

Avaliação de testes sorológicos para diagnóstico complementar em hanseníase

Assessing serology tests for leprosy complementary diagnosis

Evaluación de análisis serológicos para diagnóstico complementario en hanseníasis

Milene Carvalho Gonçalves
Universidade do Estado do Pará, Belém, Pará, Brasil

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

Luisa Caricio Martins
Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil

Amanda Araújo de Moura
Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil

Anna Camila Alves Franco
Universidade Federal do Pará, Belém, 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

Trata-se de um estudo prospectivo transversal com enfoque em testes diagnósticos para avaliar a concordância do teste sorológico (ML Flow) em relação à baciloscopia, exame histopatológico, classificação operacional dos casos segundo os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS) e a classificação emitida por dermatologistas. Este estudo foi composto de 43 casos novos de hanseníase dos Municípios de Belém e Marituba, Estado do Pará, Brasil. Os resultados mostraram que baseado no coeficiente Kappa, obteve-se maior correspondência do teste ML Flow com a classificação da OMS; o melhor nível de concordância correspondeu a trinca, por apresentar reprodutibilidade mais alta e menor frequência de discordância; a classificação baseada no resultado do teste ML Flow mostrou concordância de 72,09%, respectivamente com a classificação operacional da OMS e com a baciloscopia, seguida de 68,05% baseada no exame histopatológico e 62,79% com a classificação operacional emitida por dermatologistas. Ao associar o teste ML Flow com outros dois testes ou formas de classificação em conjunto, ocorreram maior concordância na associação com a OMS e exame histopatológico (60,46%). Estes resultados mostram que a adoção do teste ML Flow, como método complementar em hanseníase, seria uma ferramenta útil na classificação dos casos, no diagnóstico e no tratamento da hanseníase.

Palavras-chave: Hanseníase; Testes Sorológicos; Classificação.

INTRODUÇÃO

A hanseníase, entre as doenças transmissíveis, ainda é considerada uma das principais causas de incapacidade física permanente, apesar do número de novos casos ter declinado em quase todas as regiões e estados-membros da Organização Mundial da Saúde (OMS). No Brasil, ainda é alta a detecção nos Estados das Regiões Norte, Centro-Oeste e Nordeste. Na Região Norte, o Estado do Pará ainda é classificado como área hiperendêmica, sendo os Municípios de

Belém e Marituba considerados pelo Ministério da Saúde, municípios prioritários na realização de ações de vigilância epidemiológica da hanseníase^{1,2}.

O controle da hanseníase, portanto, está prioritariamente associado ao diagnóstico precoce e ao tratamento adequado do indivíduo doente, levando a interrupção da cadeia de transmissão. Os critérios convencionais para a confirmação laboratorial do diagnóstico são constituídos pelos exames baciloscópico, que é rápido, fácil e de baixo custo; e histopatológico, que revelam as formas clínicas da doença, mas é moroso e laborioso. Ambos os testes, porém, possuem restrições quanto ao aspecto operacional, não atendendo a necessidade de um teste rápido para aplicação na prática clínica^{3,4}. Embora se saiba que o exame clínico pode identificar a maioria dos pacientes de hanseníase, um contingente menor deles, inclusive multibacilares, não apresenta a principal característica clínica, lesões anestésicas, dificultando o diagnóstico rápido de doença⁵.

Correspondência / Correspondence / Correspondencia:

Milene Carvalho Gonçalves
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) 3201-0974 / 3201-0972 / 98197-9881 / 98842-5327
E-mail: milene_enf@yahoo.com.br

Há uma década está disponibilizado um teste sorológico (ML Flow) que é simples, rápido e auxilia na classificação da forma de hanseníase. Este teste possui duas aplicações principais: a correta classificação de casos de hanseníase em casos paucibacilares (PB) e multibacilares (MB) e a identificação de contatos de pacientes com hanseníase que têm um risco maior de desenvolver a doença. Sua sensibilidade é de 97,4% para os pacientes MB e 40% para pacientes PB^{6,7}. Por ser um teste rápido, prático e auxiliar na definição de casos multi e paucibacilares reveste-se de importância, pois o tratamento difere de acordo com a forma da doença.

Assim, o presente estudo objetivou analisar a concordância do teste ML Flow em relação à baciloscopia, exame histopatológico, classificação operacional dos casos de hanseníase segundo os critérios do Ministério da Saúde e a classificação emitida pelos dermatologistas no contexto do diagnóstico de hanseníase.

MATERIAIS E MÉTODOS

TIPO DE ESTUDO E POPULAÇÃO

Estudo prospectivo transversal com casos diagnosticados de hanseníase com enfoque em testes diagnósticos para avaliar a concordância do teste ML Flow em relação à baciloscopia, exame histopatológico (EH), classificação operacional dos casos, segundo os critérios da OMS e a classificação emitida por dermatologistas (DERM). Os exames clínicos, dermatológicos e o teste ML Flow foram realizados no Laboratório de Patologia Clínica (LPC) e Laboratório de Pesquisa em Dermatologia Tropical e Doenças Endêmicas (LPDTDE) do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará (NMT-UFPA), enquanto que os exames microbiológicos e histopatológicos foram realizados no Laboratório de Dermatologia da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Estado do Pará (LFSCM-PA).

SUJEITOS DO ESTUDO

A população do estudo foi composta por 43 novos casos de hanseníase, residentes nos Municípios de Belém e Marituba, selecionados no período de abril de 2011 a janeiro de 2012. O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Pará (nº 032/2009 – CEP/NMT/UFPA de 9 de setembro de 2009), estando de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

COLETA DE DADOS

A classificação de Madri⁸ foi baseada nas características morfológicas, índice baciloscópico, no resultado do EH por meio de biópsia cutânea da lesão suspeita e interpretada por um profissional em dermatologia do LFSCM-PA, conforme registros nos prontuários dos participantes da pesquisa. Assim, partindo da classificação de Madri⁸, associou-se a

classificação da OMS⁹, que identifica os pacientes das formas indeterminadas e tuberculoides como PB, e os das formas dimorfa e virchowiana como MB.

Para classificar os pacientes de acordo com os critérios da OMS foi levado em consideração o número de lesões: os pacientes com até cinco lesões hipopigmentadas ou eritematosas, com distribuição assimétrica, perda de sensibilidade e comprometimento de um só tronco nervoso, bem como baciloscopia negativa, foram classificados como PB. Pacientes com distribuição assimétrica, perda de sensibilidade e podendo haver comprometimento de vários troncos nervosos, bem como baciloscopia positiva em pelo menos uma localização, foram considerados MB.

O teste ML Flow, que detecta anticorpos IgM específicos do soro de pacientes contra o antígeno de *Mycobacterium leprae*, fenol glicolípido 1 (PGL-1), foi realizado assim que a moléstia foi confirmada por um especialista da área dermatológica. Para tal, o paciente foi submetido aos procedimentos de coleta, após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. O soro obtido foi utilizado para a realização do teste, conforme a recomendação do fabricante (Koninklijk Instituut voor de Tropen, Holanda), e com o auxílio da baciloscopia, os resultados foram interpretados como positivos e negativos. Resultados negativos receberam a classificação de casos PB e os positivos foram classificados como MB.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A avaliação da correspondência entre os métodos de diagnóstico foi realizada pelo diagrama de Venn usando o *software* Wikstat (versão 1.1). Os diagramas de Venn são compostos por três círculos ou elipses parcialmente sobrepostos, de modo a apresentar regiões exclusivas de cada um dos círculos, regiões de interseção, dois a dois, entre eles, e uma região de interseção dos três¹⁰.

A reprodutibilidade do teste ML Flow foi realizada pelo teste Kappa, sendo considerada a seguinte interpretação em relação ao grau de intensidade da concordância do referido coeficiente: o valor < 0 apresentou-se sem concordância; 0,0 – 0,20, leve; 0,21 – 0,40, moderada; 0,41 – 0,60, forte; 0,61 – 0,80, muito forte; 0,81 – 0,99, quase perfeita; e 1,0, perfeita¹¹. Seguindo a interpretação de Fontelles¹¹, o coeficiente Kappa tem a finalidade de medir o grau de concordância entre as proporções encontradas, para a mesma variável mensurada em duas diferentes ocasiões, sendo o teste baseado no número de resultados concordantes, testando-se a reprodutibilidade dos resultados, admitindo-se que haverá concordância entre eles em relação às proporções medidas nas duas ocasiões¹¹.

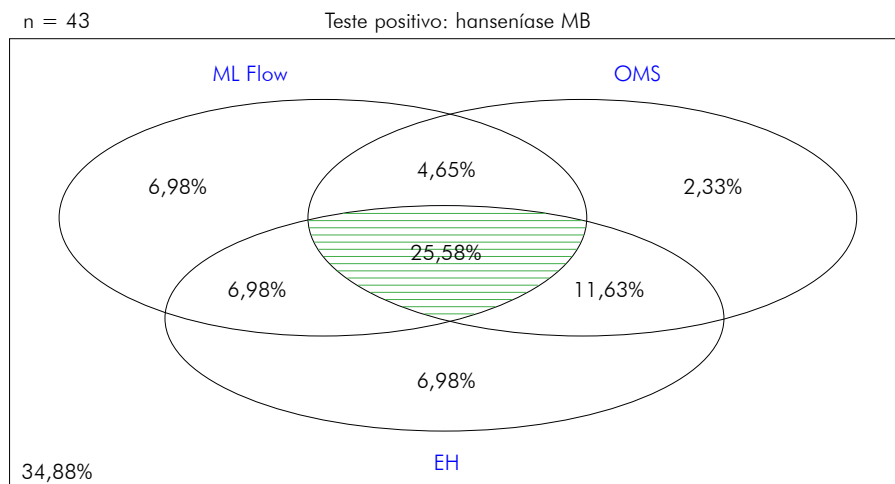
O desempenho do teste ML Flow foi analisado em relação à classificação da OMS, dos DERM, ao resultado da baciloscopia e do EH, sendo calculados os seguintes indicadores: sensibilidade, especificidade, falso-positivo, falso-negativo, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, acurácia, razão de probabilidade positiva (LR+) e negativa (LR-).

RESULTADOS

A avaliação da concordância proporcional do teste sorológico ML Flow, utilizado simultaneamente com outros dois exames ou métodos de classificação da hanseníase, mostrou que o melhor nível de concordância foi associado às seguintes combinações de testes: (i) ML Flow, classificação da OMS e EH; (ii) ML Flow, exame baciloscópico e EH; (iii) ML Flow, EH e classificação dos DERM, por apresentarem reprodutibilidade mais alta e menor frequência de discordância. Por meio da análise conjunta realizada pelos três métodos da seleção (i), 25,58% dos casos foram classificados com hanseníase MB e 34,88% com hanseníase PB, mostrando a menor frequência de discordância (16,29%) e resultados sem consenso (23,25%) (Figura 1; Tabela 1). Entretanto, o número de falso-positivo e negativo foi > 25%, exceto para o bacilo álcool-ácido resistente (BAAR) que mostrou a menor frequência de falsos-positivos (12,5%), refletindo probabilidade 4,4 vezes maior de um teste ML Flow

positivo ser também positivo na baciloscopia, enquanto que esta razão foi menor em relação à classificação da OMS (2,74), do EH (2,12) e classificação dos DERM (1,55) (Tabela 1). Assim, analisando a concordância do ML Flow com as outras metodologias, forte concordância foi obtida com a classificação da OMS ($\kappa = 0,4647$; $p = 0,0022$), seguida do teste baciloscópico ($\kappa = 0,4150$; $p = 0,0022$) (Tabela 1).

Os resultados mostraram que baseado no coeficiente Kappa, obteve-se maior correspondência do teste ML Flow com a classificação da OMS; o melhor nível de concordância correspondeu ao conjunto de trincas, por apresentar reprodutibilidade mais alta e menor frequência de discordância; a classificação baseada no resultado do teste ML Flow mostrou concordância de 72,09%, respectivamente com a classificação operacional da OMS e com a baciloscopia, seguida de 68,05% baseada no EH e 62,79% com a classificação operacional dos DERM (Tabela 2).



Obs.: A frequência de pacientes assinalada fora do diagrama de Venn corresponde aos que foram igualmente classificados pelos três métodos como PB. A área destacada em verde corresponde ao percentual de participantes que foram igualmente classificados como MB pelos três métodos.

Figura 1 – Distribuição da concordância para a classificação de hanseníase tipo MB, utilizando três métodos em uma amostra de 43 pacientes com hanseníase: teste ML Flow, classificação da OMS e EH

Tabela 1 – Avaliação da concordância do teste ML Flow para classificação da hanseníase tipo MB e PB em relação as outras metodologias de diagnóstico: classificação da OMS, baciloscópico, EH e DERM. Amostra composta por 43 pacientes, Pará, Brasil, 2011-2012

Composição de métodos	Concordância		Reprodutibilidade	Discordância*	Não há consenso**
	PB	MB			
ML Flow, OMS, baciloscopia	39,53%	20,93%	60,46%	23,26%	16,28%
ML Flow, OMS, EH	34,88%	25,58%	60,46%	16,29%	23,25%
ML Flow, OMS, DERM	25,58%	30,23%	55,81%	23,26%	20,93%
ML Flow, BAAR, EH	34,88%	20,93%	55,81%	25,58%	18,61%
ML Flow, BAAR, DERM	25,58%	23,26%	48,84%	30,24%	20,92%
ML Flow, EH, DERM	25,58%	32,56%	58,14%	18,61%	23,25%

Fonte: Protocolo de pesquisa.

* Refere-se à soma dos casos onde somente um teste indicou hanseníase MB; ** Refere-se à soma dos casos em que apenas dois testes indicaram hanseníase MB.

Tabela 2 – Desempenho do teste ML Flow com uma amostra composta por 43 pacientes para diagnóstico de hanseníase do tipo MB e PB, em relação as outras metodologias de diagnóstico: classificação da OMS, baciloscópico, EH e DERM, Pará, Brasil, 2011-2012

	Classificação da OMS	Teste baciloscópico	EH	DERM
Resultado PB	55,80%	69,80%	46,50%	32,60%
Resultado MB	44,20%	30,20%	53,50%	67,40%
Concordância com o teste ML Flow	72,09%	72,09%	68,05%	62,79%
Kappa	0,4647*	0,4150*	0,3837*	0,2848*
Reprodutibilidade	Forte*	Forte*	Moderada*	Moderada*
p-valor	0,0022*	0,0022*	0,0060*	0,0184*
Sensibilidade	68,42%	52,63%	73,68%	84,21%
Especificidade	75,00%	87,50%	65,22%	45,83%
Falso-positivo	25,00%	12,50%	34,78%	54,17%
Falso-negativo	31,58%	47,37%	26,32%	15,79%
Valor preditivo positivo	68,42%	76,92%	63,64%	55,17%
Valor preditivo negativo	75,00%	70,00%	75,00%	78,57%
Acurácia	72,09%	72,09%	69,05%	62,79%
LR+	2,74	4,21	2,12	1,55
LR-	0,42	0,54	0,41	0,34

* Teste Kappa.

Fonte: Protocolo de pesquisa.

DISCUSSÃO

Os resultados aqui mostrados sugerem que o ML Flow poderia ser realizado em paralelo com a classificação baseada nos critérios da OMS, para auxiliar na classificação da forma clínica da hanseníase. Se permanesse alguma dúvida em relação à classificação seria solicitada a baciloscopia, que está disponível na maioria das unidades de saúde, e o EH, o que seria inviável na maioria das unidades de saúde, principalmente devido aos problemas operacionais.

Note-se que, na tentativa de evitar um subdiagnóstico, a combinação de métodos fáceis é viável e possui confiabilidade, sendo uma prática comum na investigação de várias doenças¹². Dessa forma, vários testes de diagnósticos são combinados de modo a proporcionar uma melhor avaliação na discriminação entre as pessoas com e sem a doença ou no caso da hanseníase, entre casos PB e MB¹².

Quando foi analisada a reprodutibilidade do teste sorológico ML Flow em relação a outras metodologias de classificação, verificou-se que o teste apresentou melhor desempenho com a classificação da OMS, o que mostra que poderia ser utilizado em caso de dúvida nesta classificação, pois ele especifica os casos de hanseníase tão bem quanto os critérios da OMS. Teixeira et al¹³ descreveram que as unidades de saúde poderiam utilizar, na sua rotina, o teste ML Flow para confirmação da classificação baseada nos critérios da OMS, com o objetivo de evitar o subtratamento ou o tratamento excessivo do caso de hanseníase. No presente estudo foi encontrada forte concordância dos resultados do ML Flow com a classificação da OMS ($\kappa = 0,4647$; $p = 0,0022$).

Quando analisado o desempenho do ML Flow com o BAAR, o teste apresentou forte concordância (72,09%), o que mostra que na impossibilidade de solicitar a baciloscopia, devido à falta de infraestrutura, insumos ou de profissionais qualificados para realizá-la, o teste ML Flow poderia ser utilizado, ou ainda em caso de dúvida na classificação, poderia ser a primeira escolha de solicitação de exame, uma vez que pode ser realizado na própria unidade e seu resultado ser imediato. No caso de permanência de dúvida, a baciloscopia seria então solicitada. A vantagem desta estratégia diagnóstica seria a redução no desconforto do paciente, pois a coleta do material para baciloscopia é dolorosa e invasiva; e de custo, pois diminuiria a solicitação da bacterioscopia. Entretanto, note-se que a concordância do teste ML Flow com a baciloscopia nos pacientes MB varia entre 95,7% a 87,2%; e considerando ambos os grupos de pacientes, PB e MB, há uma variação de 70% a 66,7%^{14,15,16,17}.

Em relação ao EH, o teste ML Flow apresentou uma concordância moderada, o que não indicaria a substituição da histopatologia pelo ML Flow. Na realidade, muitos pacientes portadores de hanseníase possuem dificuldades no acesso ao EH, além do mesmo advir de um procedimento invasivo e oneroso.

Quando analisado o desempenho do teste ML Flow com a classificação dos DERM, houve concordância, o que equivale a uma concordância moderada. O que pode ser explicado pelo fato do teste avaliar simplesmente a resposta imune por anticorpos, enquanto os DERM levam em conta as alterações imunopatomorfológicas causadas no tecido

do hospedeiro pela infecção por *M. leprae*, o que permite uma avaliação mais completa do caso. Por outro lado, em estudo realizado na Nigéria, Bühler-Sékula et al¹⁸ observaram que 95,7% dos pacientes receberam poliquimioterapia para casos MB baseados na classificação dos profissionais de saúde, quando apenas 62,9% apresentavam ML Flow positivo. Destes, 55,9% tinham até cinco lesões de pele e, portanto, seriam classificados como PB, conforme recomendação da OMS.

Observou-se que o teste ML Flow apresentou melhor sensibilidade com a classificação final emitida pelos DERM. Percebe-se assim que apesar dos DERM utilizarem vários critérios para classificar um caso de hanseníase em PB ou MB, o teste apresentou uma concordância significativa na identificação de casos MB, o que permitiu concluir que a combinação da avaliação dos profissionais de saúde com o teste ML Flow torna mais precisa a classificação dos casos de hanseníase em MB.

Em relação à especificidade, o ML Flow apresentou melhor concordância com o teste baciloscópio, ou seja, identificou casos PB tão bem quanto a baciloscopia, o que significa dizer que a associação da baciloscopia e o ML Flow torna mais precisa a classificação dos casos de hanseníase em PB ou, que na ausência da baciloscopia, a sorologia poderia ser um teste alternativo.

CONCLUSÃO

Quando analisado no contexto de exames complementares utilizados para finalizar o diagnóstico, o teste ML Flow, apesar de suas limitações, demonstrou potencialidade como ferramenta rápida e fácil para auxiliar na classificação e tratamento da hanseníase, principalmente em locais cujo acesso aos serviços de referência é difícil, pois o teste não agrega sensibilidade aos testes convencionais.

APOIO FINANCEIRO

Projeto financiado pelo Ministério da Saúde.



Assessment of serological tests for leprosy complementary diagnostic

ABSTRACT

This is a prospective, cross-sectional study, with emphasis in diagnostic tests to assess the agreement of serological tests (ML Flow) in relation to skin smears, histopathological examination, operational classification of cases according to World Health Organization (WHO) criteria, and the classification issued by dermatologists. This study consisted of 43 new cases of leprosy in the Cities of Belém and Marituba, Pará State, Brazil. The results showed that, based on Kappa coefficient, ML Flow had higher correspondence with WHO classification; the best level of agreement corresponded to the set of three diagnoses, because it presented higher reproducibility and lower disagreement frequency; the classification based on ML Flow test showed 72.09% agreement with both WHO operational classification and skin smears, 68.05% with histopathological examination and 62.79% with operational classification issued by dermatologists. When ML Flow test was associated with two other tests or classification forms, there was greater agreement in the association with WHO and histopathological examination (60.46%). These results showed that the adoption of ML Flow test as a complementary method in leprosy would be a useful tool in classification of cases, diagnosis and leprosy treatment.

Keywords: Leprosy; Serologic Tests; Classification.

Evaluación de análisis serológicos para diagnóstico complementario en hanseníasis

RESUMEN

Se trata de un estudio prospectivo transversal con enfoque en análisis diagnósticos para evaluar la concordancia de la prueba serológica (ML Flow) en relación a la baciloscopia, al examen histopatológico, la clasificación operacional de los casos según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la clasificación emitida por dermatólogos. Este estudio estuvo compuesto por 43 casos nuevos de hanseníasis de los Municipios de Belém y Marituba, Estado de Pará, Brasil. Los resultados mostraron que basado en el coeficiente Kappa, se obtuvo una mayor correspondencia de la prueba ML Flow con la clasificación de la OMS; el mejor nivel de concordancia correspondió al conjunto de trincas, por presentar más alta reproducibilidad y menor frecuencia de discordancia; la clasificación basada en el resultado de la prueba ML Flow mostró una concordancia de 72,09%, respectivamente con la clasificación operacional de la OMS y con la baciloscopia, seguida de 68,05% basada en el examen histopatológico y 62,79% con la clasificación operacional emitida por dermatólogos. Al asociar la prueba ML Flow con otras dos pruebas o formas de clasificación en conjunto, hubo mayor concordancia en la asociación con la OMS y el examen histopatológico (60,46%). Estos resultados muestran que la adopción de la prueba ML Flow, como método complementario en hanseníasis sería una herramienta útil en la clasificación de los casos, en el diagnóstico y el tratamiento de la hanseníasis.

Palabras clave: Lepra; Pruebas Serológicas; Clasificación.



REFERÊNCIAS

- 1 World Health Organization. Leprosy update, 2011. *Wkly Epidemiol Rec.* 2011 Sep;86(36):389-99.
- 2 Brasil. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 2.556, de 28 de outubro de 2011. Estabelece mecanismo de repasse financeiro do Fundo Nacional de Saúde aos Fundos de Saúde Estaduais, do Distrito Federal e Municipais por meio do piso variável de vigilância e promoção da saúde para implantação, implementação e fortalecimento da vigilância epidemiológica da hanseníase, tracoma, esquistossomose e geohelmintíases. *Diário Oficial da União, Brasília*, p. 30, 31 out. 2011. Seção 1.
- 3 Oliveira MLW, Cavaliere FAM, Macieira JMP, Bühner-Sékula S. O uso da sorologia como ferramenta adicional no apoio ao diagnóstico de casos difíceis de hanseníase multibacilar: lições de uma unidade de referência. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008;41supl 2:27-33.
- 4 Barros RPC, Oliveira MLWR. Detecção de anticorpos específicos para o antígeno glicolípido fenólico-1 do *M. leprae* (anti PGL-1IgM): aplicações e limitações. *An Bras Dermatol.* 2000 nov-dez;75(6):745-53.
- 5 Oskam L, Slim E, Bühner-Sékula S. Serology: recent developments, strengths, limitations and prospects: a state of the art overview. *Lepr Rev.* 2003 Sep;74(3):196-205.
- 6 Bühner-Sékula S, Smits HL, Gussenhoven GC, Leeuwen JV, Amador S, Fujiwara T, et al. Simple and fast lateral Flow Test for classification of leprosy patients and identification of contacts with high risk of developing leprosy. *J Clin Microbiol.* 2003 May;41(5):1991-5.
- 7 Parkash O. A strategy to improve the ML Flow test for detection of anti-phenolic glycolipid-1 antibodies. *Lepr Rev.* 2004 Jun;75(2):192-3.
- 8 Maeda SM, Yamashita JT. Micobacterioses. In: Rotta O, coordenador. *Guia de dermatologia: clínica, cirúrgica e cosmética*. São Paulo: Manole; 2008. p. 114-8.
- 9 Oliveira MLW. Infecções por micobactérias. In: Ramos-e-Silva M, Castro MCR. *Fundamentos de dermatologia. rev. ampl.* Rio de Janeiro: Atheneu; 2010. p. 914-33.
- 10 Casanave AL, Vaz B, Schultz S. Diagramas e provas. *Dois Pontos.* 2009 out;6(2):13-25.
- 11 Fontelles MJ. Bioestatística: aplicada à pesquisa experimental. Vol. 2. São Paulo: Livraria da Física; 2012. Testes de rastreamento diagnóstico; p. 319-33.
- 12 Bühner-Sékula S, Illarramendi X, Teles RB, Penna MLF, Nery JAC, Sales AM, et al. The additional benefit of the ML Flow test to classify leprosy patients. *Acta Trop.* 2009 Aug;111(2):172-6.
- 13 Teixeira AC, Cruvinel DL, Roma FR, Luppino LF, Resende LHP, Sousa T, et al. Avaliação da concordância entre exames clínicos e laboratoriais no diagnóstico da hanseníase. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008;41 supl 2:48-55.
- 14 Contin LA, Alves CJM, Fogagnolo L, Nassif PW, Barreto JA, Lauris JRP, et al. Uso do teste ML-Flow como auxiliar na classificação e tratamento da hanseníase. *An Bras Dermat.* 2011 jan-fev;86(1):91-5.
- 15 Grossi MAF, Leboeuf MAA, Andrade ARC, Lyon S, Antunes CMF, Bühner-Sékula S. A influência do teste sorológico ML Flow na classificação da hanseníase. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008;41 supl 2:34-8.
- 16 Limeira OM. Um estudo sobre a concordância entre os testes ML Flow e baciloscopia no controle da hanseníase em casos novos e reacionais pós alta multibacilares e seus contatos [dissertação]. Brasília (DF): Universidade de Brasília, Faculdade de Medicina; 2006. 85 f.
- 17 Lyon S, Silva RC, Lyon AC, Grossi MAF, Lyon SH, Azevedo ML, et al. Associação do teste sorológico ML Flow com a baciloscopia. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008;41 sup 2:23-6.
- 18 Bühner-Sékula S, Visschedijk J, Grossi MAF, Dhakal KP, Namadi AU, Klaster PR, et al. The ML Flow test as a point of care test for leprosy control programmes: potential effects on classification of leprosy patients. *Lepr Rev.* 2007 Mar;78(1):70-9.

Recebido em / Received / Recibido en: 8/1/2014
 Aceito em / Accepted / Aceito en: 12/9/2014