

Perfil de anticorpos anti-PGL-1 em indivíduos saudáveis de áreas endêmicas para a hanseníase do Estado do Pará, Brasil*

Profile of anti-PGL-1 antibodies in healthy people from endemic areas of leprosy in Pará State, Brazil

Perfil de anticuerpos anti-PGL-1 en individuos sanos de áreas endémicas en hanseníasis del Estado de Pará, Brasil

Maria Heliana Chaves Monteiro da Cunha
Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, Belém,
Pará, Brasil

Marcos Fabiano de Almeida Queiroz
Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, Belém,
Pará, Brasil

Maria do Perpétuo Socorro Amador Silvestre
Laboratório de Hanseníase, Seção de Bacteriologia e Micologia,
Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, Ananindeua, Pará, Brasil

Marília Brasil Xavier
Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, Belém,
Pará, Brasil
Universidade do Estado do Pará, Belém, Pará, Brasil

RESUMO

O objetivo deste estudo foi descrever o perfil de anticorpos, IgM, anti-PGL-1, utilizando ELISA, em doadores de sangue de áreas de muito alta endemicidade e hiperendêmicas para a hanseníase no Estado do Pará, utilizando ponto de corte $\geq 0,20$. Tendo ainda outros objetivos como correlacionar os níveis de anticorpos anti-PGL-1 a fatores demográficos e a vacina BCG e identificar ponto de corte (PC) para o teste anti-PGL-1 com base na média dos níveis encontrados. Os resultados não mostraram significância estatística entre as variáveis: sexo, idade, presença de cicatriz de BCG e os níveis de anti-PGL-1. Foram identificados três PCs: geral, por hemocentro e por municípios. Com PC $\geq 0,13$ (geral), a soropositividade dobrou em números absolutos, de 15 para 36, resultado estatisticamente não significativo ($p > 0,05$). A média dos níveis de anti-PGL-1 foi muito baixa para áreas de parâmetros elevados, e não refletiram a magnitude da endemicidade da hanseníase nessas áreas. O ponto de corte mais baixo apresentou-se mais adequado ao comportamento sorológico identificado.

Palavras-chave: Hanseníase; Doadores de Sangue; Doenças Endêmicas; Estudos Soroepidemiológicos.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a hanseníase ainda persiste com elevados coeficientes de detecção em alguns estados das Regiões Centro-oeste, Nordeste e Norte^{1,2}. O Estado do Pará, que faz parte da Região Norte, aparece no ranking nacional em quinto lugar em números de detecção

geral de casos da doença e em segundo lugar em menores de 15 anos de idade^{3,4}.

Os resultados de estudos soroepidemiológicos para hanseníase, utilizando testes sorológicos como o ELISA anti-PGL-1, realizados no Estado do Pará, onde os municípios, em sua maioria, alcançam patamares de elevada endemicidade^{1,3}, podem ser comprometidos pela ausência de definição local de parâmetros dos níveis de anticorpos específicos anti-PGL-1; assim como, as avaliações e o seguimento de casos de pacientes reacionais e suspeitos de recidiva, ou de doentes que apresentem sinais clínicos menos expressivos da doença, e infectados sem quadro clínico^{4,5}, uma vez que autores defendem a posição que o ponto de corte (PC) – limite entre positivos e negativos – deve ser encontrado a partir de uma população de doadores de sangue, não contato de hanseníase, da própria área de estudo para possibilitar comparabilidade^{6,7,8}.

Nesse sentido, considera-se pertinente o conhecimento do comportamento sorológico dos anticorpos anti-PGL-1 (IgM) entre doadores de sangue de áreas de elevada endemicidade no Estado do Pará e, a partir daí, determinar um PC.

* Artigo resultado de tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia das Doenças Tropicais, sob orientação da prof.^ª dr.^ª Marília Brasil Xavier e co-orientação da prof.^ª dr.^ª Maria do Perpétuo Socorro Amador Silvestre, para obtenção do título de Doutor em Patologia das Doenças Tropicais, em 20 de setembro de 2012. Belém, Pará, Brasil.

Correspondência / Correspondence / Correspondencia:

Maria Heliana Chaves Monteiro da Cunha
Universidade Federal do Pará, Núcleo de Medicina Tropical
Laboratório de Pesquisas em Dermatologia Tropical e Doenças Endêmicas
Av. Generalíssimo Deodoro, nº 92. Bairro: Umarizal
CEP: 66055-240 Belém-Pará-Brasil
Tel.: +55 (91) 3201-6870 / (91) 9998-3885
E-mail: marjo.familia@hotmail.com

Os objetivos deste estudo foram descrever o perfil sorológico dos níveis de anticorpos anti-PGL-1, ELISA, em indivíduos sadios residentes em áreas de elevada endemicidade em hanseníase no Estado do Pará, correlacionar os níveis de anticorpos encontrados com níveis de endemicidade e com fatores demográficos, como também identificar o PC que expresse o status imunológico relacionado à endemicidade nessas áreas, e assim contribuir com estudos soropidemiológicos da região.

MATERIAIS E MÉTODOS

A população do estudo foi composta por doadores de sangue da faixa etária de 18 a 60 anos que não tiveram antecedentes de convívio domiciliar com o portador de hanseníase e que, de maneira voluntária, manifestaram interesse em participar da pesquisa. Para estimativa da população de doadores/ano (N) foi usado o número total de doadores do ano de 2009 nos respectivos hemocentros, a saber: Belém-353, Castanhal-322, Marabá-189 e Santarém-137. Para o cálculo amostral foi utilizada a seguinte fórmula estatística⁹:

$$TA = \frac{N}{1 + [(N-1) \times (0,05)^2]}$$

TA: Tamanho amostral; N: Tamanho da população estudada; 0,05: Erro amostral.

O Pará estava dividido em seis mesorregiões e 13 regionais de saúde (microrregiões) com seus respectivos municípios, até o final de novembro de 2010, foi alterado para oito mesorregiões e 23 regiões de saúde. Cada mesorregião tem um município polo, que serve de apoio aos demais em relação às demandas de maior complexidade, onde estão localizados os hemocentros.

Em relação à hanseníase, dados da Secretaria de Saúde do Estado do Pará⁴ mostraram que as mesorregiões que fizeram parte do estudo apresentam a seguinte graduação de endemicidade: alta endemicidade, muito alta endemicidade e hiperendêmico para hanseníase. A maioria dos municípios das mesorregiões sudeste (92%) e sudoeste (94%) é hiperendêmica (Figura 1).

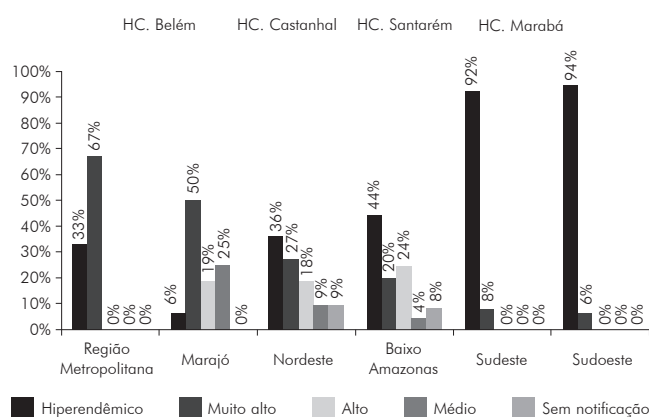


Figura 1 – Coeficientes de endemicidade de hanseníase nas mesorregiões do Estado do Pará, 2009-2010

A seleção dos participantes da pesquisa foi realizada por meio de entrevista e preenchimento da ficha epidemiológica pela pesquisadora e auxiliares de pesquisa. Foi colhido 5 mL de sangue venoso de veia periférica utilizando o *vacuotainer* sem anticoagulante. As amostras foram centrifugadas a 1.500 rpm por 5 min em centrífuga calibrada e o soro obtido foi colocado em frascos com tampa bem acondicionados, e, conservados em freezer em temperatura de -20° C para posterior análise no Instituto Evandro Chagas (IEC). O protocolo de sorologia pelo método ELISA utilizado pelo IEC segue os padrões norteados por Bühner-Sékula¹⁰, adota o antígeno NT-P-BSA (trissacarídeo natural ligado a um radical fosfato e ligado à soroalbumina bovina) para sensibilização das placas de ELISA¹⁰, o qual foi cedido pelo prof. Fujiwara da Universidade de Nara, em Misasagi-Cho, Nara, Japão.

Os resultados da sorologia, método ELISA, foram encontrados pela média das absorvâncias, onde o valor final da densidade ótica (DO) de cada amostra de soro foi calculado diminuindo o valor DO dos poços revestidos com NT-P-BSA do valor DO dos revestidos com BSA¹⁰. Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram média de absorvância $\geq 0,2$ e as negativas $< 0,2$ ¹⁰.

Os dados foram analisados no programa BioEstat versão 6.0 para a geração de resultados estatísticos que comprovassem a associação das variáveis do estudo, considerando IC95% e nível α 5% (p -valor $\leq 0,05$). Foram usados os testes G, Qui-quadrado, teste t, correlação de Pearson e, para indicar o PC, foi usada a média ± 2 DP^{10,11,12}. A soropositividade foi obtida pela proporção de positivos na amostra da população de cada hemocentro.

Esta pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Núcleo de Medicina Tropical (NMT) da Universidade Federal do Pará (UFPA), resolução 196/96-CNS/MS, por meio do protocolo 050/2008, em 28 de outubro de 2008.

RESULTADOS

A análise descritiva das características de 1.001 doadores de sangue dos quatro hemocentros do Estado do Pará que fizeram parte do estudo, mostrou que a maior demanda de doadores ocorreu nos hemocentros de Belém (35,3%) e Castanhal (32,2%), o maior percentual de doadores foi do sexo masculino (69,7%), com grande predomínio de jovens adultos (25 a 29 anos de idade) e adultos (72,7%). Pouco mais da metade dos doadores de sangue, tinha escolaridade de ensino médio (58,3%) e apenas uma pequena parcela possuía nível superior (18,2%).

O resultado das médias dos níveis de anti-PGL-1 entre os hemocentros (Tabela 1), aponta significância estatística entre os hemocentros de Marabá e Santarém, teste t ($p = 0,0009$).

A média dos níveis de anti-PGL-1 dos municípios que compõem os hemocentros (Tabela 2), mostra resultados significativos entre alguns deles como Belém x Igarapé-Açu; Santarém x Breu Branco; Castanhal x Breu Branco; Igarapé-Açu x Breu Branco; Santa Izabel x Breu Branco, teste t ($p < 0,0001$).

Tabela 1 – Média dos níveis de anti-PGL-1 (ELISA) por hemocentros do Estado do Pará e endemicidades, 2009-2010

Hemocentros / endemicidades	N	Anti-PGL-1	
		Média μ	Desvio padrão
Belém – muito alto	352	0,0279	0,0491
Santarém – hiperendêmico	137	0,0124	0,0559
Castanhal – hiperendêmico	322	0,0179	0,0364
Marabá – hiperendêmico	189	0,0363	0,0711

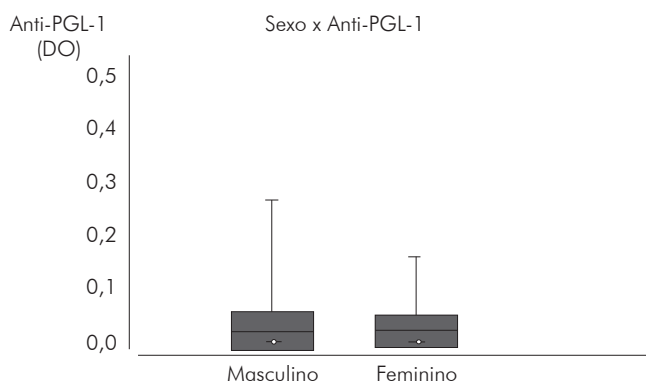
Teste t (p = 0,0009).

Tabela 2 – Média dos níveis de anti-PGL 1 (ELISA) de municípios que compõem os hemocentros do Estado do Pará, 2009-2010

Municípios / endemicidades	Nº	Anti-PGL-1	
		Média μ	Desvio padrão
Belém – muito alto	352	0,0279	0,0491
Santarém – muito alto	137	0,0124	0,0559
Castanhal – hiperendêmico	79	0,0157	0,0249
Parauapebas – hiperendêmico	166	0,0286	0,0676
Igarapé-Açu – muito alto	124	0,0107	0,0197
Santa Izabel – muito alto	119	0,0268	0,0515
Breu Branco – hiperendêmico	24	0,0881	0,0731

Teste t (p < 0,0001) Belém x Igarapé- Açu; Santarém x Breu-Branco; Castanhal x Breu Branco.

Não houve interferência da variável sexo na média dos níveis de anti-PGL-1, teste t (p = 0,5068) (Figura 2). Também não houve tendência à redução ou aumento dos títulos de anti-PGL-1 com o avançar da idade (p = 0,1716). O coeficiente de Pearson (r = 0,0431) próximo de zero atestou fraca associação entre a variável estudada e o resultado da sorologia (Figura 3).



Teste t (p = 0,5068).

Figura 2 – Média dos níveis de anti-PGL-1, segundo o sexo, em doadores de sangue de quatro hemocentros do Estado do Pará, 2009-2010

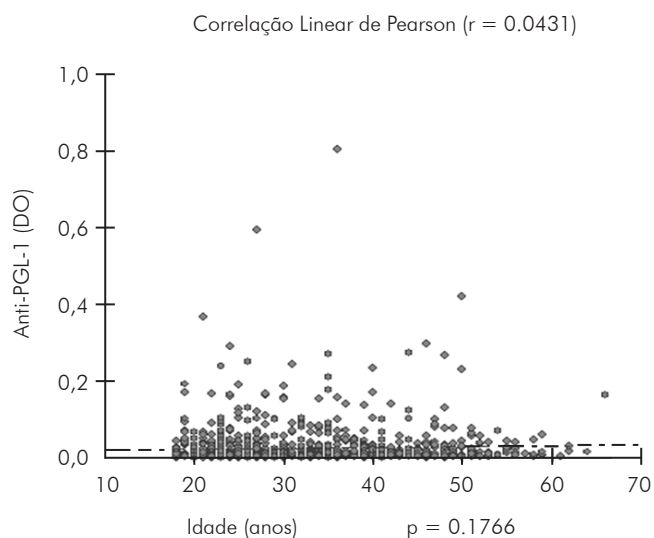
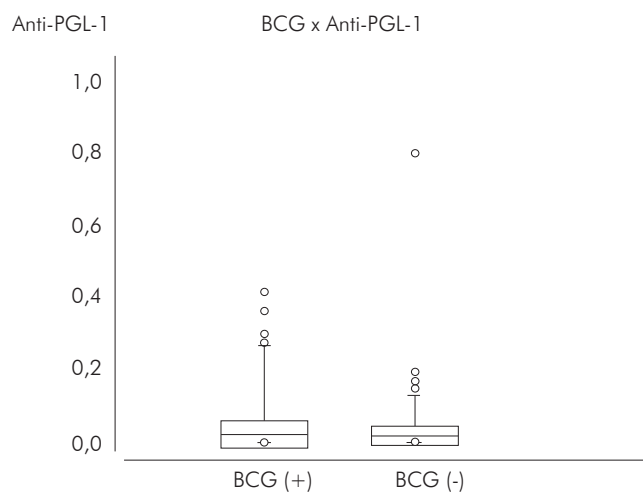


Figura 3 – Níveis de anti-PGL-1, segundo faixa etária, em doadores de sangue de quatro hemocentros do Estado do Pará, 2009-2010

A análise comparativa da descrição dos níveis de anti-PGL-1 entre doadores de sangue imunizados com vacina BCG (presença de cicatriz) e não imunizados (sem presença de cicatriz) não mostrou significância estatística (teste t, p = 0,2011) (Figura 4).



Teste t (p = 0,5068).

Figura 4 – Níveis de anti-PGL-1, segundo vacina BCG, em doadores de sangue de quatro hemocentros do Estado do Pará, 2009-2010

Neste estudo obtiveram-se três variações de PCs: o primeiro com base na média geral dos níveis de anticorpos anti-PGL-1 dos doadores de sangue; o segundo com base na média dos níveis de anti-PGL-1 dos hemocentros; e o terceiro com base na média dos municípios. Em virtude dessas variações não terem apresentado significância estatística entre si, sugeriu-se o PC geral (0,13) como limiar de reatividade para as áreas estudadas por representar a média geral dos níveis de anticorpos da população do estudo. O valor do PC encontrado com base na média dos níveis de anti-PGL-1 da população do estudo foi de PC geral (0,13).

DISCUSSÃO

O presente estudo teve como amostra 1.001 doadores de sangue demandantes dos quatro hemocentros do Estado do Pará, localizados em mesorregiões onde são diagnosticados grandes números de casos de hanseníase nas formas multibacilares, 2.148 casos nos anos de 2009 a 2011^{3,4}.

A extensa área do Pará possui características propícias para que os números de casos de hanseníase mantenham-se elevados, inclusive em menores de 15 anos de idade, como clima úmido e temperatura elevada¹³. Somado a esses fatores, algumas áreas desse estado fazem parte de *clusters* que foram evidenciados por pesquisas em 2008¹⁴, o que piora o quadro epidemiológico do mesmo³.

O perfil da amostra destacou a presença predominante de jovens adultos (25 a 29 anos de idade) do sexo masculino. O sexo e a idade foram variáveis consideradas importantes para a proposta deste trabalho, uma vez que os níveis séricos de IgM em mulheres, de um modo geral, e em jovens de ambos os sexos podem estar fisiologicamente elevados, conforme observado em pesquisas¹⁵, como também podem se encontrar elevados em virtude de resposta humoral em portadores de hanseníase multibacilar, uma vez que são anticorpos específicos anti-PGL-1^{12,16,17,18,19}. No entanto, os resultados deste estudo (Figuras 2 e 3) demonstraram que não houve nenhuma tendência significativa ao aumento ou redução nos níveis de anti-PGL-1 em relação a essas variáveis.

A análise dos níveis de anti-PGL-1 nas amostras de sangue dos doadores deste estudo identificou que a quase totalidade (98,5%), apresentou individualmente níveis de anti-PGL-1 acentuadamente inferior a 0,2, PC que em geral é usado nos protocolos de sorologia (ELISA) no Estado do Pará. A média geral dos níveis de anti-PGL-1 deste estudo foi 0,0241, achado este concordante em termos percentuais com estudo realizado em área endêmica por Cellona²⁰, que ao analisar 401 indivíduos sadios da população geral, encontrou 98,3% de soronegativos, adotando PC menor que 0,16 (< 0,16) para o referido estudo. A análise da média dos níveis de anti-PGL-1 por hemocentro (Tabela 1) refletiu os achados individuais de soronegatividade, com significância estatística entre os níveis dos hemocentros de Marabá e de Santarém. Os municípios que tiveram médias dos níveis de anti-PGL-1 menos distante do limiar do ponto de corte (Tabela 2) foram os que evidenciaram as taxas mais elevadas de detecção geral em hanseníase⁴, como Breu Branco (118,10/100.000 hab.), que pertence a hemorrede de Marabá, e o município de Castanhal, que pertence a hemorrede Castanhal (46,21/100.000 hab.), ambos hiperendêmicos, cujas soronegatividades foram 0,091 e 0,016 respectivamente.

A expectativa seria encontrar uma soronegatividade mais próxima do limiar do PC 0,2, em consequência das elevadas taxas de detecção e das características epidemiológicas da região favoráveis à infecção

pelo bacilo de Hansen, como clima, densidade populacional e condições socioeconômicas, fatores estes já destacados em trabalhos anteriores^{18,19,21,22,23}. A provável carga bacilar circulante no meio ambiente, em virtude do número de casos multibacilares notificado nessas áreas, e a presença de *clusters* identificados no sul, sudeste e nordeste paraense, também seriam fatores somativos a essa expectativa^{4,14}.

Uma provável explicação para os resultados sorológicos encontrados seria uma tendência imunológica à resposta celular, por parte dos indivíduos residentes nessas áreas, ocasionadas por características próprias do organismo, ou por estímulo da imunoprofilaxia com BCG, conforme observado em estudos no Município de Duque de Caxias²⁴, também em área hiperendêmica do nordeste e sudeste paraense²⁵, e em outras localidades^{7,21,23}.

A grande maioria dos doadores (88,1%) possuía uma cicatriz de vacina BCG no braço direito comprovando o uso do esquema básico na infância. Os baixos níveis de anti-PGL-1 nos portadores de cicatriz levam a supor que a vacina poderia ter contribuído para uma ação mais eficaz do sistema imunológico pelo provável estímulo à resposta celular, tornando-a mais competente no combate ao bacilo, mesmo em uma dose. O que reforça os achados de estudos destinados a avaliar o efeito protetor da vacina BCG em contatos^{26,27,28,29,30,31}.

A análise da soropositividade na população estudada mostrou percentuais que podem ser considerados baixos, em virtude das elevadas taxas de detecção de hanseníase nessas áreas. Somados os quatro hemocentros, a soropositividade alcançou um percentual de 1,5% (15/1.001). Resultados semelhantes foram relatados em estudo realizado em contatos de portadores de hanseníase em municípios hiperendêmicos do sudeste paraense²⁵.

Alguns pesquisadores^{17,32,33} consideram a população geral de área hiperendêmica de hanseníase como contato social, pois estimam que o bacilo encontre-se circulando no meio ambiente, principalmente se a maioria dos casos diagnosticados nessa população for das formas multibacilares. Em virtude do Estado do Pará apresentar uma grande parcela de casos de hanseníase notificados como multibacilares^{3,4}, pode-se considerar contato social a população geral dessas áreas hiperendêmicas, conseqüentemente, esperava-se soropositividade maior.

As variações observadas entre os PCs, em sua maioria, apresentaram-se relacionadas ao grau de endemicidade das mesorregiões e dos municípios em questão. Em virtude dessas variações não apresentarem significância estatística entre si, sugere-se o PC geral (0,13) como limiar de reatividade para as áreas do estudo por representar a média geral dos níveis de anticorpos da população do estudo. Este achado é reforçado pela afirmativa⁶ de que o PC, para sorologia, deveria ser obtido dos residentes saudáveis, não contato, intradomiciliar de indivíduos com hanseníase, da área endêmica onde seria

realizado o estudo, possibilitando dessa maneira a comparabilidade entre os níveis sorológicos de contatos e não contatos, assim como entre doentes e não doentes. Dessa maneira, as avaliações sorológicas e os estudos soropidemiológicos teriam resultados mais precisos pelo aumento da sensibilidade, contudo, sem comprometer a especificidade do teste^{22,23,27}.

CONCLUSÃO

Os níveis de anti-PGL-1 nas amostras dos doadores apresentaram-se acentuadamente inferior a 0,2, valor que corresponde ao PC que, em geral, é usado nos estudos e avaliações da Região Norte.

Alguns municípios que compõem os hemocentros apresentaram a média dos níveis de anti-PGL-1 com significância estatística, sem, no entanto, estarem em níveis elevados.

Não houve interferência da variável sexo na média dos níveis de anti-PGL-1 e não houve tendência à redução ou aumento dos títulos de anti-PGL-1 com o avançar da idade.

A imunização com a vacina BCG ou a ausência da mesma não alterou o perfil de anticorpos na população do estudo, em ambos os níveis foram bem baixos.

Foram obtidas três variações de PCs: o primeiro, com base na média geral dos níveis de anticorpos anti-PGL-1 dos doadores de sangue; o segundo com base na média dos níveis de anti-PGL-1 dos hemocentros; e o terceiro com base na média dos municípios. As variações não apresentaram significância estatística entre si, no entanto sugeriu-se o PC geral (0,13) como limiar de reatividade para as áreas estudadas por representar a média geral dos níveis de anticorpos da população do estudo.



Profile of anti-PGL-1 antibodies in healthy people from endemic areas of leprosy in Pará State, Brazil

ABSTRACT

The aim of this study was to describe the profile of IgM, anti-PGL-1 antibodies, ELISA method in blood donors in highly endemic and hyperendemic areas of leprosy in Pará State, Brazil, using the cut-off point (CP) ≥ 0.20 . Other objectives were to correlate the anti-PGL-1 levels to demographic factors and BCG vaccine and identify the CP to anti-PGL-1 test based on the average levels. The results showed no statistical significance between sex, age, presence of BCG scar and anti-PGL-1 levels. Three PCs were identified: general, by blood bank and municipalities. With CP ≥ 0.13 (general), the seropositivity in variables doubled in absolute numbers from 15 to 36, it was not a statistically significant result ($p > 0.05$). The average levels of anti-PGL-1 were very low for high standard areas, and they did not reflect the magnitude of leprosy endemicity in these areas. The lower CP was more appropriate to the serological behavior that was identified in the present study.

Keywords: Leprosy; Blood Donors; Endemic Diseases; Seroepidemiologic Studies.

Perfil de anticuerpos anti-PGL-1 en individuos sanos de áreas endémicas en hanseníasis del Estado de Pará, Brasil

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue el de describir el perfil de anticuerpos, IgM, anti-PGL-1, método de ELISA, en donantes de sangre de áreas de muy alta endemicidad e hiperendémicas en hanseníasis en el Estado de Pará, Brasil, utilizando punto de corte (PC) $\geq 0,20$. Otros objetivos fueron los de correlacionar los niveles de anticuerpos anti-PGL-1 a factores demográficos y la vacuna BCG e identificar el PC para la prueba anti-PGL-1 con base en el promedio de los niveles hallados. Los resultados no mostraron significancia estadística entre sexo, edad, presencia de cicatriz de BCG y los niveles de anti-PGL-1. Se identificaron tres PCs: general, por hemocentro y por municipios. Con PC $\geq 0,13$ (general), la seropositividad en las variables fue el doble en números absolutos, de 15 para 36, resultado estadísticamente no significativo ($p > 0,05$). El promedio de los niveles de anti-PGL-1 fue muy bajo para áreas de parámetros elevados, y no reflejaron la magnitud de la endemicidad de la hanseníasis en esas áreas. El PC más bajo se presentó más adecuado al comportamiento serológico identificado.

Palabras clave: Lepra; Donantes de Sangre; Enfermedades Endémicas; Estudios Seroepidemiológicos.



REFERÊNCIAS

- 1 Report of the International Leprosy Association Technical Forum; 2002 Feb 25-28; Paris. [Washington]: International Leprosy Association; 2002 Jan-Mar. 62 p. (International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases; vol. 70, no.1 suppl.)
- 2 Ministério da Saúde (BR). Departamento de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Geral do Programa Nacional de Controle da Hanseníase - CGPNCH: relatório de gestão, janeiro de 2009 a dezembro de 2010. Brasília: Ministério da Saúde; 2011.

- 3 Ministério da Saúde (BR). Datasus. Sinan Net. Hanseníase: casos confirmados notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação, 2011. Brasília: Ministério da Saúde; 2011.
- 4 Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema nacional de vigilância em saúde: relatório de situação: Pará. 5. ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2011. (Série C. Projetos, programas e relatórios).
- 5 Brito MFM, Ximenes RAA, Gallo MEN, Bühner-Sékula S. Associação entre reação hansênica após alta e a carga bacilar avaliada utilizando sorologia anti-PGL-1 e baciloscopia. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008;41 supl 2:47-72.
- 6 Barros RPC, Oliveira MLWR. Detecção de anticorpos específicos para o antígeno glicolípido fenólico do *M. leprae* (anti-PGL-1 IgM): aplicações e limitações. *An Bras Dermatol.* 2000;75(6):745-53.
- 7 Menzel S, Harboe M, Bergsvik H, Brennan PJ. Antibodies to a synthetic analog of phenolic glycolipid-1 of *Mycobacterium leprae* in healthy household contacts of patients with leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1987 Dec;55(4):617-25.
- 8 Foss NT, Callera F, Alberto FL. Anti-PGL-1 levels in leprosy patients and their contacts. *Braz J Med Biol Res.* 1993;26(1):43-51.
- 9 Fontelles MJ. Bioestatística aplicada à pesquisa experimental. Vol. 1. São Paulo: Livraria da Física; 2012.
- 10 Bühner-Sékula S. Simple dipstick assay for the detection of antibodies to phenolic glycolipid-1 of *Mycobacterium leprae* [thesis]. Amsterdam (NL): Royal Tropical Institute; 1998.
- 11 Silva RC. Estudo do comportamento dos testes sorológicos ML Flow e ELISA (PGL-I) em área endêmica e não endêmica de hanseníase [tese]. Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais; 2008.
- 12 Bühner-Sékula S. PGL-I leprosy serology. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008;41 Suppl 2:3-5.
- 13 Silva DRX, Ignotti E, Souza-Santos R, Hancon SS. Hanseníase, condições sociais e desmatamento na Amazônia brasileira. *Rev Panam Salud Publica.* 2010 abr;27(4):268-75.
- 14 Penna G, Pinto LF, Soranz D, Glatt R. High incidence of diseases endemic to the Amazon Region of Brazil, 2001-2006. *Emerg Infect Dis.* 2009 Apr;15(4):626-32.
- 15 Maddson SE, Stewart CC, Farshy CE, Reimer CB. The relationship of race, sex, and age to concentrations of serum immunoglobulins expressed in international units in healthy adults in the USA. *Bull World Health Organ.* 1975;52(2):179-85.
- 16 Hunter SW, Fujiwara T, Brennan PJ. Structure and antigenicity of the major specific glycolipid antigen of *Mycobacterium leprae*. *J Biol Chem.* 1982 Dec;257(24):15072-8.
- 17 Van Beers SM, Izumi B, Madjid Y, Maeda RD, Klatser PR. An epidemiological study of leprosy infection by serology and polymerase chain reaction. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1994 Mar;62(1):1-9.
- 18 Chanteau S, Cartel JL, Guidi C, Plichart R, Bach MA. Seroepidemiological study on 723 household contacts of leprosy patients in French Polynesia using the disaccharide-octyl-BSA as antigen. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1987 Dec;55(4):626-32.
- 19 Fine PE, Ponninghaus JM, Burgess P, Clarkson JA, Draper CC. Seroepidemiological studies of leprosy in northern Malawi based on an enzyme-linked immunosorbent assay using synthetic glycoconjugate antigen. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1988 Jun;56(2):243-54.
- 20 Cellona RV, Walsh GP, Fajardo Jr TT, Abalos RM, Dela Cruz EC, Guido-Villahermosa L, et al. Cross-sectional assessment of ELISA reactivity in leprosy patients, contacts, and normal population using the semisynthetic antigen natural disaccharide octyl bovine serum albumin (ND-O-BSA) in Cebu, the Philippines. *Int J Lepr.* 1993 Jun;61(2):192-8.
- 21 Dias MCFS, Dias GH, Nobre ML. Distribuição espacial da hanseníase no município de Mossoró, RN, utilizando o Sistema de Informação Geográfica - SIG. *An Bras Dermatol.* 2005 nov-dez;80 Supl 3:S289-94.
- 22 Bühner-Sékula S, Smits HL, Gussenhoven GC, Van Leeuwen J, Amador S, Fujiwara T, et al. Simple and fast lateral flow test for classification of leprosy patients and identification of contacts with risk of developing leprosy. *J Clin Microbiol.* 2003 May;41 Suppl 5:1991-5.
- 23 Brasil MTLRF, Oliveira LR, Rímoli NS, Cavallari FS, Gonçalves OS, Lessa ZL, et al. Sorologia anti-PGL-1 e risco de ocorrência de hanseníase em área de alta endemicidade do Estado de São Paulo: quatro anos de seguimento. *Rev Bras Epidemiol.* 2003 set;6(3):262-71.
- 24 Calado KL. Inquérito sorológico com ML Flow em contatos de pacientes de hanseníase no município de Duque de Caxias-RJ [dissertação]. Rio de Janeiro (RJ): Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2005.
- 25 Amador MPS. Soroprevalência para hanseníase em áreas endêmicas do Estado Pará [dissertação]. Belém (PA): Universidade Federal do Pará, Núcleo de Medicina Tropical; 2004.
- 26 Düpre NC, Camacho LA, Sales AM, Illarramendi X, Nery JA, Sampaio EP, et al. Impact of PGL-1 seropositivity on the protectivity effect of BCG vaccination among leprosy contacts: a cohort study. *PloS Negl Trop Dis.* 2012 Jun;6(6):e17111.

- 27 Brasil MTLRF, Oliveira LR, Melo CS, Nakamura PM, Rimoli NS, Cavalari FS, et al. Aplicação do teste ELISA anti-PGL-1 em localidade com alta endemicidade de hanseníase na região Norte do Estado de São Paulo. *Hans Int.* 1998;23(2): 35-8.
- 28 Goulart IMB, Penna GO, Cunha G. Imunopatologia da hanseníase: a complexidade dos mecanismos da resposta imune do hospedeiro ao *Mycobacterium leprae*. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2002 jul-ago;35(4):365-75.
- 29 Düpre NC. Efetividade do BCG-ID em comunicantes de pacientes com as formas multibacilares da hanseníase [dissertação]. Rio de Janeiro (RJ): Escola Nacional de Saúde Pública; 1998.
- 30 Lombardi C, Pedrazzini ES, Pedrazzini JC, Ferreira Filho P, Zicker F. Eficácia protetora del BCG contra lepra em São Paulo, Brasil. *Bol Oficina Sanit Panam.* 1995 nov;119(5):415-21.
- 31 Rodrigues MLO, Silva AS, Almeida Neto JC, Andrade ALSS, Martelli CMT, Zicker F. Protective effect of intradermal BCG against leprosy; a case-control study in central Brazil. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1992 Sep;60(3):335-9.
- 32 Van Beers, Hatta M, Klatser PR. Seroprevalence rates of antibodies to phenolic glycolipid-1 among school children as an indicator of leprosy endemicity. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1999 Sep;67(3):243-9.
- 33 Saad MH, Medeiros MA, Gallo MEN, Gontijo PP, Fonseca LS. IgM immunoglobulins reacting with the phenolic glycolipid-1 antigen from *Mycobacterium leprae* in sera of leprosy patients and their contacts. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1990 Apr-Jun;85(2):191-4.

Recebido em / Received / Recibido en: 27/2/2012
Aceito em / Accepted / Aceito en: 2/8/2012