegative leprosy contacts indicating peripheral autonomic dysfunction related to early neural impairment in leprosy. This reinforces the importance of implementation of IR thermography in the epidemiological surveillance of leprosy contacts, preventing the evolution of neural damage and consequently the installation of physical disabilities.

References

1. Britton WJ, Lockwood DN. Leprosy. *Lancet*. 2004;363(9416):1209-19.
2. Scollard DM, Adams LB, Gillis TP, Krahenbuhl JL, Truman RW, Williams DL. The continuing challenges of leprosy. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19(2):338-81.
3. Job CK. Nerve damage in leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1989;57(2):532-9.
4. Scollard DM, Truman RW, Ebenezer GJ. Mechanisms of nerve injury in leprosy. *Clin Dermatol*. 2015;33(1):46-54.
5. Acosta CCD, Dias AA, Rosa TLSA, Batista-Silva LR, Rosa PS, Toledo-Pinto TG, et al. PGL I expression in live bacteria allows activation of a CD206/PPAR γ cross-talk that may contribute to successful *Mycobacterium leprae* colonization of peripheral nerves. *PLoS pathogens*. 2018;14(7):e1007151.
6. Shetty VP, Mehta LN, Antia NH, Irani PF. Teased fibre study of early nerve lesions in leprosy and in contacts, with electrophysiological correlates. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1977;40(7):708-11.
7. Santos DFD, Mendonca MR, Antunes DE, Sabino EFP, Pereira RC, Goulart LR, et al. Revisiting primary neural leprosy: Clinical, serological, molecular, and neurophysiological aspects. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(11):e0006086.
8. Santos DFD, Mendonca MR, Antunes DE, Sabino EFP, Pereira RC, Goulart LR, et al. Molecular, immunological and neurophysiological evaluations for early diagnosis of neural impairment in seropositive leprosy household contacts. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12(5):e0006494.
9. WHO. Global leprosy update, 2017: reducing the disease burden due to leprosy. *Weekly Epidemiological Record* [on-line]. 2018:445-6.
10. Goulart IM, Bernardes Souza DO, Marques CR, Pimenta VL, Goncalves MA, Goulart LR. Risk and protective factors for leprosy development determined by epidemiological

surveillance of household contacts. *Clin Vaccine Immunol.* 2008;15(1):101-5.

11. Araujo S, Rezende MM, Sousa DC, Rosa MR, Santos DC, Goulart LR, et al. Risk-benefit assessment of Bacillus Calmette-Guerin vaccination, anti-phenolic glycolipid I serology, and Mitsuda test response: 10-year follow-up of household contacts of leprosy patients. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2015;48(6):739-45.

12. Goulart LR, Goulart IM. Leprosy pathogenetic background: a review and lessons from other mycobacterial diseases. *Arch Dermatol Res.* 2009;301(2):123-37.

13. 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.* 2004;75(4):310-26.

14. Araujo S, Freitas LO, Goulart LR, Goulart IM. 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.* 2016;63(11):1412-20.

15. Hatta M, van Beers SM, Madjid B, Djumadi A, de Wit MY, Klatser PR. Distribution and persistence of *Mycobacterium leprae* nasal carriage among a population in which leprosy is endemic in Indonesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1995;89(4):381-5.

16. Reis EM, Araujo S, Lobato J, Neves AF, Costa AV, Goncalves MA, et al. *Mycobacterium leprae* DNA in peripheral blood may indicate a bacilli migration route and high-risk for leprosy onset. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(5):447-52.

17. Araujo S, Lobato J, Reis Ede M, Souza DO, Goncalves MA, Costa AV, et al. Unveiling healthy carriers and subclinical infections among household contacts of leprosy patients who play potential roles in the disease chain of transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2012;107 Suppl 1:55-9.

18. Shetty VP, Antia NH, Jacobs JM. The pathology of early leprous neuropathy. *J Neurol Sci.* 1988;88(1-3):115-31.

19. Karanth SS, Springall DR, Lucas S, Levy D, Ashby P, Levene MM, et al. Changes in nerves and neuropeptides in skin from 100 leprosy patients investigated by immunocytochemistry. *J Pathol.* 1989;157(1):15-26.
20. Shetty V, Mehta L, Antia N. Unmyelinated fibres in leprosy neuritis. An ultrastructural study. *Bull Electron Microsc Soc India.* 1978;2:2-5.
21. Wilder-Smith E, Wilder-Smith A, Van Brakel WH, Egger M. Vasomotor reflex testing in leprosy patients, healthy contacts and controls: a cross-sectional study in western Nepal. *Lepr Rev.* 1996;67(4):306-17.
22. Abbot NC, Beck JS, Samson PD, Butlin CR, Bennett PJ, Grange JM. Cold fingers in leprosy. *International journal of leprosy and other mycobacterial diseases.* 1992;60:580-.
23. Gatt A, Formosa C, Cassar K, Camilleri KP, De Raffaele C, Mizzi A, et al. Thermographic patterns of the upper and lower limbs: baseline data. *Int J Vasc Med.* 2015;2015:831369.
24. Ring EF, Ammer K. Infrared thermal imaging in medicine. *Physiol Meas.* 2012;33(3):R33-46.
25. Diakides N, Diakides M, Lupo J, Paul J, Balcerak R. Advances in medical infrared imaging: an update. *Medical infrared imaging: principles and practices.* 2012:1.-.15.
26. Tattersall GJ. Infrared thermography: A non-invasive window into thermal physiology. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology.* 2016;202:78-98.
27. Cunha ACR. Termografia para avaliação do acometimento neural das mãos de pacientes com hanseníase. Uberlândia-MG: Universidade Federal de Uberlândia (UFU); 2016.
28. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods.* 2007;39(2):175-91.

29. Brasil. Diretrizes para vigilância, atenção e eliminação da Hanseníase como problema de saúde pública: manual técnico-operacional. In: Saúde Md, editor. Brasília: Ministério da Saúde Brasília; 2016.
30. Brasil. Diretrizes para vigilância, atenção e controle da hanseníase. In: Saúde Md, editor. Brasília, DF.: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo; 2010. p. 55.
31. RIDLEY D, Jopling W. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *International journal of leprosy*. 1966;34(3):255-73.
32. Lobato J, Costa MP, Reis Ede M, Goncalves MA, Spencer JS, Brennan PJ, et al. Comparison of three immunological tests for leprosy diagnosis and detection of subclinical infection. *Lepr Rev*. 2011;82(4):389-401.
33. Lehman LF, Orsini MBP, Fuzikawa PL, Lima RC, Gonçalves SD. Avaliação neurológica simplificada. *Avaliação neurológica simplificada*1997.
34. Brasil. Cadernos de Prevenção e Reabilitação em Hanseníase. In: Saúde Md, editor. Brasília2008. p. 135.
35. Schwartz R, Elliott R, Goldberg G, Govindan S, Conwell T, Hoekstra P. The american academy of thermology. Guidelines for neuromusculoskeletal thermography. *Thermol Int*. 2006;16:5-9.
36. Charkoudian N. Skin blood flow in adult human thermoregulation: how it works, when it does not, and why. *Mayo Clin Proc*. 2003;78(5):603-12.
37. Uematsu S, Edwin DH, Jankel WR, Kozikowski J, Trattner M. Quantification of thermal asymmetry. Part 1: Normal values and reproducibility. *J Neurosurg*. 1988;69(4):552-5.
38. Garbino JA. O paciente com suspeita de hanseníase primariamente neural. *Hansenologia Internationalis (Online)*. 2007;32(2):203-6.
39. Wilder-Smith E, Wilder-Smith A, Egger M. Peripheral autonomic nerve dysfunction in

asymptomatic leprosy contacts. J Neurol Sci. 1997;150(1):33-8.

40. Van Brakel WH. Peripheral neuropathy in leprosy and its consequences. Lepr Rev. 2000;71 Suppl:S146-53.

41. Illarramendi X, Buhner-Sekula S, Sales AM, Bakker MI, Oliveira A, Nery JA, et al. High prevalence of vasomotor reflex impairment in newly diagnosed leprosy patients. Eur J Clin Invest. 2005;35(10):658-65.

42. Wilder-Smith EP, Wilder-Smith AJ, Nirikko AC. Skin and muscle vasomotor reflexes in detecting autonomic dysfunction in leprosy. Muscle Nerve. 2000;23(7):1105-12.

TABLES

Table 1. Percentage of healthy, seropositive and seronegative LC groups with temperature asymmetry in ten ROIs.

ROI	Healthy (n=23)		Seropositive LC (n=66)		p value ¹	Seronegative LC (n=55)		p value ²
	n	%	n	%		n	%	
0	15	65,2	04	6,0	0.001	08	14,5	0.005
1	07	30,4	08	12,1	0.001	14	25,4	0.019
≥2	01	4,3	54	81,8	0.001	33	60,0	0.993

NOTE: (0): no temperature asymmetric; (1): one ROI with temperature asymmetric; (2) two ROIs with temperature asymmetric. (1) Healthy vs. Seropositive LC. (2) Healthy vs. Seronegative LC. p<0.05.

Table 2. Odds Ratio to thermal asymmetry considering ≥ 2 asymmetric ROIs from healthy vs. seropositive HHC, healthy vs. seronegative HCC and seropositive HHC vs. seronegative HHC.

Groups	p value	ODDS	IC/CI 95%
Healthy vs. Seropositive LC	<0.0001	99.0	12.1 - 807.9
Healthy vs. Seronegative LC	<0.0001	33.0	4.14 – 262.9
Seropositive LC vs. Seronegative LC	0.014	3.0	1.31 – 6.85

Notes: $p < 0.05$ are statistically significant.

FIGURES AND ILLUSTRATIONS

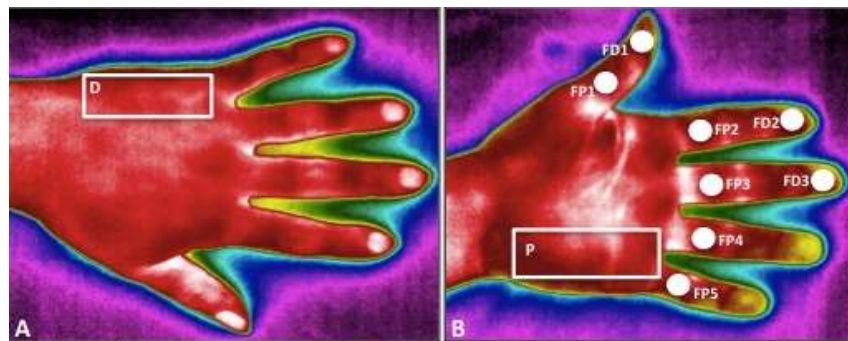


Figure 1. (A) Thermal images with one ROI on the dorsal side and (B) nine ROIs on the dorsal side of the hand: D: dorsal, P: palmar, FP: proximal phalanx and FD: distal phalanx.

ROIs	REGION	ΔT Value ($^{\circ}\text{C}$)
D	dorsal	≥ 1.1
P	palmar	≥ 1.3
FP1	proximal phalanx of thumb	≥ 1.8
FD1	distal phalanx of thumb	≥ 2.8
FP2	proximal phalanx of index	≥ 0.7
FD2	distal phalanx of index	≥ 2.4
FP3	proximal phalanx of middle finger	≥ 0.5
FD3	distal phalanx of middle finger	≥ 1.0
FP4	proximal phalanx of ring	≥ 0.7
FP5	Proximal phalanx of little finger	≥ 1.3

Figure 2. Threshold of ΔT value considering the average plus upper limit of normality based on healthy group for each ROI

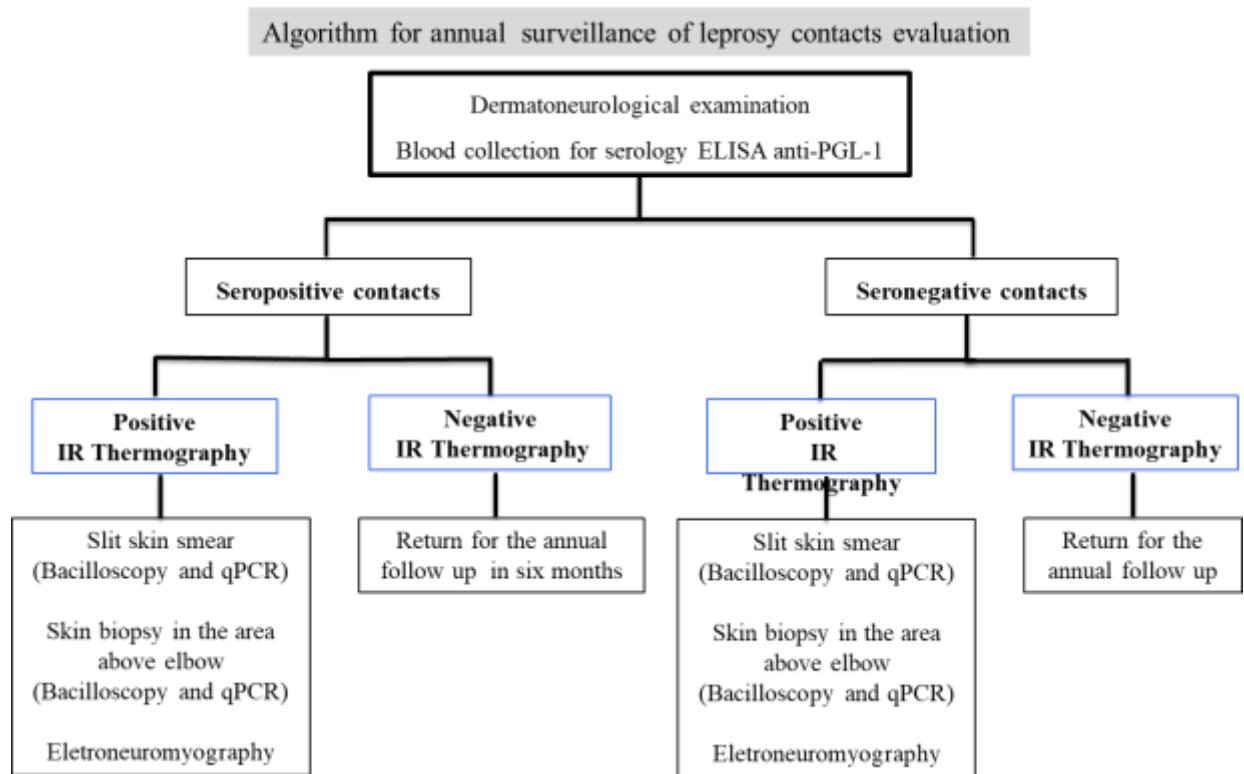


Figure 3: Algorithm for annual household contact evaluation, including IR thermography for seropositive and seronegative leprosy contacts.

SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary table 1 – Epidemiological characteristics and body temperature among control group, seropositive leprosy contacts (LC) and seronegative leprosy contacts

	Healthy (n= 23)	Seropositive LC (n=66)	<i>p</i> value¹	Seronegative LC (n=55)	<i>p</i> value²
Age	40.6 ±11.6	38.5 ±16.5	0.389	37.9 ±14.5	0.357
Gender					
Male	26.1%	27.3%	0.912	31%	0.670
Female	73.9%	72.7%		69%	
Body temperature	35.8 ±0.24	35.8 ±0.19	0.352	35.8 ±0.28	0.367

NOTE: (1) Healthy vs. Seropositive LC. (2) Healthy vs. Seronegative LC. (*) Age and gender:

ANOVA test ($p < 0.05$) (**) Body temperature: binomial test ($p < 0.05$)

Supplementary table 2 – Epidemiological, clinical and laboratory characteristics among the seropositive and seronegative LC.

	Seropositive LC		Seronegative LC		<i>p</i> value
	n=66		n=55		
	n	%	n	%	
Type of contact					
Intradomiciliary	43	65.1	34	61.8	0.7043
Extradomiciliary	23	34.9	21	38.2	
Index Case CO					
Multibacillary	58	87.9	50	90.9	0.5920
Paucibacillary	8	12.1	5	9.1	
Index Case FC					
TT	2	3.0	-	-	
BT	42	63.6	33	60.0	0.6816
BB	1	1.5	-	-	
BL	8	12.1	7	12.7	0.9198
LL	13	19.8	15	27.3	0.4488
BCG Scars					
0	30	45.5	18	32.7	0.1542
1	25	39.3	25	45.4	0.5014
2	11	15.2	12	21.9	0.3438

Notes: ^[L]_[SEP] p<0.05 level ^[L]_[SEP]. Seropositive LC. vs. Seronegative LC . Binomial test

Supplementary table 3: Dorsal and palmar skin temperature of right hand between healthy, seropositive and seronegative leprosy contacts groups.

	Healthy n= 23	Seropositive LC n=66	p value	Seronegative LC n=55	p value
Dorsal					
D1, median [IIQ]	33.6 [33.0-34.6]	32 [31.2-33.0]	0.001¹	32.6 [31.8-33.7]	0.060
Palmar					
P1, median [IIQ]	33.4 [32.8-34.2]	32.5 [31.0-33.7]	0.016¹	32.9 [31.6-33.9]	0.238
FP1, median [IIQ]	34.5 [33.6-35.0]	33.1 [32.1-34.3]	0.0001¹	33.9 [33.0-34.3]	0.377
FD1, average (SD)	32.9 (±1.9)	30.0 (±2.3)	0.0001¹	31.3 (±1.9)	0.010²
FP2, median [IIQ]	34.0 [33.6-35.3]	33.2 [32.2-34.2]	0.010¹	33.9 [32.8-34.7]	0.581
FD2, average (SD)	32.9 (±1.7)	29.7 (±2.0)	0.001¹	31.0 (±1.9)	0.0005²
FP3, median [IIQ]	34.1 [33.7-35.3]	33.2 [32.3-34.2]	0.001²	33.8 [32.8-34.6]	0.232
FD3, average (SD)	33.0 (±1.2)	29.5 (±2.0)	0.0001¹	30.9 (±1.9)	0.0002²
FP4, median [IIQ]	34.0 [33.5-35.1]	33.2 [32.1-34.1]	0.004¹	33.5 [32.5-34.4]	0.338
FP5, median [IIQ]	33.5 [33.1-34.3]	32.5 [31.6-33.7]	0.024¹	33.0 [31.9-34.2]	0.642

Notes: p values in bold font are statistically significant at a $p < 0.05$ level. IQR: Interquartile range. SD: Standard deviation. 1. Temperature difference between Control vs. Seropositive LC. 2. Temperature difference between Control vs. Seronegative LC. Temperature is in Celcius degree (°C)

Supplementary table 4: Dorsal and palmar skin temperature of the left hand between healthy, seropositive and seronegative LC groups.

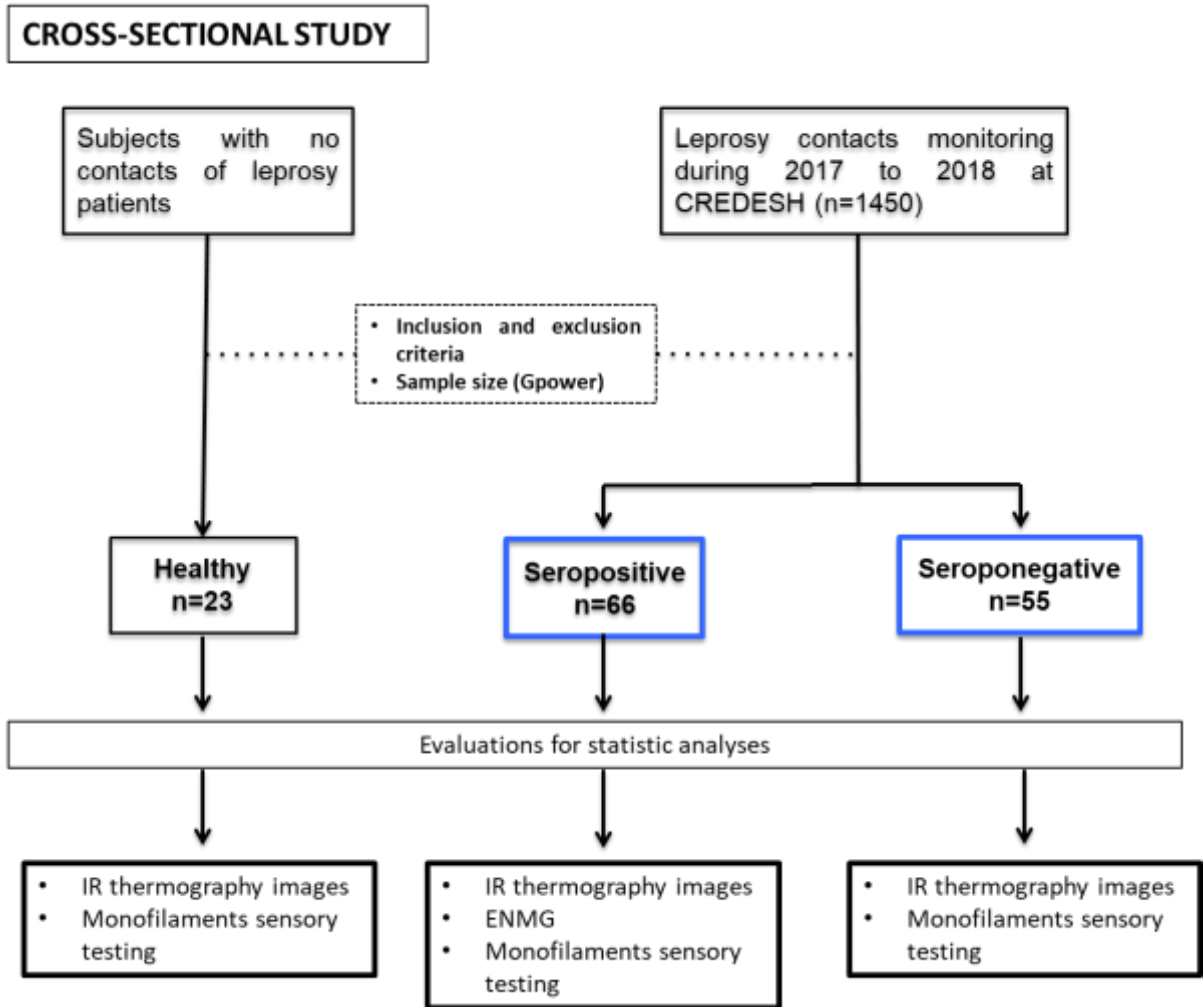
	Healthy n= 23	Seropositive LC n=66	<i>p</i> value	Seronegative LC n=55	<i>p</i> value
Dorsal					
D1, median [IIQ]	33.6 [33.2-34.3]	32.4 [31.5-33.8]	0.012 ¹	32.9 [31.5-33.9]	0.131
Palmar					
P1, median [IIQ]	33.6 [32.5-34.5]	32.3 [30.3-33.6]	0.001 ¹	32.9 [31.7-34.0]	0.257
FP1, median [IIQ]	34.2 [33.6-34.8]	33.1 [32.3-34.0]	0.003 ¹	33.6 [32.7-34.6]	0.494
FD1, median [IIQ]	32.6 [31.7-34.1]	29.6 [28.3-30.5]	0.001 ¹	30.9 [29.8-32.1]	0.007 ²
FP2, median [IIQ]	34.2 [33.6-35.1]	32.8 [31.9-34.1]	0.004 ¹	33.7 [32.7-34.8]	0.405
FD2, average (SD)	33.2 (±1.14)	30.1 (±2.1)	0.001 ¹	31.4 (±2.1)	0.002 ²
FP3, median [IIQ]	34.1 [33.8-35.2]	33.0 [32.2-34.0]	0.002 ¹	33.7 [33.0-34.7]	0.148
FD3, average (SD)	32.8 (±1.1)	29.9 (±2.1)	0.001 ¹	31.2 (±2.1)	0.007 ²
FP4, median [IIQ]	34.0 [33.4-35.1]	32.9 [31.6-33.8]	0.009 ¹	33.5 [32.7-34.4]	0.112
FP5, median [IIQ]	33.4 [33.0-34.9]	31.4 [30.4-33.2]	0.001 ¹	32.9 [31.4-34.3]	0.236

Notes: ^[SEP]p values in bold font are statistically significant at a $p < 0.05$ level^[SEP]. IQR: Interquartile range^[SEP]. SD: Standard deviation^[SEP]. 1. Temperature difference between Healthy vs. Seropositive LC. 2. Temperature difference between Healthy vs. Seronegative LC. Temperature is in Celcius degree (°C)

Supplementary table 5: Temperature difference (ΔT) among right and left hand between healthy, seropositive and seronegative LC groups.

	Healthy n= 23	Seropositive LC n=66	p value	Seronegative LC n=55	p value
Dorsal					
D1, median [IIQ]	0.4 [0.2-0.6]	0.7 [0.1-1.6]	0.267	0.9 [0.5-1.4]	0.041²
Palmar					
P1, average (SD)	0.4 [0.1-0.8]	0.8 [0.4-1.7]	0.140	0.7 [0.2-1.6]	0.704
FP1, average (SD)	0.2 [0.1-0.4]	0.4 [0.2-0.7]	0.335	0.4 [0.2-0.7]	0.423
FD1, average (SD)	0.5 [0.1-1.8]	0.8 [0.4-1.9]	0.999	0.9 [0.4-1.4]	0.999
FP2, median [IIQ]	0.2 [0.1-0.4]	0.4 [0.2-0.7]	0.040¹	0.3 [0.1-0.6]	0.404
FD2, median [IIQ]	0.7 [0.3-2.0]	0.6 [0.3-1.4]	0.999	0.5 [0.2-1.3]	0.999
FP3, median [IIQ]	0.1 [0.07-0.2]	0.3 [0.2-0.5]	0.012¹	0.4 [0.2-0.6]	0.001²
FD3, average (SD)	0.3 [0.0-0.5]	0.4 [0.2-0.9]	0.283	0.5 [0.3-0.9]	0.231
FP4, median [IIQ]	0.2 [0.0-0.5]	0.4 [0.2-0.9]	0.036¹	0.3 [0.1-0.7]	0.807
FP5, average (SD)	0.3 [0.1-0.8]	1.0 [0.4-2.2]	0.005¹	0.5 [0.2-1.5]	0.784

Notes: ^[SEP] p values in bold font are statistically significant at a $p < 0.05$ level^[SEP]. IQR: Interquartile range^[SEP]. SD: Standard deviation. 1. ΔT difference between Healthy vs. Seropositive LC. 2. ΔT difference between Healthy vs. Seronegative LC.



Supplementary figure 1: Cross sectional study design

5 - CONCLUSÕES

A hanseníase é uma doença que apresenta redução da temperatura superficial em mãos, sendo essa redução apresentada de forma assimétrica, indicando disfunção autonômica periférica.

A termografia por infravermelho detectou assimetria de temperatura em mãos de pacientes com hanseníase nas formas clínicas HDT, HDD, HDV e HV. No entanto, os pacientes com a forma clínica HV foram os mais comprometidos, seguidos por HV, HDD e HDT.

Contatos assintomáticos soropositivos e soronegativos para ELISA anti-PGL-I apresentaram padrão assimétrico de temperatura em mãos.

Pacientes com forma clínica BT têm maior chance de apresentar disfunção autonômica periférica do que comprometimento sensitivo e motor.

Em contatos soropositivos, a termografia por infravermelho detectou uma maior proporção de acometimento neural quando comparada com os exames de eletroneuromiografia e avaliação sensitiva por monofilamentos de Semmes-Weinstein.

Os contatos soronegativos apresentaram maior proporção de acometimento neural detectada pela termografia por infravermelho quando comparada com a avaliação sensitiva por monofilamentos de Semmes-Weinstein.

Esse estudo ressalta que a termografia por infravermelho pode detectar temperatura assimétrica nas mãos de pacientes de hanseníase e contatos assintomáticos soropositivos e soronegativos, indicando disfunção autonômica periférica relacionada ao comprometimento neural precoce na hanseníase. Isso demonstra a importância da implementação da termografia por infravermelho no atendimento aos pacientes e na vigilância epidemiológica dos contatos de pacientes com hanseníase, evitando a evolução dos danos neurais e, conseqüentemente, a instalação de incapacidades físicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRAWAL, A. et al. Neurological manifestations of Hansen's disease and their management. *Clinical neurology and neurosurgery*, v. 107, n. 6, p. 445-454, 2005. ISSN 0303-8467. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2005.03.007>

ANBAR, M. Clinical thermal imaging today. *IEEE Eng Med Biol Mag*, v. 17, n. 4, p. 25-33, Jul-Aug 1998. ISSN 0739-5175 (Print). 0739-5175 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9672807> >. <https://doi.org/10.1109/51.687960>

ANDERSON, A. M.; CROFT, R. P. Reliability of Semmes Weinstein monofilament and ballpoint sensory testing, and voluntary muscle testing in Bangladesh. *Lepr Rev*, v. 70, n. 3, p. 305-13, Sep 1999. ISSN 0305-7518 (Print). 0305-7518 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10603720> >. <https://doi.org/10.5935/0305-7518.19990034>

ARAÚJO, M. G. Hanseníase no brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*, v. 36, n. 3, p. 373-82, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822003000300010>

ARAUJO, S. et al. 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*, v. 63, n. 11, p. 1412-1420, Dec 1 2016. ISSN 1537-6591 (Electronic). 1058-4838 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27558564> >. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw570>

ARAUJO, S. et al. qPCR-High resolution melt analysis for drug susceptibility testing of *Mycobacterium leprae* directly from clinical specimens of leprosy patients. *PLoS Negl Trop Dis*, v. 11, n. 6, p. e0005506, Jun 2017. ISSN 1935-2735 (Electronic). 1935-2727 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28570560> >. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005506>

ARAÚJO, S. et al. Unveiling healthy carriers and subclinical infections among household contacts of leprosy patients who play potential roles in the disease chain of transmission. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 107, p. 55-59, 2012. ISSN 0074-0276. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762012000900010&nrm=iso >. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762012000900010>

ARAUJO, S. et al. Risk-benefit assessment of Bacillus Calmette-Guerin vaccination, anti-phenolic glycolipid I serology, and Mitsuda test response: 10-year follow-up of household contacts of leprosy patients. *Rev Soc Bras Med Trop*, v. 48, n. 6, p. 739-45, Nov-Dec 2015. ISSN 1678-9849 (Electronic). 0037-8682 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26676499> >. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0245-2015>

BARBIERI, R. R. et al. Quantitative polymerase chain reaction in paucibacillary leprosy diagnosis: A follow-up study. *PLoS Negl Trop Dis*, v. 13, n. 3, p. e0007147, Mar 2019. ISSN 1935-2735 (Electronic). 1935-2727 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30835722> >. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007147>

BRASIL. Diretrizes para vigilância, atenção e eliminação da hanseníase como problema de saúde pública: manual técnico-operacional SAÚDE, M. D. Brasília. 2019 2016.
<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/fevereiro/04/diretrizes-eliminacao-hanseniasi-4fev16-web.pdf>

BRIOSCHI, M.; COLMAN, D.; MELLO NETO, H. Fusing IR and magnetic resonance (MR) image. *J Korean Med Thermol*, v. 2, n. 1, p. 57-8, 2002.

BRIOSCHI, M. L. Metodologia de Normalização de Análise do Campo de Temperaturas em Imagem Infravermelha Humana. 2011. 115 (Doutorado). Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Curitiba, Curitiba.

CHARKOUDIAN, N. Skin blood flow in adult human thermoregulation: how it works, when it does not, and why. *Mayo Clinic Proceedings*, 2003, Elsevier. p.603-612.
<https://doi.org/10.4065/78.5.603>

CHARKOUDIAN, N. Skin blood flow in adult human thermoregulation: how it works, when it does not, and why. *Mayo Clin Proc*, v. 78, n. 5, p. 603-12, May 2003. ISSN 0025-6196 (Print) 0025-6196 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12744548> >.
<https://doi.org/10.4065/78.5.603>

CHAURASIA, R. et al. Nerve conduction studies in paucibacillary and multibacillary leprosy: a comparative evaluation. *Indian journal of Leprosy*, v. 83, n. 1, p. 15-22, 2011. ISSN 0254-9395.

DESIKAN, K. V.; SREEVATSA. Extended studies on the viability of *Mycobacterium leprae* outside the human body. *Lepr Rev*, v. 66, n. 4, p. 287-95, Dec 1995. ISSN 0305-7518 (Print) 0305-7518 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8637382> >.
<https://doi.org/10.5935/0305-7518.19950032>

DOUGLAS, J. T. et al. Prospective study of serological conversion as a risk factor for development of leprosy among household contacts. *Clin Diagn Lab Immunol*, v. 11, n. 5, p. 897-900, Sep 2004. ISSN 1071-412X (Print) 1071-412X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15358649> >.
<https://doi.org/10.1128/CDLI.11.5.897-900.2004>

DUTHIE, M. S. et al. Use of Protein Antigens for Early Serological Diagnosis of Leprosy. *Clinical and Vaccine Immunology*, v. 14, n. 11, p. 1400-1408, 2007. Disponível em: < <https://cvi.asm.org/content/cdli/14/11/1400.full.pdf> >.
<https://doi.org/10.1128/CDLI.11.5.897-900.2004>

DUTHIE, M. S. et al. A rapid ELISA for the diagnosis of MB leprosy based on complementary detection of antibodies against a novel protein-glycolipid conjugate. *Diagn Microbiol Infect Dis*, v. 79, n. 2, p. 233-9, Jun 2014. ISSN 1879-0070 (Electronic) 0732-8893 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24666703> >.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.02.006>

FREEDMAN, V. H.; WEINSTEIN, D. E.; KAPLAN, G. How *Mycobacterium leprae* infects peripheral nerves. *Lepr Rev*, v. 70, n. 2, p. 136-9, Jun 1999. ISSN 0305-7518 (Print)

0305-7518 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10464432> >. <https://doi.org/10.5935/0305-7518.19990017>

GARBINO, J. et al. Hanseníase neural primária. Projeto Diretrizes (AMBCFM), p. 1-26, 2011.

GARBINO, J. A. O paciente com suspeita de hanseníase primariamente neural. *Hansenologia Internationalis (Online)*, v. 32, n. 2, p. 203-206, 2007. ISSN 1982-5161.

GATT, A. et al. Thermographic patterns of the upper and lower limbs: baseline data. *Int J Vasc Med*, v. 2015, p. 831369, 2015. ISSN 2090-2824 (Print) 2090-2824 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25648145> >.

GOULART, I. M. et al. Risk and protective factors for leprosy development determined by epidemiological surveillance of household contacts. *Clin Vaccine Immunol*, v. 15, n. 1, p. 101-5, Jan 2008. ISSN 1556-679X (Electronic). 1556-679X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17989339> >. <https://doi.org/10.1128/CVI.00372-07>

GOULART, I. M. et al. Detection of transforming growth factor-beta 1 in dermal lesions of different clinical forms of leprosy. *Am J Pathol*, v. 148, n. 3, p. 911-7, Mar 1996. ISSN 0002-9440 (Print). 0002-9440 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8774145> >. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8774145>

GOULART, I. M.; GOULART, L. R. Leprosy: diagnostic and control challenges for a worldwide disease. *Arch Dermatol Res*, v. 300, n. 6, p. 269-90, Jul 2008. ISSN 1432-069X (Electronic). 0340-3696 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18461340> >. <https://doi.org/10.1007/s00403-008-0857-y>

GOULART, I. M. B. et al. Asymptomatic Leprosy Infection among Blood Donors May Predict Disease Development and Suggests a Potential Mode of Transmission. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 53, n. 10, p. 3345-3348, 2015. Disponível em: < <https://jcm.asm.org/content/jcm/53/10/3345.full.pdf> >. <https://doi.org/10.1128/JCM.01305-15>

HACKER, M. D. A. et al. Characteristics of leprosy diagnosed through the surveillance of contacts: a comparison with index cases in Rio de Janeiro, 1987-2010. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 107, p. 49-54, 2012. ISSN 0074-0276. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762012000900009&nrm=iso >. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762012000900009>

HERRICK, R. T.; HERRICK, S. K. Thermography in the detection of carpal tunnel syndrome and other compressive neuropathies. *J Hand Surg Am*, v. 12, n. 5 Pt 2, p. 943-9, Sep 1987. ISSN 0363-5023 (Print). 0363-5023 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3655269> >. [https://doi.org/10.1016/S0363-5023\(87\)80262-9](https://doi.org/10.1016/S0363-5023(87)80262-9)

HILDEBRANDT, C.; RASCHNER, C.; AMMER, K. An overview of recent application of

medical infrared thermography in sports medicine in Austria. *Sensors*, v. 10, n. 5, p. 4700-4715, 2010.

<https://doi.org/10.3390/s100504700>

JIANG, L. et al. A perspective on medical infrared imaging. *Journal of medical engineering & technology*, v. 29, n. 6, p. 257-267, 2005. ISSN 0309-1902. <https://doi.org/10.1080/03091900512331333158>

LAWSON, R. Implications of surface temperatures in the diagnosis of breast cancer. *Canadian Medical Association Journal*, v. 75, n. 4, p. 309, 1956.

LEHMAN, L. F. et al. Avaliação neurológica simplificada. In: (Ed.). *Avaliação neurológica simplificada*, 1997.

LEITE, S. N. et al. Avaliação sensitiva de hansenianos pelos monofilamentos semmes-weinstein em serviço terciário de fisioterapia. *Hansenologia Internationalis (Online)*, v. 35, n. 2, p. 9-15, 2010. ISSN 1982-5161.

LEVY, A. et al. A new thermography-based approach to early detection of cancer utilizing magnetic nanoparticles theory simulation and in vitro validation. *Nanomedicine*, v. 6, n. 6, p. 786-96, Dec 2010. ISSN 1549-9642 (Electronic). 1549-9634 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20620238> >.

<https://doi.org/10.1016/j.nano.2010.06.007>

LOBATO, J. et al. Comparison of three immunological tests for leprosy diagnosis and detection of subclinical infection. *Lepr Rev*, v. 82, n. 4, p. 389-401, Dec 2011. ISSN 0305-7518 (Print). 0305-7518 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22439279> >.

<https://doi.org/10.47276/lr.82.4.389>

LOCKWOOD, D. N.; SAUNDERSON, P. R. Nerve damage in leprosy: a continuing challenge to scientists, clinicians and service providers. *Int Health*, v. 4, n. 2, p. 77-85, Jun 2012. ISSN 1876-3405 (Electronic). 1876-3405 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24029146> >.

<https://doi.org/10.1016/j.inhe.2011.09.006>

MANZANO, G. M.; GIULIANO, L. M.; NOBREGA, J. A. A brief historical note on the classification of nerve fibers. *Arq Neuropsiquiatr*, v. 66, n. 1, p. 117-9, Mar 2008. ISSN 0004-282X (Print). 0004-282X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18392435> >.

<https://doi.org/10.1590/S0004-282X2008000100033>

MARTINEZ, T. S. et al. Oral mucosa as a source of *Mycobacterium leprae* infection and transmission, and implications of bacterial DNA detection and the immunological status. *Clin Microbiol Infect*, v. 17, n. 11, p. 1653-8, Nov 2011. ISSN 1469-0691 (Electronic). 1198-743X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21199152> >.

<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03453.x>

MATSUMURA, K. et al. A role of dystroglycan in schwannoma cell adhesion to laminin. *J Biol Chem*, v. 272, n. 21, p. 13904-10, May 23 1997. ISSN 0021-9258 (Print). 0021-9258

(Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9153251> >.
<https://doi.org/10.1074/jbc.272.21.13904>

MENDIRATTA, V.; KHAN, A.; JAIN, A. Primary neuritic leprosy: a reappraisal at a tertiary care hospital. *Indian J Lepr*, v. 78, n. 3, p. 261-7, Jul-Sep 2006. ISSN 0254-9395 (Print) 0254-9395 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17120509> >.

MERLA, A. et al. Thermal imaging of cutaneous temperature modifications in runners during graded exercise. *Annals of biomedical engineering*, v. 38, n. 1, p. 158-163, 2010. ISSN 0090-6964.
<https://doi.org/10.1007/s10439-009-9809-8>

NASCIMENTO, O. J. Leprosy neuropathy: clinical presentations. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, v. 71, n. 9B, p. 661-666, 2013. ISSN 0004-282X.
<https://doi.org/10.1590/0004-282X20130146>

NIEHOF, S. S. Video thermography: complex regional pain syndrome in the picture. 2007.

OPROMOLLA, D. V.; URA, S. Atlas de hanseníase. Bauru-SP: Instituto Lauro de Souza Lima, 2002.

PATROCINIO, L. G. et al. Detection of *Mycobacterium leprae* in nasal mucosa biopsies by the polymerase chain reaction. *FEMS Immunol Med Microbiol*, v. 44, n. 3, p. 311-6, Jun 1 2005. ISSN 0928-8244 (Print). 0928-8244 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15907454> >.
<https://doi.org/10.1016/j.femsim.2005.01.002>

RAMBUKKANA, A. Molecular basis for the peripheral nerve predilection of *Mycobacterium leprae*. *Curr Opin Microbiol*, v. 4, n. 1, p. 21-7, Feb 2001. ISSN 1369-5274 (Print). 1369-5274 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11173029> >.
[https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(00\)00159-4](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(00)00159-4)

REINAR, L. M. et al. Interventions for skin changes caused by nerve damage in leprosy. *Sao Paulo Medical Journal*, v. 131, p. 210-210, 2013. ISSN 1516-3180. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-31802013000300210&nrm=iso >.
<https://doi.org/10.1590/1516-3180.20131313T2>

RIDLEY, D.; JOPLING, W. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *International journal of leprosy*, v. 34, n. 3, p. 255-73, 1966. ISSN 0148-916X.

RING, E.; AMMER, K. The technique of infrared imaging in medicine. *Thermology international*, v. 10, n. 1, p. 7-14, 2000.

ROBERTS, A. E. et al. Ensuring inter-tester reliability of voluntary muscle and monofilament sensory testing in the INFIR Cohort Study. *Lepr Rev*, v. 78, n. 2, p. 122-30, Jun 2007. ISSN 0305-7518 (Print). 0305-7518 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17824482> >.

ROMANOVSKY, A. A. Skin temperature: its role in thermoregulation. *Acta Physiol (Oxf)*, v. 210, n. 3, p. 498-507, Mar 2014. ISSN 1748-1716 (Electronic). 1748-1708 (Linking).

Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24716231> >.
<https://doi.org/10.1111/apha.12231>

ROY, R. A.; BOUCHER, J. P.; COMTOIS, A. S. Digitized infrared segmental thermometry: time requirements for stable recordings. *Journal of manipulative and physiological therapeutics*, v. 29, n. 6, p. 468. e1-468. e10, 2006. ISSN 0161-4754.
<https://doi.org/10.1016/j.jmpt.2006.06.007>

SABIN, T. D.; SWIFT, T. R.; JACOBSON, R. R. *Peripheral neuropathy*. 4. Philadelphia: 2005.

SANCHES, I. J. *Sobreposição de imagens de termografia e ressonância magnética: uma nova modalidade de imagem médica tridimensional*. 2009.

SANTOS, D. F. D. et al. Molecular, immunological and neurophysiological evaluations for early diagnosis of neural impairment in seropositive leprosy household contacts. *PLoS Negl Trop Dis*, v. 12, n. 5, p. e0006494, May 2018. ISSN 1935-2735 (Electronic). 1935-2727 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29782495> >.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006494>

SAÚDE, M. D. DATASUS. *Informação em Saúde. Epidemiológica e morbidade.*, www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0203&id=31032752 2017. Acesso em: 25/06/2019.

SCHAEFER, G.; ZÁVIŠEK, M.; NAKASHIMA, T. Thermography based breast cancer analysis using statistical features and fuzzy classification. *Pattern Recognition*, v. 42, n. 6, p. 1133-1137, 2009. ISSN 0031-3203.
<https://doi.org/10.1016/j.patcog.2008.08.007>

SCHWARTZ, R. et al. The american academy of thermology. Guidelines for neuromusculoskeletal thermography. *Thermol Int*, v. 16, p. 5-9, 2006.

SCOLLARD, D. M. Association of *Mycobacterium leprae* with human endothelial cells in vitro. *Lab Invest*, v. 80, n. 5, p. 663-9, May 2000. ISSN 0023-6837 (Print). 0023-6837 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10830776> >.
<https://doi.org/10.1038/labinvest.3780069>

SCOLLARD, D. M. et al. The continuing challenges of leprosy. *Clin Microbiol Rev*, v. 19, n. 2, p. 338-81, Apr 2006. ISSN 0893-8512 (Print). 0893-8512 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16614253> >.
<https://doi.org/10.1128/CMR.19.2.338-381.2006>

SCOLLARD, D. M.; TRUMAN, R. W.; EBENEZER, G. J. Mechanisms of nerve injury in leprosy. *Clin Dermatol*, v. 33, n. 1, p. 46-54, Jan-Feb 2015. ISSN 1879-1131 (Electronic). 0738-081X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25432810> >.
<https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2014.07.008>

SHEPARD, C. C.; MCRAE, D. H. A method for counting acid-fast bacteria. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*, v. 36, n. 1, p. 78-82, Jan-Mar 1968. ISSN 0148-916X (Print) 0148-916X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4869698> >.

SHETTY, V.; MEHTA, L.; ANTIA, N. Unmyelinated fibres in leprosy neuritis. An ultrastructural study. Bull Electron Microsc Soc India, v. 2, p. 2-5, 1978.

SHETTY, V. P.; ANTIA, N. H.; JACOBS, J. M. The pathology of early leprosy neuropathy. J Neurol Sci, v. 88, n. 1-3, p. 115-31, Dec 1988. ISSN 0022-510X (Print). 0022-510X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2852213> >. [https://doi.org/10.1016/0022-510X\(88\)90210-9](https://doi.org/10.1016/0022-510X(88)90210-9)

SHETTY, V. P. et al. Teased fibre study of early nerve lesions in leprosy and in contacts, with electrophysiological correlates. J Neurol Neurosurg Psychiatry, v. 40, n. 7, p. 708-11, Jul 1977. ISSN 0022-3050 (Print). 0022-3050 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/915516> >. <https://doi.org/10.1136/jnmp.40.7.708>

SOULEN, R. L. et al. Angiography, ultrasound, and thermography in the study of peripheral vascular disease. Radiology, v. 105, n. 1, p. 115-9, Oct 1972. ISSN 0033-8419 (Print). 0033-8419 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5057292> >. <https://doi.org/10.1148/105.1.5>

SOUZA, C. S. Hanseníase: formas clínicas e diagnóstico diferencial. Medicina, v. 30, p. 334, 1997 1997. <https://doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v30i3p325-334>

TATTERSALL, G. J. Infrared thermography: A non-invasive window into thermal physiology. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, v. 202, p. 78-98, 2016. ISSN 1095-6433. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.02.022>

THANGARAJ, R.; YAWALKAR, S. Leprosy for Medical Practitioners and Paramedical Workers. Basle: Novertis Foundation for Sustainable Development, 1988. 132.

UEMATSU, S. et al. Quantification of thermal asymmetry. Part 1: Normal values and reproducibility. J Neurosurg, v. 69, n. 4, p. 552-5, Oct 1988. ISSN 0022-3085 (Print). 0022-3085 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3418388> >. <https://doi.org/10.3171/jns.1988.69.4.0552>

VAN BRAKEL, W. H. Peripheral neuropathy in leprosy and its consequences. Lepr Rev, v. 71 Suppl, p. S146-53, Dec 2000. ISSN 0305-7518 (Print). 0305-7518 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11201872> >. <https://doi.org/10.5935/0305-7518.20000086>

VAN BRAKEL, W. H. et al. Functional sensibility of the hand in leprosy patients. Lepr Rev, v. 68, n. 1, p. 25-37, Mar 1997. ISSN 0305-7518 (Print). 0305-7518 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9121329> >. <https://doi.org/10.5935/0305-7518.19970005>

VAN BRAKEL, W. H.; KHAWAS, I. B. Silent neuropathy in leprosy: an epidemiological description. Lepr Rev, v. 65, n. 4, p. 350-60, Dec 1994. ISSN 0305-7518 (Print). 0305-7518 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7861921> >. <https://doi.org/10.5935/0305-7518.19940036>

VAN BRAKEL, W. H. et al. Intra- and inter-tester reliability of sensibility testing in leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*, v. 64, n. 3, p. 287-98, Sep 1996. ISSN 0148-916X (Print). 0148-916X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8862263> >.

VAN BRAKEL, W. H. et al. The INFIR Cohort Study: assessment of sensory and motor neuropathy in leprosy at baseline. *Lepr Rev*, v. 76, n. 4, p. 277-95, Dec 2005. ISSN 0305-7518 (Print). 0305-7518 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16411508> >.
<https://doi.org/10.47276/lr.76.4.277>

VAN BRAKEL, W. H. et al. International workshop on neuropathology in leprosy--consensus report. *Lepr Rev*, v. 78, n. 4, p. 416-33, Dec 2007. ISSN 0305-7518 (Print). 0305-7518 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18309718> >.
<https://doi.org/10.47276/lr.78.4.416>

VARGAS, J. et al. Normalized methodology for medical infrared imaging. *Infrared Physics & Technology*, v. 52, n. 1, p. 42-47, 2009. ISSN 1350-4495.
<https://doi.org/10.1016/j.infrared.2008.11.003>

VITAL, R. T. et al. Progression of leprosy neuropathy: a case series study. *Brain and behavior*, v. 2, n. 3, p. 249-255, 2012. ISSN 2162-3279.
<https://doi.org/10.1002/brb3.40>

WHO. Global leprosy situation, 2007. *Wkly Epidemiol Rec*, v. 82, n. 25, p. 225-32, Jun 22 2007. ISSN 0049-8114 (Print). 0049-8114 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17585406> >.

WILDER-SMITH, A.; WILDER-SMITH, E. Electrophysiological evaluation of peripheral autonomic function in leprosy patients, leprosy contacts and controls. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*, v. 64, n. 4, p. 433-40, Dec 1996. ISSN 0148-916X (Print) 0148-916X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9030110> >.

WILDER-SMITH, E.; WILDER-SMITH, A.; EGGER, M. Peripheral autonomic nerve dysfunction in asymptomatic leprosy contacts. *J Neurol Sci*, v. 150, n. 1, p. 33-8, Sep 1 1997. ISSN 0022-510X (Print) 0022-510X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9260855> >.
[https://doi.org/10.1016/S0022-510X\(97\)05363-X](https://doi.org/10.1016/S0022-510X(97)05363-X)

WILDER-SMITH, E. et al. Vasomotor reflex testing in leprosy patients, healthy contacts and controls: a cross-sectional study in western Nepal. *Lepr Rev*, v. 67, n. 4, p. 306-17, Dec 1996. ISSN 0305-7518 (Print) 0305-7518 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9033201> >.
<https://doi.org/10.5935/0305-7518.19960031>

WILDER-SMITH, E. P.; VAN BRAKEL, W. H. Nerve damage in leprosy and its management. *Nature Reviews Neurology*, v. 4, n. 12, p. 656, 2008. ISSN 1759-4766.
<https://doi.org/10.1038/ncpneuro0941>

ZONTAK, A. et al. Dynamic thermography: analysis of hand temperature during exercise.

ANEXOS

ANEXO A – Comprovante de aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO NEUROLÓGICA AMPLIADA PARA DIAGNOSTICO PRECOCE DO DANO NEURAL EM PACIENTES COM HANSEÍASE E CONTATOS DOMICILIARES.

Pesquisador: ISABELA MARIA BERNARDES GOULART

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 82089317.8.0000.5152

Instituição Proponente: Universidade Federal de Uberlândia/ UFU/ MG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.570.178

Situação do Parecer:

Aprovado

ANEXO B - Avaliação neurológica simplificada




Avaliação simplificada das funções neurais e complicações

Nome _____ Data nasc. ____/____/____
 Nº Prontuário _____ Data diag: ____/____/____ Data alta: ____/____/____ Ocupação _____
 Unidade _____ Município _____ EST _____
 Forma Clínica: PB () MB () - I () T () D () V () Tla: PQT () ROM () Outros: _____

Face	1ª / /	2ª / /	3ª / /
Nariz	D	E	D E
Queixa principal			
Ressacramento (S/N)			
Furto (S/N)			
Perfuração de septo (S/N)			
Olhos	D	E	D E
Queixa principal			
Fecha olhos a/ força (mm)			
Fecha olhos c/ força (mm)			
Tiquiase (S/N) / Ectrópio (S/N)			
Dimin. sensib. córnea (S/N)			
Opacidade córnea (S/N)			
Catarata (S/N)			
Acuidade Visual			




Membros superiores	1ª / /	2ª / /	3ª / /
Queixa principal			
Palpação de nervos	D	E	D E
Ulnar			
Mediano			
Radial			

Legenda: N = normal E = espessado D = dor

Avaliação da força	1ª / /	2ª / /	3ª / /
	D	E	D E
Abir dedo mínimo Abdução do 5º dedo (nervo ulnar)			
Elevar o polegar Abdução do polegar (nervo mediano)			
Elevar o punho Extensão de punho (nervo radial)			

Legenda: F=Força 0=Diminuída P=Paralisado ou 5=Força, 4=Resistência Parcial, 3=Movimento completo, 2=Movimento Parcial, 1=Contração, 0=Paralisado

Inspecção e avaliação sensitiva

1ª / /	2ª / /	3ª / /
D	E	D E
		



Legenda: Carotenfilamento: não (g); Sente ✓ Não sente X ou Morfolamentos: segur cones

Garra móvel: M Garra rígida: R Reabsorção: ■■■■ Ferida: □

() Ficha extraída do Manual de Prevenção de Incapacidades, MS, 2001 e adaptada por Marciano, LRSC e NARDI, SMT em julho de 2006




Membros inferiores	1ª / /	2ª / /	3ª / /
Queixa principal			
Palpação de nervos	D E	D E	D E
Fibular			
Tibial posterior			

Legenda: N = normal E = espessado D = dor

Avaliação da força	1ª / /	2ª / /	3ª / /
	D E	D E	D E
Elevar o hálux Extensão de hálux (nervo fibular) 			
Elevar o pé Dorsiflexão de pé (nervo fibular) 			

Legenda: F=Forte D=Diminuída P=Paralisado ou 5=Forte, 4=Resistência Parcial, 3=Movimento completo, 2=Movimento Parcial, 1=Contração, 0=Paralisado

Inspeção e avaliação sensitiva

1ª / /	2ª / /	3ª / /
D E	D E	D E
		

Legenda: Caneta/filamento lilás(2g): Sente ✓ Não sente X ou Monofilamentos: seguir cores

Garra móvel: M Garra rígida: R Reabsorção:  Ferida: 

Classificação do grau de incapacidade (OMS)

DATA DA AVALIAÇÃO	OLHOS		MÃOS		PÉS		MAIOR GRAU	EHF	ASSINATURA
	D	E	D	E	D	E			
Aval. diagnóstico / /									
Aval. de alta / /									

Legenda para preenchimento do grau de incapacidades

GRAU	CARACTERÍSTICAS
0	Nenhum problema com os olhos, mãos e pés devido à Hanseníase.
1	Diminuição ou perda da sensibilidade nos olhos. Diminuição ou perda da sensibilidade nas mãos e /ou pés. (não sente 2g ou toque da caneta)
2	Olhos: lagofalmo e/ou ectrópio; triquíase; opacidade corneana central; acuidade visual menor que 0,1 ou não conta dedos a 6m. Mãos: lesões tróficas e/ou lesões traumáticas; garras; reabsorção; mão caída. Pés: lesões tróficas e/ou traumáticas; garras; reabsorção; pé caído; contratura do tornozelo.

Monofilamentos

COR	Gramas
Verde	0,05
Azul	0,2
Lilás	2,0
Verm. Fechado	4,0
Verm. Cruzado	10,0
Verm. Aberto	300,0
Preto	s/resposta

APÊNDICES

APÊNDICE A – Desenho do estudo do ARTIGO 1

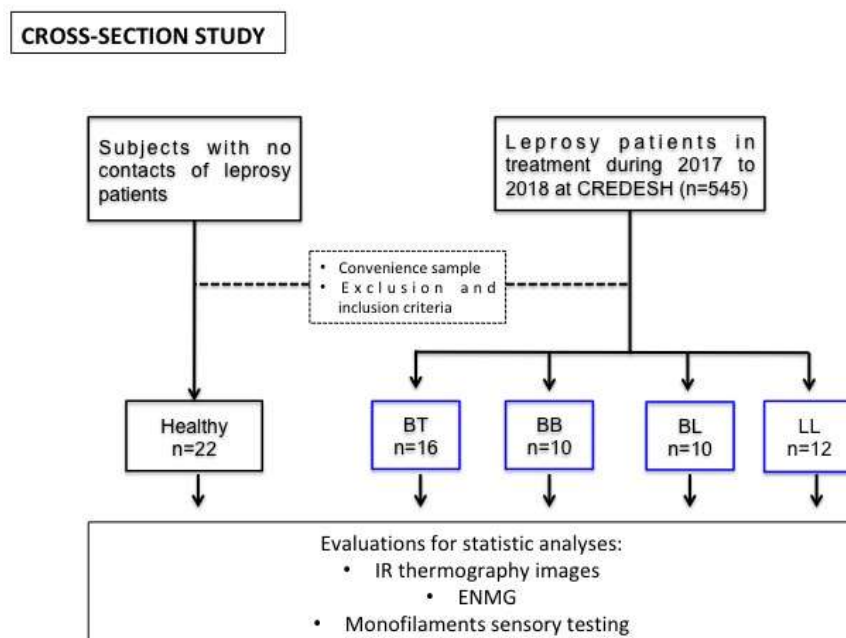


Figure 1: Cross section study design. BT=bordeline tuberculoid, BB: mid-bordeline, BL: bordeline lepromatous, LL: lepromatous.

APÊNDICE B – Desenho do Estudo ARTIGO 2

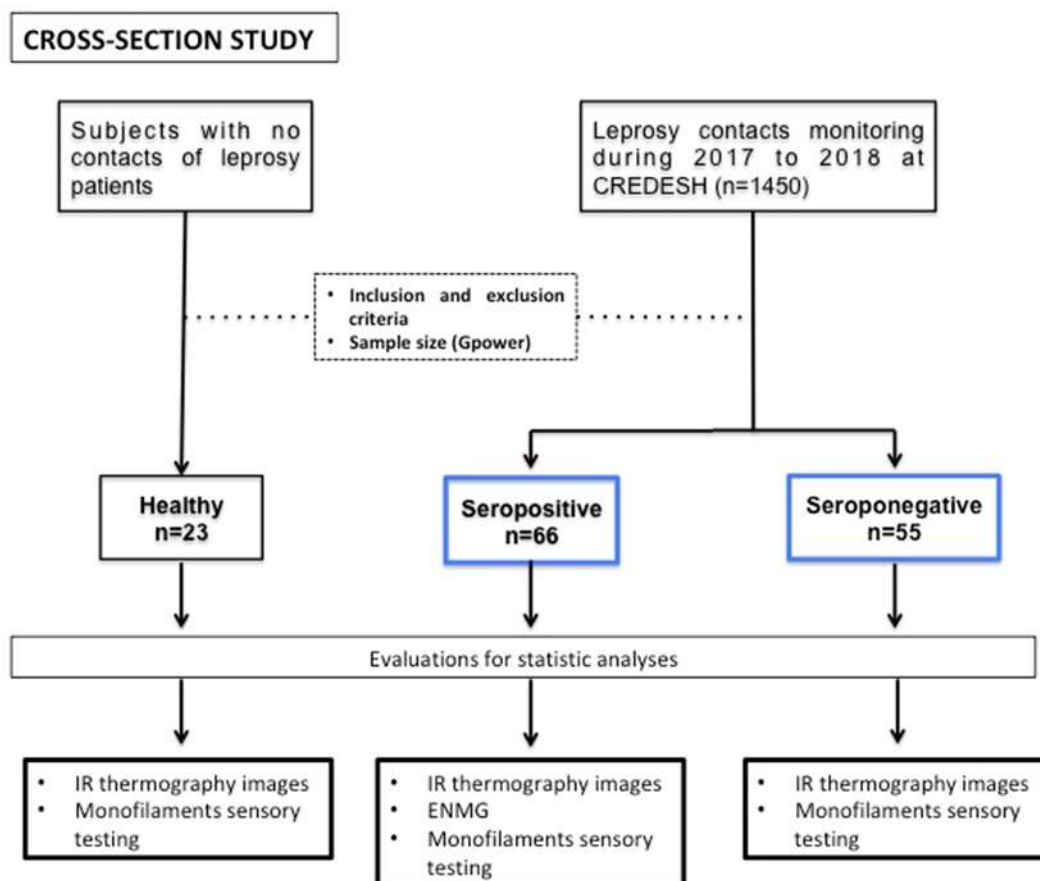


Figure 1: Cross section study design.

APÊNDICE C – Algoritmo para vigilância epidemiológica de contatos de hanseníse do ARTIGO 3

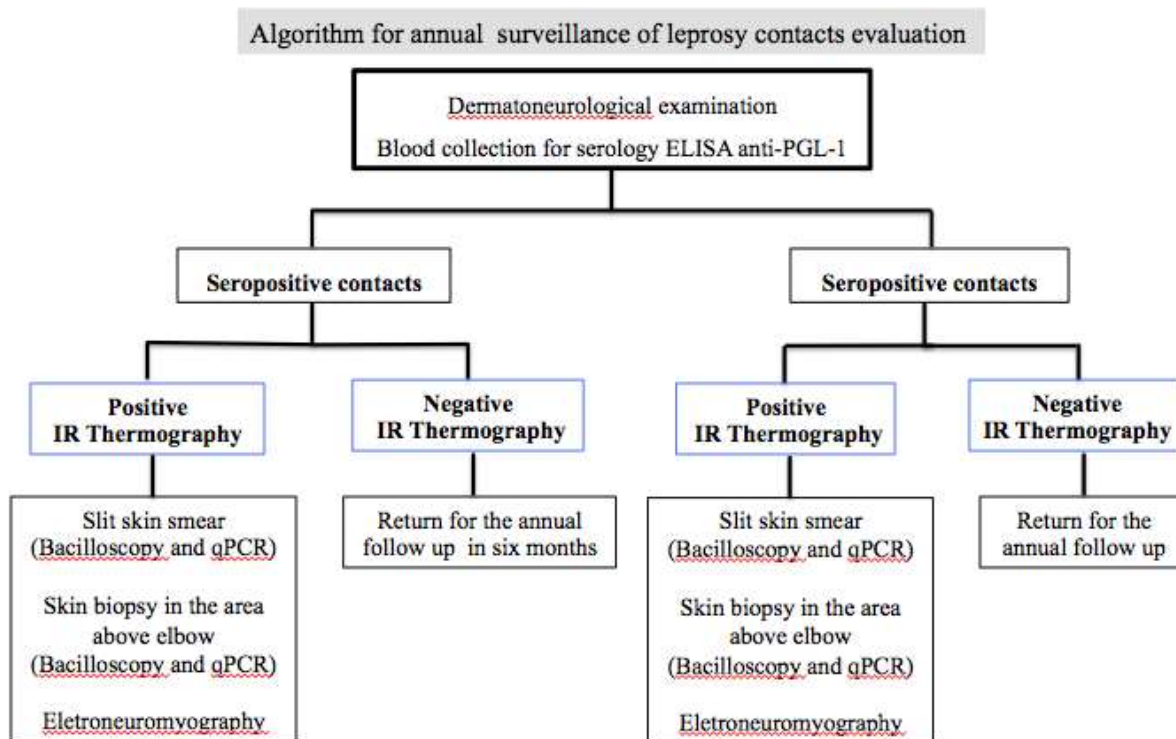


Figure 4: Algorithm for annual household contact evaluation, including IR thermography for seropositive and seronegative leprosy contacts.

APÊNDICE D - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Você está sendo convidado (a) para participar da pesquisa intitulada “Avaliação sorológica, molecular, termográfica e eletroneuromiográfica de pacientes e contatos de hanseníase”, sob a responsabilidade dos pesquisadores Dra. Isabela Maria Bernardes Goulart, Enfermeira: Dulcinéia Dias, Fisioterapeuta Elaine Fávaro Pípi Sabino e Dr. Diogo Fernandes Santos. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será entregue ao paciente antes das intervenções para leitura e assinatura caso aceite participar. Na sua participação você deverá ficar em uma sala com ar condicionado por 15 minutos para que a temperatura corporal se estabilize e será realizado uma entrevista previa antes de serem registradas as imagens, em seguida responderá perguntas relacionadas ao questionário de atendimento já utilizado pelo CREDESH da ficha de avaliação de PI, o qual serão testados 13 pontos de sensibilidade nas duas regiões das mãos. Não terá nenhum procedimento invasivo com cortes ou agulhas. As imagens obtidas serão apagadas da câmera após o término da pesquisa. Em nenhum momento seu nome será citado você será identificado, serão cadastrados os indivíduos através de números. Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a sua identidade será preservada. Você não terá nenhum gasto e ganho financeiro por participar na pesquisa. A estimativa de risco é mínima para o paciente, sendo essa a de identificação, por se tratar de exames não invasivos. O benefício é que não haverá custo para o paciente e eles terão oportunidade de realizar uma avaliação de sensibilidade com maior número de pontos e exame termográfico que não estão disponíveis na rede pública sem custo algum. Serão distribuídos vale transporte para deslocamento até o posto de saúde para comparecerem nos dias de aferição das imagens e serão fornecidas também refeições caso necessário, pela casa de apoio do CREDESH. Você é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem nenhum prejuízo ou coação. Uma via original deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com você.

Qualquer dúvida a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com: Dra. Isabela Maria Bernardes Goulart e Elaine Fávaro Pípi Sabino - CREDESH. Av. Aspirante Mega n.77. (34) 3216-7872.

Poderá também entrar em contato com o Comitê de Ética na Pesquisa com Seres-Humanos - Universidade Federal de Uberlândia: Rua Capricórnio, 94, Jardim Brasília - Uberlândia -MG, CEP: 38401-404.

Uberlândia, ___ de _____ de 2018.

Sujeito da pesquisa: