



**Ministério da Saúde.
Fundação Oswaldo Cruz
Escola Nacional de Saúde Pública
Doutorado em Saúde Pública**

*“Risco de desenvolver hanseníase em contatos de pacientes,
segundo positividade ao teste anti PGL-I
e situação vacinal (BCG)”*

Nádia Cristina Düppre

Tese apresentada à Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca / FIOCRUZ
para obtenção de título de Doutor em Ciências da Saúde

Orientadores:

Prof. Dr. Luiz Antonio Bastos Camacho
Departamento de Epidemiologia e Métodos Quantitativos-ENSP / FIOCRUZ

Prof^ª. Dra. Samira Buhner-Sekula
Departamento de Imunologia – IPTSP – Universidade Federal de Goiás

Merecimento e graça não caminham juntos. A graça é divina e o merecimento é um esforço humano de se fazer digno e de se fazer responsável.

Saint. German

A todos aqueles que me ensinaram a dignidade de me tornar um ser humano responsável e que, se estivessem aqui, certamente estariam compartilhando comigo o orgulho de mais esta vitória.

Meu pai João Duppre, minha mãe Ana, minha irmã Ana Silvia e minha querida amiga Miriam.

Agradecimentos

Há pessoas que transformam o sol numa simples mancha amarela, mas há aquelas que fazem de uma mancha amarela o próprio sol.

(Pablo Picasso)

Primeiramente a Deus, por ter me presenteado com tantas pessoas à minha volta que têm a capacidade de transformar centenas de manchas amarelas em maravilhosos sois que norteiam o meu caminho.

Meus eternos agradecimentos à Dra Maria Therezinha Breda Carvalho, por ter sido a pedra angular em minha vida e ter me ensinado o valor da solidariedade, da confiança e ter tido o despreendimento de me doar o seu sol, para que eu tivesse os instrumentos necessários para usufruir de todas as possibilidades que me foram colocadas no caminho.

Ao meu marido, José (YOU), por tanto tempo de companheirismo e por também viver cada passo meu, feliz e confiante.

À minha filha Julia, que não tinha ainda 6 anos quando tudo isso começou, quantas brincadeiras tiveram que ser adiadas para depois da execução deste trabalho.

À minha filha Anna Carolina, que também era uma adolescente e hoje já uma moça, meu carinho e minha admiração por sua compreensão, presença e ternura.

Ao meu orientador, Dr. Luiz Antonio Bastos Camacho a quem tanto admiro pelo seu saber e competência, por sua disponibilidade irrestrita, sua dedicação, pela cuidadosa orientação de meu trabalho facilitando o alcance de todos os objetivos.

A minha co-orientadora, Dra Samira Bühler-Sékula pela seriedade com que se dedica a pesquisa e pelo carinho com que exerceu esta orientação, pelo seu estímulo, pelo companheirismo, presença constante principalmente na elaboração final desta tese, meu carinho, minha admiração, meus mais sinceros agradecimentos.

A Dra. Euzenir Nunes Sarno por sua grande capacidade científica, pelo seu incentivo constante, por ter despertado em mim o interesse e o gosto pela pesquisa, cujo comportamento ético sempre foi para mim um exemplo.

Para todos os meus amigos do Ambulatório Souza Araújo, companheiros de tantos anos de jornada, trabalhando anos a fio na construção de todos esses dados que foram aqui analisados. Pelo encorajamento, a paciência e o carinho transmitidos, ao longo da construção desta tese de doutorado. Quantas mudanças, avanços, conquistas e lutas durante este período. José Augusto da Costa Nery, Rita Maria Oliveira Pereira, Anna Maria Sales, Maria Eugenia Noviski Galo, Denise de Moura Vieira, Virna Jansen da Silva Pereira, Emanuel Rangel, Márcia Maria Jardim Rodrigues, Robson Vidal. Também aqueles que já deixaram a sua contribuição e hoje estão trabalhando em outros locais: Karine Pessanha, Maria das Graças Fernandes, Maria Helena Nunes, Maria do Nascimento Nunes.

A Dra. Raquel Tardin gerente do Programa de Hanseníase do Município do Rio de Janeiro, sempre amiga, prestativa, interessada sempre me incentivando durante todo este percurso e a Dra. Marilda gerente do Programa de Hanseníase do Estado do Rio de Janeiro ambas, dentro do espírito de colaboração, gentilmente me possibilitaram o acesso às informações contidas no banco de dados do SINAN tanto do Município como do Estado do Rio de Janeiro, informações estas que foram de suma importância para a condução deste estudo.

A Rose B. Teles, Andressa Cristina Gomes pelo apoio técnico na realização dos testes sorológicos, e também a Wanilda Nunes Blandy Corrêa na alimentação do banco de dados e repasse das informações que tanto colaboraram para o andamento deste estudo.

A Ximena Illarramendi Rojas, sempre prestativa a rever meus textos em Inglês e pelas contribuições importantes nas fases de envio e publicação dos artigos aqui apresentados.

A Danuza de Almeida Esquenazi , pela sua amizade, seu grande carinho em toda esta nossa jornada no Laboratório de Hanseníase, pelo seu desprendimento em tão

prontamente me disponibilizar a cópia de sua tese para que servisse de modelo na formatação da minha.

A Rodrigo e mais uma vez a Dra. Samira Bühler-Sékula pela disponibilidade e dedicação no trabalho intensivo de revisão, formatação tanto do texto como das referências que fizeram com que este trabalho se concretizasse.

A Myriam Primo, que foi um presente adquirido durante o período deste meu doutorado, sua confiança, sua presença amiga sempre me estimulando e me encorajando-me a prosseguir na execução desta tese em meio a tantas intempéries do dia a dia.

Um carinho especial por todos os pacientes atendidos no serviço, as suas famílias, suas dores, suas alegrias. Sem eles teria sido impossível a obtenção de achados tão valiosos como aqueles que encontramos neste estudo.

Muito especialmente, com o carinho e com todo o amor que se tem quando se respeita e se ama. Minhas amigas do “Caminho”, Sonia Mano, Sonia Mattos, Giselda Kalil, Analu Palma, Sandra Araújo, Rosana Rodrigues, Elaine, Silvana Massiotti que durante todo este tempo me ajudaram a perceber a capacidade que existe em mim de transformar uma pequena mancha amarela em um lindo sol.

NÁDIA CRISTINA DÜPPRE

Risco de desenvolver hanseníase em contatos de pacientes, segundo positividade ao teste anti PGL-I e situação vacinal (BCG)

Tese apresentada à Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca (ENSP)/ FIOCRUZ
Para obtenção de título de Doutor em Ciências da Saúde.

Examinada pela comissão formada pelos professores:

Orientador: _____
Prof. Dr. Luiz Antonio Bastos Camacho
Departamento de Epidemiologia e Métodos Quantitativos-ENSP / FIOCRUZ

Profª. Dra. Maria Lucia Fenandes Penna
Departamento de Epidemiologia do Instituto de Medicina Social - /UERJ

Prof. Dr. Haroldo José de Matos
Universidade do Estado do Rio de Janeiro- /UERJ

Prof. Dr. Guilherme Loureiro Werneck
Departamento de Epidemiologia do Instituto de Medicina Social /UERJ
Departamento de Endemias Samuel Pessoa/ENSP

Prof. Dr. Andre Reynaldo Santos Périssé
Departamento de Ciência Biológica/ENSP

Suplente: Dr. José Augusto da Costa Nery
Pesquisador do Laboratório de hanseníase/ IOC/FIOCRUZ

Suplente: Dra. Sonia Regina Lambert Passos
Pesquisador Adjunto, Pesquisa Clínica Em Doenças Infeciosas – IPEC/FIOCRUZ

Índice

Agradecimentos	iii
Lista de Siglas e Abreviaturas	ix
Lista de Figuras e Tabelas	x
Resumo	xi
Summary	xii
1. Justificativa	1
2. Objetivos	4
2.1. Objetivo Geral	4
2.2. Objetivos específicos	4
3. Revisão bibliográfica	5
3.1. Hanseníase	5
3.2. Agente infeccioso	6
3.3. Manifestações Clínicas	7
3.3.1. Classificação clínica:	8
3.3.2. Classificação baseada na baciloscopia:	9
3.3.3. Classificação operacional:	10
3.3.4. Exame histopatológico	11
3.4. Sorologia Anti PGL-I	12
3.5. Fatores que favorecem a transmissão.	14
3.6. Imunoprofilaxia	16
3.7. O atual cenário da endemia de hanseníase no Brasil	17
3.8. Histórico das Estratégias de Eliminação	18
3.9. Estratégias de ações de controle da hanseníase no Brasil.	20
4. Primeiro artigo	23
4.1 Summary	25
4.2. Introduction	26
4.3. Materials and methods	29
4.3.1. Study design	29
4.3.2. Contact identification	29
4.3.3. Vaccination status	30
4.3.4. Case detection	31
4.3.5. Statistical analysis	32
4.4. Results	34
4.4.1 Vaccine protection of BCG in contacts	35
4.4.2. Vaccine protection conferred by BCG administered before contact examination	36

4.5. Discussion	37
5. Segundo artigo	45
5.1. Summary	47
5.2. Introduction	48
5.3. Material And Methods	49
5.3.1. Study Design	49
5.3.2. Contact Examination	49
5.3.3. Contact Definition	50
5.3.4. Contact Vaccination Status	50
5.3.5. PGL-I serology	50
5.3.6. Case detection	51
5.3.7. Statistical analysis	51
5.4. Results	52
5.5. Discussion	54
6. Terceiro artigo	62
6.1. Resumo	64
6.2. Introdução	65
6.3. Metodologia	68
6.3.1. Recrutamento dos contatos	68
6.3.2. Análise estatística	70
6.4. Resultados	72
6.5. Discussão	75
7. Lista de Referências	83
8. Considerações Finais:	93
9. Anexos	95
Anexo 1 Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	96
Anexo 2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	97
Anexo 3 Ficha de Investigação Epidemiológica	101
Anexo 4 Protocolo ML Flow	104
Anexo 5 Protocolo ML Dipstick	106
Anexo 6 Protocolo simplificado ML Dipstick	110

Lista de Siglas e Abreviaturas

ASA	Ambulatório Souza Araújo
BCG	Bacilo de Calmette-Guérin
BCG-ID	Bacilo de Calmette-Guérin - Intradérmica
BI	Bacterial Index
BL	Borderline-Lepromatoso
BMH	Brazilian Ministry of Health
BT	Borderline-Tuberculóide
CI	Confidence Intervals
CNPH	Coordenação Nacional do Programa de Hanseníase
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HI	Hanseníase Indeterminada
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IB	Índice Baciloscópico
IgM	Imuno globulina M
IOC	Instituto Oswaldo Cruz
LL	Lepromatoso-Lepromatoso
<i>M. leprae</i>	<i>Mycobacterium leprae</i>
MB	Multibacilar
MDT	Multidrug therapy
ML Dipstick	Teste imunocromatográfico para o PGL-I, <i>M. leprae</i>
ML Flow	Teste de Fluxo Lateral para o PGL-I, <i>M. leprae</i>
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
OR	Odds Ratio / Razão das chances
PB	Paucibacilar
PGL-I	Glicolípido fenólico-1
PQT	Poliquimioterapia
PQT/OMS	Poliquimioterapia da Organização Mundial da Saúde
PY	Person-years
RJ	Rio de Janeiro
RR	Rate Ratios
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SVG	Secretaria de Vigilância em Saúde
TT	Tuberculóide-Tuberculóide
VE	Vaccine effectiveness
WHO	World Health Organization

Lista de Figuras e Tabelas

Artigo 1

Tabela 1. Number of cases per total person-years among contacts and leprosy incidence rates by BCG vaccination status after diagnosis of index cases, stratified by selected covariates. 43

Tabela 2. Crude and adjusted leprosy incidence rates and association with BCG vaccine administered after index case diagnosis, only including contacts that became ill after 1 year of follow up 44

Figura 1. Distribution of leprosy contacts based on BCG vaccination and BCG scar status. 42

Artigo 2

Tabela 1. Distribution of PGL-1 tested and untested contacts according to selected variables. June 1987 to October 2007. 58

Tabela 2. Crude and adjusted measures of association of seropositivity and selected covariates, among leprosy contacts. 59

Tabela 3. Number of cases/total person years among contacts and rate ratios (95% confidence limits) of leprosy according initial serological status by selected covariates. 60

Figura 1. Cumulative proportion surviving (Kaplan-Meier) in contacts of leprosy patients according serological results and BCG vaccination after diagnoses of the index cases 61

Artigo 3

Figura 1. Proporção de famílias com casos de hanseníase detectados durante o estudo Segundo o momento da detecção. 79

Tabela 1. Incidência acumulada de hanseníase no exame inicial Segundo o intervalo de tempo entre o diagnóstico do caso índice e o comparecimento do contato para exame dermatoneurológico. 80

Tabela 2. Distribuição dos casos novos de hanseníase entre os contatos detectados no momento do exame inicial (co-prevalentes) por forma clínica e grau de incapacidade física segundo o intervalo de tempo entre o diagnóstico do caso índice e o comparecimento do contato. 81

Tabela 3. Características demográficas e epidemiológicas dos contatos segundo o momento da detecção durante todo o período do estudo. 82

Resumo

Os contatos domiciliares dos pacientes de hanseníase apresentam um maior risco de adoecer, e o exame deste grupo é uma das atividades fundamentais para controle da doença. O Ministério da Saúde recomenda o exame dos contatos dos pacientes e a aplicação da vacina BCG como medidas preventivas. Este estudo objetivou avaliar o risco de desenvolver hanseníase em contatos, segundo a positividade ao teste para anticorpos contra o glicolípido fenólico I (PGL-I) do *M. leprae* e status vacinal (BCG). Os dados obtidos foram apresentados em três artigos. No primeiro foi avaliado o efeito protetor da vacina BCG em contatos, administrada após o diagnóstico do caso índice. Foram incluídos 5.346 contatos (3.536 vacinados e 1.810 não), durante o seguimento 122 (2,2%) casos incidentes foram detectados. Desses, 28 adoeceram nos primeiros meses após o exame inicial (21 vacinados e 16 sem cicatriz de BCG). Embora o risco de desenvolver as formas tuberculóides tenha sido maior nos primeiros meses de seguimento em vacinados e sem cicatriz, o mesmo diminuiu substancialmente após o primeiro ano da vacinação. A proteção global pelo BCG foi de 56%. O segundo artigo avaliou risco de adoecer entre os contatos segundo a soropositividade ao teste anti PGL-I. Entre 2.127 testados, 341 (16%) foram soropositivos. Neste grupo, o risco de adoecer foi 3,5 maior do que nos soronegativos. No subgrupo de menores de 10 anos, este risco foi de 9,8. Entre os soropositivos vacinados houve predominância das formas paucibacilares (PB) e entre os não vacinados, das formas multibacilares (MB). No terceiro artigo foram analisadas as características dos casos de hanseníase detectados na vigilância de contatos, relacionando-os com a exposição à infecção e o intervalo de tempo entre o diagnóstico do caso índice e o exame. Entre 6.158 examinados, 319 casos foram detectados no primeiro exame. Desses, 113 (35%) compareceram 12 meses após diagnóstico do caso índice. Neste subgrupo houve predominância das formas MB e grau de incapacidade igual a 2. No seguimento, 129 novos casos foram detectados e crianças de famílias que tinham casos co-prevalentes, apresentaram um risco maior de adoecer (OR = 2,1) do que os adultos. Nossos resultados indicam que: a vacina BCG administrada após o diagnóstico do caso índice protegeu contra hanseníase. A sorologia mostrou ser um bom instrumento para detectar contatos com maior risco de adoecer. Ações de educação em saúde junto aos pacientes e as famílias, somados ao comprometimento dos profissionais com o exame de contato, foram a base para o exame de um número significativo deles, mesmo que tardiamente, em muitos casos.

Palavras-chave: Hanseníase, vigilância de contatos, BCG, sorologia anti PGL-I.

Summary

Household contacts of leprosy patients present a higher risk of contracting *leprosy*. Therefore, the medical examination of this group is of utmost importance in controlling the disease. As a preventive measure, the Brazilian Ministry of Health recommends the examination of all household contacts and BCG vaccination. The objective of the present study was to evaluate the risk of contacts' developing the disease on the basis of seropositivity to phenolic glycolipid I (PGL-I) of *M. leprae* and BCG status. The resulting data were presented in three separate articles. The first article evaluated the protective effect of the BCG vaccine in contacts after index case diagnosis. Among the 5,680 contacts (3,536 vaccinated and 1,810 not) during the follow-up period, a total of 122 (2.2%) incident leprosy cases were detected, twenty-eight of whom occurred in the first few months of follow-up (21 vaccinated, 16 without a scar). The risk of tuberculoid leprosy during the initial months was high among the vaccinated without a BCG scar. However, the risk had substantially declined by the first year and more so in the following years. It was seen that, overall, BCG offered a 56% protective rate. The second article described the risk of leprosy among contacts with a seropositive anti-PGL-I test. Out of the 2,127 contacts tested, 341 (16%) were seropositive. In this group, the risk of leprosy was 3.5 higher than among the seronegative. For the contacts under 10 years of age, the relative risk was 9.8. In vaccinated seropositive contacts the paucibacillary forms (PB) predominated within the multibacillary (MB) forms were most frequent among the non-vaccinated. The third article characterized the leprosy cases detected during contact examination and correlated them to the source of infection as well as to the lapse between index case diagnosis and contact examination. Among the 6,158 contacts evaluated, 319 leprosy cases were detected during the first examination; and 113 (35%) of these were clinically examined 12 months after index case diagnosis. In the latter group, the MB forms and disability grade = 2 predominated. During follow-up, 129 new cases were detected and children belonging to families with co-prevalent cases presented a higher risk of becoming ill (OR = 2.1) than adults. To summarize, our results indicated that: BCG vaccination after index case diagnosis was related to protect against leprosy. The anti PGL-I test was found to be an effective instrument for detecting high-risk contacts. Health education activities for patients and their families contributed for a large number of contacts examination, although somewhat late in some cases.

Key words: Leprosy, contact examination, BCG, anti-PGL-I serology.

1. Justificativa

Nas últimas décadas, têm se observado grandes modificações no Programa de Controle da Hanseníase. Estas modificações são resultados da implementação da poliquimioterapia (PQT) pela Organização Mundial de Saúde (OMS) na década de 80 bem como das reformas estruturais adotadas no país, que somados ao esforço global, visam a eliminação da doença como problema de saúde pública (coeficiente de prevalência inferior a 1 por 10 mil habitantes). Desde então, a prevalência global estimada foi reduzida em mais de 80% nos últimos anos ¹.

No entanto, a hanseníase ainda constitui um relevante problema de saúde pública em alguns países do mundo, inclusive no Brasil, que detém o segundo maior número de casos registrados ². Segundo a OMS o número de casos novos detectados globalmente apresenta uma queda de 40.019 casos (13.4 %) quando comparado com 2005. No início de 2007, a prevalência mundial foi de 224.717 casos e o número de casos novos detectados durante o ano de 2006 foi de 259.017. Nas Américas, foram detectados 64.715 casos novos, sendo que desse total 46.535 (72%) foram no Brasil ³.

Outro indicador relevante é a proporção de crianças entre os novos casos detectados. No ano de 2006, o Brasil ⁴ apresentou um coeficiente de detecção em menores de 15 anos de 0.70 /10.000 habitantes, considerado muito alto segundo os parâmetros nacionais (1,0 a 0,5/10,000 habitantes) ⁵. No estado de Rio de Janeiro ⁴, neste mesmo ano este coeficiente foi de 0.40/10.000 habitantes, considerado alto segundo os parâmetros nacionais (0,5 a 0,25/10,000 habitantes) ⁵. Para Feenstra, P. ⁶ a detecção da doença em menores de quinze anos é indicador de alta endemicidade e de transmissão recente da infecção.

Uma das formas para se avaliar a precocidade do diagnóstico é por meio da ocorrência de incapacidades físicas na ocasião do diagnóstico ⁷. No Brasil ⁸, a cada ano, cerca de três mil pessoas ainda são diagnosticadas com deformidade física, o que mostra que o momento do diagnóstico ainda é feito tardiamente no país.

Portanto, o controle da endemia ainda representa um verdadeiro desafio para as autoridades sanitárias brasileiras. A eliminação da hanseníase, como problema de saúde pública, requer o cumprimento rigoroso das medidas de vigilância epidemiológica, estabelecidas pelo Ministério da Saúde ⁹, o qual prioriza o diagnóstico precoce como atividade principal das ações de controle da doença.

Estudos sobre a transmissão da hanseníase demonstram que as pessoas que convivem e têm contato com os doentes estão expostas a um maior risco de adoecer quando comparadas com a população em geral. Os contatos domiciliares de casos multibacilares representam um grupo caracterizado por alta exposição ao bacilo ^{10,11}. Portanto, do ponto de vista epidemiológico, uma das atividades fundamentais para evitar o aumento da transmissão da doença é o exame dos contatos, o qual poderia aumentar a oportunidade de diagnosticar e curar casos de hanseníase de maneira mais precoce ⁹.

As normas brasileiras recomendam o exame dos contatos intradomiciliares de todos os casos novos de hanseníase detectados, bem como orientação quanto aos sinais e sintomas, período de incubação, aspectos ligados à transmissão, tratamento e cura. Recomendam também a aplicação da vacina BCG intradérmica, como importante medida preventiva, sendo duas doses da vacina para aqueles que não tenham cicatriz de BCG, com intervalo de 6 meses entre as doses e uma dose para aqueles com cicatriz vacinal ¹². No entanto, devido a problemas operacionais como carência de recursos humanos e ausência de infra-estrutura mínima nas unidades de saúde, o exame dos contatos de pacientes não é praticado de forma efetiva na grande maioria dos estados brasileiros ¹³.

O Plano Estratégico para Eliminação da Hanseníase em nível municipal 2006-2010² está baseado no princípio da sustentabilidade proposto pela OMS. A estratégia, para que a meta de eliminação da hanseníase seja alcançada em nível municipal até 2010, está concentrada na integração com a atenção básica de maneira a tornar mais acessível o diagnóstico e o tratamento, impedindo a manutenção da cadeia de transmissão de pessoa a pessoa. Um dos principais desafios do Plano está em garantir o desenvolvimento de ações que favoreçam o diagnóstico precoce na faixa etária de menores de 15 anos.

Para assegurar a redução da ocorrência dos casos, o Ministério da Saúde enfatiza a necessidade de intervenções constantes e continuadas tais como: diagnósticos, tratamento poliquimioterápico PQT/OMS; vigilância epidemiológica por meio do exame de contatos; educação do paciente, da família e da comunidade; prevenção de incapacidades/deficiências, reabilitação e encaminhamento das complicações segundo os níveis de complexidade da assistência, assim como o acompanhamento dos casos prevalentes até a cura².

Portanto, acreditamos que uma maior compreensão dos mecanismos de transmissão da infecção, associada à avaliação das efetividades dos métodos de prevenção e controle, empregados nas atividades de vigilância epidemiológica dos contatos, poderá ser um instrumento auxiliar na realização das estratégias de controle da doença.

Esta Tese de Doutorado está apresentada sob a forma de três artigos inter-relacionados:

O primeiro artigo tem o objetivo de avaliar o efeito protetor da vacina BCG em contatos de pacientes de hanseníase, administrada após o diagnóstico do caso índice segundo as recomendações do Ministério da Saúde.

O segundo artigo tem o objetivo de identificar fatores associados com a soropositividade nos contatos de pacientes com hanseníase e estudar esta relação com as características demográficas, clínicas e epidemiológicas dos casos de hanseníase detectados neste grupo utilizando a sorologia anti PGL-I.

O terceiro artigo tem como objetivo avaliar as características dos casos novos de hanseníase detectados na vigilância de contatos, relacionando estes casos com a exposição à infecção e o intervalo de tempo entre o diagnóstico do caso índice e o comparecimento do contato.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Identificar e caracterizar os indivíduos com maior risco de desenvolver hanseníase entre os contatos dos pacientes.

2.2. Objetivos específicos

2.2.1. Avaliar o efeito protetor do BCG aplicado aos contatos após o diagnóstico dos casos índices.

2.2.2. Analisar a associação da positividade da sorologia anti PGL-I em contatos com outros fatores de risco de adoecer.

2.2.3. Avaliar as características dos casos novos de hanseníase detectados na vigilância de contatos, relacionando estes casos com a exposição à infecção e o intervalo de tempo entre o diagnóstico do caso índice e o comparecimento do contato.

3. Revisão bibliográfica

3.1. Hanseníase

A hanseníase é uma doença infecciosa de evolução crônica, causada pelo *Mycobacterium leprae*, bacilo intracelular, que tem tropismo pela pele e nervos periféricos¹⁴.

Acredita-se que o homem seja o único reservatório natural do *M. leprae*. A ocorrência de infecção natural entre os tatus de nove bandas (*Dasypus novemcinctus*) e casos de hanseníase em macacos já foram documentados, não existindo, porém, evidências de tatus e macacos transmitindo a doença ao homem¹⁵.

As três vias prováveis de introdução do bacilo no organismo são: o tecido cutâneo, a respiratória e a digestiva. Como o *M. leprae* não produz toxinas, para que o bacilo se introduza na pele é necessário que haja solução de continuidade. Dessa forma somente inoculações acidentais com *M. leprae* tornariam a pele uma possível via de contaminação, já que não existem evidências de que o bacilo possa penetrar na pele intacta¹⁶.

Segundo Pedley¹⁷ a principal porta de saída do *M. leprae* do organismo está relacionada com a mucosa do trato respiratório superior, especialmente a do nariz. Os pacientes multibacilares podem eliminar grande número de *M. leprae* pelas vias aéreas superiores, em média 10^7 bacilos viáveis por dia. Essas vias são as principais fontes de saída de bacilos para o meio ambiente e também as de entrada mais prováveis do *M. leprae* no organismo, o que pode ser facilitado se o indivíduo que entra em contato com o bacilo apresenta pequenas lesões na mucosa nasal.

Davey & Rees¹⁸ observaram que o índice morfológico (viabilidade do bacilo) das secreções nasais foi significativamente maior que o das lesões cutâneas. Segundo os autores, em solo úmido e a temperatura ambiente, os bacilos podem sobreviver até 46 dias. Os bacilos eliminados diariamente pela mucosa nasal de um paciente lepromatoso se

mantêm viáveis por sete dias no meio ambiente, ratificando assim, a importância das vias aéreas superiores no processo de transmissão da doença.

3.2. Agente infeccioso

O *M. leprae* é um patógeno intracelular obrigatório, que apresenta baixa atividade catabólica e não produz endo ou exotoxinas. Apesar de causar doença apenas em seres humanos, o bacilo pode se replicar em coxim plantar de camundongos e produzir infecção disseminada no tatu de nove bandas (*Dasypus novemcinctus*, Linn.). O fígado de um tatu infectado concentra cerca de 10^9 bacilos/grama de tecido, o que disponibiliza uma quantidade considerável de *M. leprae* para ensaios laboratoriais, pois até hoje não foi possível cultivá-lo *in vitro* ¹⁹.

O tempo de geração do bacilo varia entre 11 a 14 dias; é Gram positivo e, por ter parede celular rica em lipídeos, tem a propriedade de ser álcool-ácido resistente, ou seja, cora-se pela fucsina e não se decora pelos ácidos e álcoois quando corado pelo método de Ziehl-Neelsen. Os principais componentes do *M. leprae* são oriundos da parede celular, onde se destaca o glicolípido fenólico-I (PGL-I), majoritário e exclusivo do bacilo, indutor da produção de níveis elevados de anticorpos em parte dos indivíduos infectados ^{19,20}.

O *M. leprae* é caracterizado pela sua alta infectividade e baixa patogenicidade, ou seja, embora consiga infectar um grande número de indivíduos, somente uma pequena parcela irá desenvolver a doença, enquanto que o restante combaterá direta ou indiretamente o agente infeccioso pelo desenvolvimento de uma imunidade efetiva e não adoecerá ²¹. Assim, o risco de adquirir hanseníase entre os indivíduos expostos é baixo, o que dificulta o estudo da dinâmica de seu processo de transmissão ²².

Da mesma maneira que outras doenças causadas por microorganismos intracelulares obrigatórios, a hanseníase exige do hospedeiro uma resposta imune celular eficiente. A resposta imune específica desencadeada pelo *M. leprae*, não só determina o curso da

infecção como também as diversas formas clínicas da doença. Logo, uma falha nesta imunidade, favorece uma proliferação indiscriminada de bacilos, resultando em formas mais graves, como as encontradas no pólo lepromatoso ²³.

Entre aqueles que adoecem, as manifestações clínicas e histopatológicas compreendidas entre as formas polares são as mais variadas. As características clínicas da doença refletem a diversidade da patologia, a qual depende do equilíbrio entre a multiplicação bacilar e a resposta imune do hospedeiro. Entretanto, ainda que a imunidade celular assuma maior importância na patogenicidade da hanseníase, ela se encontra intimamente ligada à imunidade humoral. A análise isolada de qualquer uma delas tem um caráter estritamente didático, uma vez que ambas são ativadas simultaneamente e se inter-relacionam ²⁴.

3.3. Manifestações Clínicas

Um caso de hanseníase é definido pela OMS quando uma pessoa apresenta uma ou mais das seguintes características e que requer quimioterapia: lesão(ões) de pele com alteração de sensibilidade, acometimento de nervo(s) com espessamento neural e/ou baciloscopia positiva ^{9,25}.

A hanseníase manifesta-se principalmente através de lesões cutâneas anestésicas e distúrbios neuríticos. Evoluem de acordo com a natureza da resposta imune para uma regressão espontânea ou para um agravamento progressivo do quadro clínico, com o comprometimento gradual da pele, nervos, mucosa do trato respiratório superior, olhos, músculos, ossos e testículos.

As lesões apresentam-se desde uma única mancha hipocrômica até inúmeras pápulo-eritematosas disseminadas pelo corpo. Apesar da falta de sensibilidade ser característica predominante das lesões de hanseníase, cerca de 30% das lesões não são anestésicas, o que pode dificultar ainda mais o diagnóstico da doença ²⁶.

3.3.1. Classificação clínica:

As características clínicas da hanseníase refletem a patologia da doença, variando conforme o equilíbrio entre a multiplicação bacilar e o desenvolvimento da resposta imune do hospedeiro. O grau de disseminação da infecção e o número de lesões cutâneas variam ao longo de um espectro de formas clínicas, uma característica marcante da doença. As várias formas clínicas da hanseníase foram classificadas por Ridley & Jopling²⁷ como formas espectrais. A forma polar tuberculóide (TT) está situada em um dos pólos do espectro. É considerada a mais benigna e ocorre em indivíduos com predomínio da imunidade celular. As lesões são localizadas, únicas ou em pequeno número, apresentam uma baciloscopia negativa e possuem aspecto clínico de máculas ou placas com marcada alteração da sensibilidade, tanto térmica, como dolorosa e tátil. Pode acometer ambos os sexos e idades variadas.

No outro extremo do espectro se encontra a forma polar lepromatosa (LL), que aparece em pacientes com deficiência na resposta imune celular, permitindo intensa multiplicação de bacilos no interior dos macrófagos e das células de Schwann. As lesões cutâneas podem manifestar-se, inicialmente, com aspectos variados (máculas, pápulas, tubérculos, nódulos e infiltração), sendo múltiplas, simétricas e de coloração eritematosa. Na medida em que vão surgindo novas máculas e pápulas, as mais antigas vão se tornando placas e nódulos, respectivamente. Edemas nos pés e nas mãos estão presentes e levam ao aspecto endurecido e brilhante da pele no local. Gradativamente, vai ocorrendo o espessamento difuso da face com aprofundamento das linhas e espessamento do nariz e orelhas, resultando na típica fácies leonina. Pode haver perda dos supercílios e sobrancelhas. Ulceração nasal, deformidades da asa do nariz, ceratite e irite e alterações ósseas nas mãos e pés podem ser observadas mais tardiamente.

Entre os dois pólos encontram-se as formas clínicas intermediárias, com características tanto das formas lepromatosas (borderline-lepromatosa-BL) como tuberculóides (borderline-tuberculóide-BT), ou de ambas (borderline-borderline-BB). Nos pacientes BT, as lesões podem se apresentar como máculas ou placas semelhantes à forma

tuberculóide, porém são menores em diâmetro e em maior número. A superfície é menos seca, o crescimento de pêlos é menos afetado e os nervos periféricos comprometidos são mais numerosos. Lesões pequenas, satélites, estão, às vezes, presentes na periferia das lesões maiores.

Nos pacientes BB, as lesões apresentam tamanho e número intermediário entre as tuberculóides e lepromatosas. A anestesia é de grau moderado e algumas exibem aspecto de “queijo suíço”. São placas eritematosas com bordos externos não delimitados e centro oval hipopigmentado e com bordas internas bem definidas. Pequenas lesões satélites também podem ser visualizadas.

Nos pacientes BL, as lesões podem se apresentar como máculas, pápulas, placas ou nódulos. São numerosas e assimétricas; algumas placas são muito grandes e parcialmente anestésicas; alguns nódulos são deprimidos no centro; algumas placas têm o aspecto de “queijo suíço” e as lesões não são tão brilhantes e suculentas. São comuns os nervos periféricos espessados.

Em 1974, a forma clínica indeterminada (I) foi acrescentada à classificação inicial de Ridley-Jopling ²⁸. Os pacientes com esta forma da doença exibem uma ou algumas máculas hipopigmentadas, com alteração de sensibilidade. No estágio inicial da doença, a lesão indeterminada pode regredir espontaneamente, permanecer indeterminada por um prolongado período de tempo, ou progredir para qualquer outra forma do espectro dependendo da resposta imune-celular do indivíduo.

3.3.2. Classificação baseada na baciloscopia

A baciloscopia é o exame complementar mais útil no diagnóstico, de fácil execução e de relativo baixo custo, porém necessita de laboratório e de profissionais treinados, nem sempre existentes nos serviços de atenção básica. Nas formas multibacilares, a baciloscopia geralmente é positiva, auxiliando o diagnóstico definitivo da doença; porém nas formas

paucibacilares ou incipientes, ela é freqüentemente negativa, não excluindo o diagnóstico de hanseníase.

O índice baciloscópico (IB) proposto por Ridley, em 1962, representa a escala logarítmica com avaliação quantitativa dos resultados. O raspado dérmico é coletado nas lesões suspeitas, nos lóbulos e nos cotovelos. A coloração é feita pelo método de Ziehl-Neelsen. Os bacilos observados em cada campo microscópico são contados e o número de campos examinados é anotado. O IB do paciente será a média dos índices dos esfregaços. O resultado é expresso conforme a escala logarítmica de Ridley e os resultados são expressos na forma de IB, numa escala que vai de 0 a 6+.²⁴

A escala logarítmica de cada esfregaço examinado, constitui a média dos índices dos esfregaços (15).

IB = 0: não há bacilos em nenhum dos 100 campos examinados

IB = (1+): um a dez bacilos, em 100 campos examinados

IB = (2+): um a dez bacilos, em dez campos examinados (11 – 99 bacilos em 100 campos)

IB = (3+): dez bacilos, em média, em cada campo examinado

IB = (4+): 100 bacilos, em média, em cada campo examinado

IB = (5+): 1000 bacilos, em média, em cada campo examinado

IB = (6+): mais de 1000 bacilos, em média, em cada campo examinado.

3.3.3. Classificação operacional:

Em 1982 com a finalidade de facilitar a alocação dos pacientes a serem submetidos ao tratamento poliquimioterápico (PQT), a OMS recomendou a classificação dos doentes como multibacilares (MB) ou paucibacilares (PB), tendo como parâmetro o resultado do exame baciloscópico no momento do diagnóstico. Pacientes com índice baciloscópico igual ou superior a dois em qualquer sítio de coleta eram classificados como MB, e os demais pacientes com baciloscopia negativa ou com IB inferior a dois, como PB²⁹.

Posteriormente, em 1988, o Sexto Relatório do Comitê de Consultores da OMS concluiu que por razões clínicas e operacionais, todos os casos com baciloscopia positiva

deveriam ser tratados como MB e aqueles com baciloscopia negativa deveriam ser tratados como PB ³⁰.

Como os resultados dos exames baciloscópicos nem sempre eram de boa qualidade ou estavam disponíveis em todos os serviços que atendiam os pacientes de hanseníase, a OMS ³¹ resolveu modificar novamente os critérios de classificação dos pacientes abolindo a baciloscopia e considerando o número de lesões de pele e o número de nervos acometidos. Assim, seriam considerados como PB, os pacientes que apresentavam até cinco lesões cutâneas e ou apenas um tronco nervoso acometido. Os pacientes MB seriam aqueles com mais de cinco lesões cutâneas e ou mais de um tronco nervoso acometido.

Desde 2002 o Brasil passou a adotar a recomendação feita pela OMS em 1994 ³² de que, para a classificação operacional em PB e MB fosse considerado apenas o número de lesões apresentados pelos pacientes, excluindo o número de nervos acometidos. Portanto, PB são pacientes que apresentam até cinco lesões cutâneas e MB aqueles com mais de cinco lesões cutâneas.

3.3.4. Exame histopatológico

Os exames histopatológicos são úteis no diagnóstico da hanseníase, na classificação das formas clínicas e na caracterização dos fenômenos reacionais ³³. As biópsias são processadas e os cortes histológicos são corados pela hematoxilina eosina e pelo método de Fite-Faraco. Eventualmente, pode-se usar a coloração pelo Sudão III para a pesquisa de lipídios ³⁴.

O exame histopatológico pode ser útil para diagnóstico diferencial da hanseníase com outras doenças granulomatosas pelo acometimento neural ³⁵. O exame histopatológico, muitas vezes, não é característico, chegando a ser duvidoso, e, portanto, não é considerado padrão-ouro ³⁶.

3.4. Sorologia Anti PGL-I

Um dos maiores desafios na pesquisa da hanseníase persiste na descoberta de testes capazes de diagnosticar a infecção e que possam ser utilizados em regiões endêmicas, permitindo identificar grupos de risco para monitoramento, medidas preventivas ou profiláticas. Há muitos anos, diversos estudos empregando diferentes técnicas, têm sido desenvolvidos com a finalidade de atingir tal objetivo.

Por ser do gênero *Mycobacterium*, o *M. leprae* tem como principal característica um envoltório celular extremamente rico em lipídeos complexos e distintos daqueles observados em outras bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Na camada mais superficial da parede estão presentes moléculas frouxamente ligadas, que podem ser lipídeos, glicolipídeos, polissacarídeos ou proteínas, sendo essa estrutura variável entre as espécies. Dentre estas moléculas, destaca-se no *M. leprae* o glicolipídeo fenólico I (PGL-I) encontrado somente neste bacilo. O PGL-I é uma das moléculas mais abundantes da superfície do *M. leprae*, representando aproximadamente 2% do peso seco e desempenhando assim um relevante papel na interação com o hospedeiro³⁷. Os anticorpos do PGL-I do *M. leprae* podem ser detectados no soro ou plasma.

Embora uma variedade de testes para a detecção de anticorpos anti *M. leprae* tenham sido empregados desde a década de 70^{38,39,40}, o PGL-I^{41,42,43} foi o que apresentou melhores resultados. As técnicas utilizadas para detectar anticorpos IgM anti PGL-I foram a ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)⁴⁴ e os testes rápidos, utilizando a imunocromatografia, o ML Dipstick⁴⁵ e o ML Flow⁴⁶.

Vários trabalhos^{47,48,49,50} têm demonstrado que, na hanseníase, os níveis de anticorpos anti PGL-I podem ser um marcador da carga bacteriana presente nos indivíduos e apresentam uma correlação positiva com o índice bacteriológico. Segundo Segupta⁵¹, a detecção de anticorpos IgM contra o PGL-I apresenta alta sensibilidade na identificação de casos multibacilares (90 a 100%). Nos pacientes paucibacilares a sensibilidade foi menor (40 a 60%). Esses dados indicam que a utilização da sorologia anti PGL-I é um instrumento auxiliar muito importante para o diagnóstico das formas multibacilares da hanseníase,

porém, o resultado do teste sorológico deve estar associado a outras informações clínicas para que se possa concluir um diagnóstico da doença.

O emprego da sorologia anti PGL-I como um instrumento para o diagnóstico da infecção com o *M. leprae* em indivíduos sadios tem sido empregada em inquéritos sorológicos^{52,53,54} e em estudos de contatos de hanseníase e controles sadios^{46,55,56}. A maioria desses estudos foi consistente em demonstrar uma maior proporção de soropositividade em mulheres, independente da idade^{40,55,57,58}. Outros estudos observaram ainda que, em ambos os sexos os grupos etários mais jovens apresentaram uma maior soropositividade, atingindo um pico máximo naqueles com idade entre 10 e 20 anos e diminuindo depois^{52,55}.

Alguns estudos conduzidos em áreas endêmicas^{53,57,59} demonstraram que a positividade ao PGL-I variou de acordo com a prevalência local de hanseníase, indicando a capacidade do teste sorológico em refletir o potencial de exposição da população ao *M. leprae* e confirmam que a infecção subclínica é mais comum do que a doença manifesta.

A comparação da positividade ao teste na população de contatos e controles sadios evidenciou maior positividade entre os contatos do que em controles^{39,55,60,61}.

Em Papua Nova Guiné⁶² e em Malawi⁶³ áreas hiperendêmicas para hanseníase, a soroprevalência foi similar entre contatos intradomiciliares e extradomiciliares. Os autores observaram que apenas uma minoria daqueles persistentes soropositivos adoeceu e discutem essa similaridade como resultada da organização social desses estados e também ao alto nível de transmissão do *M. leprae* na comunidade.

Estudo realizado por Douglas et al⁵⁶, incluindo 559 contatos intradomiciliares, demonstrou que contatos intradomiciliares positivos ao PGL-I apresentaram um risco oito vezes maior de desenvolver hanseníase do que contato PGL-I negativo. O risco para desenvolver a forma MB no grupo soropositivo foi 24 vezes maior quando comparado àqueles soronegativos. Para os autores, a forte associação da positividade ao PGL-I e

adoecimento indicam que o teste pode ser usado como um instrumento útil para identificar os contatos com maior risco de adoecer.

A grande maioria dos trabalhos publicados até o momento empregou a técnica ELISA. No entanto, por ser uma técnica laboriosa, não pode ser facilmente utilizada em lugares onde os laboratórios e profissionais capacitados não estejam disponíveis. Atualmente, um novo teste para a detecção da imunoglobulina M (IgM) do PGL-I denominado ML Flow ⁴⁶ está sendo utilizado como instrumento útil para medir a resposta sorológica de contatos e pacientes. É um teste simples e rápido e a resposta pode ser obtida utilizando amostras de sangue total ou soro e pode ser realizada no mesmo momento em que a amostra for coletada, necessitando apenas de 10 minutos no máximo para a leitura. A facilidade de sua utilização somada à necessidade de um instrumento que possa ser empregado para auxiliar na vigilância epidemiológica dos contatos e também como um recurso (adicional) na classificação de pacientes hansenianos, permitirão a operacionalidade de ações mais efetivas que contribuam para a eliminação da hanseníase.

3.5. Fatores que favorecem a transmissão.

Uma das características importantes da epidemiologia da hanseníase é a sua grande associação com a pobreza, pois as más condições de moradia e alimentação inadequadas são fatores importantes na disseminação da doença. A superpopulação doméstica, particularmente noturna, fornece as condições ideais para a infecção, seja por gotículas de aerossóis, seja por contato cutâneo. Nos casos em que a desnutrição está presente essas condições são agravadas devido à redução da imunidade celular ⁶⁴. Além disso, a viabilidade do bacilo é longa, podendo sobreviver por até 46 dias no solo em condições de umidade e temperatura adequadas.

A manifestação clínica da doença não depende só de fatores ambientais, mas também da susceptibilidade individual ⁶⁵. O risco de adoecimento entre contatos tem uma probabilidade que varia entre quatro a oito vezes mais do que na população em geral. Estudo realizado na Índia ¹⁰ demonstrou que o risco de adoecer foi maior para indivíduos

que partilhavam a mesma cama com um caso de hanseníase, médio para aqueles que dividiam o mesmo quarto e menor para aqueles que dividiam a mesma casa. Van Beers et al.¹¹, em estudo realizado na Indonésia, observaram que entre os 101 casos de hanseníase ocorridos em um período de 25 anos, 79 (78%) puderam reconhecer-se como contatos de outros casos de hanseníase, sendo encontrado um risco estimado de aproximadamente nove vezes maior em contatos próximos de doentes e quatro vezes maior entre os vizinhos diretos, comparado aos indivíduos que não haviam tido contato com os doentes de hanseníase. Embora contatos de doentes com as formas multibacilares apresentassem um risco maior de adquirir a hanseníase o risco para aqueles contatos de casos índices paucibacilares foi semelhante ao risco dos vizinhos diretos de casos multibacilares. Tais achados indicaram que tanto o tipo de hanseníase como as distâncias do caso índice foram fatores importantes que contribuíram para o risco da doença.

No Brasil, Matos et al.⁶⁶ demonstraram que as taxas de incidência da hanseníase entre os contatos intradomiciliares foram 12 vezes maiores, embora os autores considerem a possibilidade de um viés de seleção na composição da coorte em decorrência de ter havido um nítido predomínio de casos multibacilares entre os casos índices. A alta incidência da doença observada entre os contatos intradomiciliares indica que a vigilância dos contatos é uma medida importante em um contexto de alta endemicidade.

Com o recente conhecimento do genoma humano e do *M. leprae*, a hipótese da susceptibilidade genética tem sido cada vez mais reforçada por achados positivos de associação de alelos de risco para a hanseníase. Estudos realizados por Moet et al.⁶⁷ e Durães⁶⁸ sugerem que, além da exposição ao *M. leprae* e de outros fatores de risco envolvidos na transmissão da hanseníase (fatores ambientais, sociais, epidemiológicos), a consangüinidade mostra associação estatística positiva e reforça a necessidade da vigilância dos contatos familiares.

3.6. Imunoprofilaxia

Embora a imunoprofilaxia seja considerada como um dos maiores objetivos da prevenção primária, na hanseníase uma vacina específica para este fim ainda não existe, devido à incapacidade de se cultivar o *Mycobacterium leprae* “in vitro”. Uma vacina que tem sido também amplamente utilizada no mundo, como uma alternativa para a imunoprofilaxia da hanseníase é o BCG-ID, a qual foi inicialmente empregada no controle da tuberculose ⁶⁹.

Nas últimas décadas, múltiplos ensaios preventivos e estudos de caso-controle mostraram eficácia e efetividade variáveis da vacina BCG na hanseníase, de forma análoga aos estudos obtidos na prevenção da tuberculose. Segundo Fine ⁶⁹, a vacina BCG apresentou maior variação na eficácia protetora para a tuberculose (0 a 80%), do que para a hanseníase (20 a 80%). Entre as hipóteses aventadas para explicar esta variabilidade estão: as diferenças metodológicas nos estudos, variações nas cepas de BCG; alta prevalência de outras infecções micobacterianas na população e variação da proteção individual.

Vacinas BCG combinadas com *M. leprae* mortos, concebidas para potencializar a eficácia da vacina BCG, mostraram resultados pouco promissores como candidatas a vacinas de espécies de micobactérias não patogênicas ⁷⁰.

Estudos tipo caso-controle realizados no Brasil, nas cidades de Goiânia ⁷¹, área de alta endemicidade e em São Paulo ⁷², avaliando a proteção contra a hanseníase, conferida pela vacina BCG-ID recebida na infância, como proteção contra as formas graves da tuberculose, relataram uma proteção de 81 e 90% respectivamente. Em estudo de coorte realizado no Rio de Janeiro por Matos et al ⁶⁶, foi relatada uma proteção de 62%. Mais recentemente ⁷³, a avaliação da proteção conferida pelo BCG neonatal em população de escolares na cidade de Manaus, relatou uma proteção de 74%. Esta mesma população foi vacinada com a segunda dose da vacina BCG-ID e os autores não observaram proteção significativa conferida pela revacinação nos primeiros quatro primeiros anos de seguimento.

Recentemente, estudo de meta-análise ⁷⁴ incluindo 7 estudos experimentais e 19 observacionais demonstrou que a vacina BCG confere um efeito protetor significativo contra a hanseníase. Em estudos experimentais a média de proteção conferida pela vacina foi de 26% e em estudos observacionais a média de proteção foi de 61%. Segundo os autores foram observadas evidências suficientes que doses adicionais da vacina estão relacionadas a um aumento na proteção contra a hanseníase e, portanto, dose adicional da vacina deve ser recomendada para os contatos de pacientes MB residentes em regiões nas quais a hanseníase ainda representa um problema de saúde pública.

No entanto, segundo Cunha et al, ⁷⁵ é preciso considerar com cautela a proteção adicional conferida por mais de uma dose da vacina BCG pois este estudo apresentou uma forte evidência de heterogeneidade o que indica que esta proteção não foi observada em grande parte dos estudos incluídos na análise.

3.7. O atual cenário da endemia de hanseníase no Brasil

No Brasil, apesar da redução nos últimos anos da taxa de prevalência, observa-se um aumento dos coeficientes de detecção da doença, ⁷⁶ que ultrapassa dois casos por 10.000 habitantes registrados anualmente, desde o início da década de 90. A diminuição das taxas de prevalência, face ao aumento da detecção, é atribuída às mudanças nos procedimentos de registro e, principalmente, à redução de tempo preconizado para o tratamento. Segundo Sabroza et al ⁷⁷ a maior parte dos casos está nas cidades, podendo ser considerada uma endemia urbana.

Na Região das Américas, o aumento observado no número de novos casos detectados foi resultado principalmente do aumento observado no Brasil. A proporção de crianças entre os novos casos detectados na Região Africana situava-se entre 2,4% na Nigéria e 19,2% na República Centro Africano enquanto que, na Região das Américas situava-se entre 0,55% em Cuba e 7,91% no Brasil ³.

A situação epidemiológica da hanseníase no Brasil é considerada heterogênea devido à grande variação do coeficiente de prevalência nas várias regiões do país. Em 2006, a Região Centro-Oeste foi a que apresentou o maior coeficiente, 6,69 casos por 10 mil habitantes, seguida da Região Norte, com 5,88 casos por 10 mil habitantes. Já o Nordeste apresentou 3,09 casos por 10 mil habitantes; o Sudeste 1,13 casos; e o Sul 0,56 casos por 10 mil habitantes ⁷⁶. Os principais indicadores de monitoramento de eliminação da hanseníase apontam para uma melhor situação da Região Sul em relação às outras regiões do país.

3.8. Histórico das Estratégias de Eliminação

No início da década de 80 a Organização Mundial de Saúde (OMS) passou a recomendar o uso do tratamento poliquimioterápico (PQT) associando Rifampicina ao tratamento monoterápico com Dapsona dos doentes paucibacilares, e Clofazimina e Rifampicina ao tratamento dos doentes multibacilares. Por ser a Rifampicina um agente bactericida excepcionalmente potente contra o *M. leprae* (uma única dose de 600 mg é capaz de matar mais de 99,9% de organismos viáveis), tornou-se possível a diminuição dos tempos dos tratamentos pela fixação do número de doses. Ou seja, o tempo de tratamento, destes pacientes que era superior a 11 anos passou a ser de seis meses para os paucibacilares e de dois anos para os multibacilares ²⁹.

No final da década de 80 ⁷⁸, na região das Américas, em 332.665 casos de hanseníase registrados, havia 10% em regimes de poliquimioterapia. No Brasil, esta adoção começou em 1986 ⁷⁹, porém somente a partir de 1991 a Coordenação Nacional do Programa de Hanseníase (CNPH) passou a adotar a PQT/OMS como o único tratamento para os doentes de hanseníase do país ⁸⁰.

Em 1991, a 44^a Assembléia da Organização Mundial de Saúde, aprovou uma resolução para eliminar a hanseníase como problema de saúde pública até o ano 2000, estabelecendo como objetivo uma redução do coeficiente de prevalência para menos de um caso por 10.000 habitantes ⁸¹. Desde então, com a alta por cura dos pacientes e a

subseqüente retirada destes dos registros de paciente, observou-se um decréscimo marcante dos coeficientes de prevalência nos países endêmicos. Até o começo de 1999, dos 122 países que, em 1985, foram considerados endêmicos, 94 alcançaram o alvo de eliminação, e a prevalência da hanseníase no mundo foi reduzida em 85% naquele período.

Embora o progresso em nível mundial tenha sido surpreendente, nos 13 países com maior prevalência da doença, os níveis continuavam ainda quatro vezes mais altos que a meta de eliminação. Angola, República Centro-Africana, República Democrática do Congo, Madagascar, Moçambique, Nepal, Tanzânia, Índia e Brasil não conseguiram cumprir a meta de eliminação da hanseníase como problema de saúde pública.

Em 1999, após uma revisão crítica da estratégia de eliminação, o Comitê Consultor para a Eliminação da Hanseníase da OMS ⁸² recomendou que as estratégias de eliminação fossem intensificadas e, para aqueles países que ainda não tinham atingido a fase de eliminação, enfatizaram a necessidade da descentralização das atividades de controle, com recomendação adicional de delegação das responsabilidades pela eliminação da hanseníase ao nível municipal ⁸³. Nova meta, então, foi estipulada e a eliminação foi prorrogada para 2005, quando a taxa de prevalência deveria chegar a um doente para 10.000 habitantes.

No início de 2004, o Brasil ainda congregava cerca de 90% do total de casos de hanseníase em registro nas Américas, apresentando uma taxa de prevalência de 4,6/10.000 habitantes, ocupando a posição incômoda de segundo lugar em número absoluto de casos da doença no *ranking* mundial, perdendo apenas para Índia ². A partir desse ano, com a adoção da prevalência de ponto, a qual considera apenas os casos de hanseníase em um ponto específico no tempo, como indicador da magnitude da doença no país ⁸⁴, o Brasil assumiu os critérios de avaliação da endemia iguais aos adotados por todos os outros países, ou seja, o coeficiente de prevalência passou a considerar número de casos em curso de tratamento que incluía os PB com até 6 meses e os MB com até 12 meses e não o de registro ativo, como era calculado até em 2003. Este fato determinou que a prevalência nacional caísse de 4,52 (2003) para 1,59 para 10.000 habitantes ⁸⁵.

Em 2007, o Ministério da Saúde através de nota técnica ⁸⁶, alertou que o Sistema de Informação de Agravos e Notificação-Sinan não era um sistema em tempo real, pois não era possível incluir na base de dados todos os casos diagnosticados no ano anterior até o mês de Janeiro. Esta dificuldade operacional provocou uma queda artificial no número de casos novos detectados. Com o contínuo ingresso de casos novos do ano anterior na base do Sinan foram encontrados dados conflitantes nas páginas oficiais do Ministério da Saúde. Enquanto a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVG) apontava a existência de cerca de 51.000 casos detectados em 2004 (2,88 casos por 10.000 habitantes), o número oficial fornecido pelo MS a OMS como resultado do controle da hanseníase foi de 38.423 casos (2,14 casos por 10.000 habitantes).

Dessa forma, seria necessário considerar que a prevalência pontual de casos em tratamento é um indicador que sofre influências operacionais e se modifica em grande escala com alterações como, por exemplo, a duração do tratamento. Por ser a detecção da doença em menores de quinze anos um indicador de alta endemicidade e de precocidade de exposição da população ao *M. leprae* ^{87,88}, este indicador constitui-se em um importante elemento para avaliação da magnitude da doença. Portanto, em 2007 a OMS deixou de utilizar o coeficiente de prevalência como indicador de monitoramento da hanseníase, substituindo-o pelos coeficientes de detecção de casos novos e detecção em menores de 15 anos ³.

3.9. Estratégias de ações de controle da hanseníase no Brasil.

A principal estratégia da OMS ⁸⁹, para interromper a transmissão da doença e atingir a meta de eliminação da hanseníase como um problema de saúde pública, foi baseada na MDT e no diagnóstico precoce de novos casos. Esperava-se que a PQT pudesse eliminar as condições que favorecem a transmissão e que a detecção dos casos novos seria possível através do diagnóstico precoce e do exame dos contatos dos pacientes, grupo considerado de maior risco para a infecção.

No entanto, para Andrade, no Brasil o diagnóstico precoce, prevenção e tratamento de incapacidades físicas, vigilância de contatos e a educação sanitária não foram executados na mesma amplitude que a implantação da poliquimioterapia (PQT) ⁹⁰. Para este autor, estes foram importantes obstáculos que impediram que a PQT interrompesse a cadeia de transmissão e pudesse eliminar as condições que favoreciam a disseminação da doença.

Este insucesso da PQT sobre a incidência da hanseníase demonstra que a eliminação da doença como problema de saúde pública, proposta pela Organização Mundial da Saúde, depende de uma ação incisiva sobre a interrupção da sua cadeia de transmissão, uma vez que não há ainda prevenção primária para esta doença.

O exame de contatos dos pacientes de hanseníase tem sido recomendado pelas autoridades sanitárias brasileiras como uma importante medida preventiva desde a segunda metade do século XX. Em 1992 após a criação do Programa Nacional de Controle e Eliminação da Hanseníase, a Portaria nº 1401¹² definiu como meta intensificar o exame dos contatos e reforçou a importância da vacina BCG intradérmica, recomendando 2 doses da vacina para aqueles que não tinham cicatriz de BCG, com intervalo de 6 meses entre as doses e uma dose para aqueles com cicatriz vacinal.

Os estados de Santa Catarina e Paraná conseguiram reduzir as taxas de detecção da doença, implementando ações descentralizadas, sistematizando e intensificando o atendimento aos pacientes, bem como um atento sistema de vigilância de contatos.

Os inquéritos populacionais para detecção ativa de casos não são custo-efetivos, identificando poucos casos da doença, mesmo quando conduzidos em regiões de alta endemicidade. Os atuais programas de controle de rotina baseiam-se na detecção passiva e, em situações especiais, na vigilância dos contatos ⁹¹.

Para Ignotti ⁹² parece óbvio que a não-realização de investigação de contatos resulte em perda de oportunidade de detecção precoce de casos que poderiam alterar a continuidade da transmissão da doença. Esses casos potenciais não seriam “ocultos”, mas

não detectados. Portanto, não diagnosticados pelos serviços de saúde, que não conseguem realizar as atividades mínimas de vigilância em saúde pública, necessárias à eliminação da hanseníase. Pinto-Neto e col¹³, a partir de um estudo de revisão, relatam que o controle dos comunicantes no Brasil não foi seguido conforme o recomendado pelo Programa de Controle da Hanseníase.

Segundo o Ministério da Saúde, entre os casos novos de hanseníase detectados no ano de 2006, apenas uma pequena proporção (7,7% dos casos), foi detectada através da vigilância de contatos. Esses dados indicam que será necessário desenvolver ações que possibilitem a detecção precoce de casos. A vigilância adequada dos contatos intradomiciliares somente poderá ser alcançada quando for possível implementar uma estratégia efetiva e sustentável. Isto só poderá ser atingido através de estudos multidisciplinares que venham a proporcionar o entendimento da transmissão da doença, do comportamento da população e da dinâmica necessária nos postos de atenção básica para uma adequada vigilância epidemiológica da hanseníase.

4. Primeiro artigo

**EFFECTIVENESS OF BCG VACCINATION AMONG LEPROSY CONTACTS:
A COHORT STUDY**

In press: “*Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene (2008) 102, 00–00.*”

**EFFECTIVENESS OF BCG VACCINATION AMONG LEPROSY
CONTACTS: A COHORT STUDY**

N.C. Düppre a, L.A.B. Camacho b, S.S. da Cunha c, C.J. Struchiner d, A.M. Sales a, J.A.C.
Nery a, E.N. Sarno a,*

a Laboratório de Hanseníase, IOC, FIOCRUZ

b Escola Nacional de Saúde Pública, FIOCRUZ

c Universidade Federal da Bahia, UFBA

d Programa de Computação Científica, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ,
Brasil

Corresponding author. Present address: Leprosy Unit, Oswaldo Cruz Foundation, Av.
Brazil 4365, Manguinhos, 21045-900 Rio de Janeiro, RJ, Brazil. Tel.: +55 21 2598 4287;
fax: +55 21 2270 9997.

E-mail address: euzenir@fiocruz.br (E.N. Sarno).

1st page: Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene (2008) 102,
00–00

Verso: N.C. Düppre et al

Recto: BCG vaccination in leprosy contacts

Keywords: BCG; Leprosy; Vaccine effectiveness; Contact tracing; Brazil

4.1. Summary The study assessed the effectiveness of BCG vaccination against leprosy among the contacts of 1161 leprosy patients at the FIOCRUZ Leprosy Outpatient Clinic from June 1987–December 2006. Following National Leprosy Program guidelines, the clinic has administered one-to-two doses to all healthy contacts since 1991. Among the 5680 contacts, 304 (5.4%) already had leprosy. Of the 5376 eligible healthy contacts, 3536 were vaccinated, 30 of whom were excluded due to previous or current tuberculosis, or HIV. In 18 years of follow up, 122 (2.15%) incident cases were diagnosed (58 vaccinated and 64 not), 28 occurring in the first year of follow up (21 vaccinated, 16 with no scar). The protection conferred by BCG was 56% and was not substantially affected by previous BCG vaccination (50% with a scar and 59% without). The risk of tuberculoid (BT+TT) leprosy during the initial months was high among those vaccinated with no scar. However, it had substantially declined by the first year and in the following years, when the protection rate in this group reached 80%. Since Brazil is endemic for leprosy and the detection rate is not declining satisfactorily, vaccinating all contacts could be an effective means of substantially reducing the incidence of leprosy.

4.2. Introduction

According to the World Health Organization (77), in 2005, leprosy prevalence worldwide was 227 427 cases and the new-case detection rate showed a sharp annual decline, falling by over 110 000 cases (27%) in comparison to 2004. In Brazil, however, a country endemic for leprosy that has experienced only gradual annual declines, the total number of new cases in 2005 was 51 738, with a detection rate of 2.09/10 000 (78).

The WHO Strategic Plan for the Elimination of Leprosy 2000–2005 supported a variety of national programs throughout the world for the purpose of intensifying early detection efforts and treatment of all known leprosy cases with effective multidrug therapy (MDT) and carrying out leprosy control procedures consisting of passive case detection, treatment, prevention of disability and rehabilitation (73).

In an attempt to halt the spread of leprosy, the BCG vaccine has been recommended as a preventive measure against leprosy in Brazil since the early 1970s. These recommendations were extended in 1991 (5). Although the primary purpose of the BCG vaccine has historically been to prevent tuberculosis, it is well established that a single dose of BCG confers significant protection against leprosy, ranging anywhere from 20 to 80% (79-81). Multiple doses of BCG have been reported to confer even further protection (82;83).

The Brazilian Ministry of Health (BMH) therefore recommends that all household contacts of leprosy patients be given BCG vaccine. Since 1991, the BMH has additionally

advised that two doses of intradermal BCG be administered to both current household contacts and those whose index cases were diagnosed within the previous five years. The vaccine is administered irrespective of tuberculosis or leprosy skin test results. If the contact never received BCG, or if this information is doubtful, he/she is to receive two BCG doses at a six-month interval. If he/she has already received one dose of BCG, a single dose is given (5). Neonatal intradermal BCG vaccination of the Brazilian population has been successfully administered to prevent tuberculosis, reaching coverage rates of at least 90% across the country. From 1994 (84) until its suspension in 2006 (85), a second BCG dose was also recommended for schoolchildren aged 6–14 years to combat severe forms of tuberculosis.

Two cohort studies (56;86) and two case-control studies (87;88) carried out in Brazil confirmed that the neonatal BCG routinely administered to prevent tuberculosis does have an important and often overlooked impact on the occurrence and transmission of leprosy. In these studies, the majority of the population received BCG vaccine soon after birth, and thus, prior to becoming contacts.

The only similar vaccine study performed outside Brazil is a trial conducted in Venezuela by Convit et al, (89), in which the study population received BCG as part of a tuberculosis control program, i.e. probably before these individuals had become contacts. These same individuals were later re-vaccinated as part of a leprosy program. At that time, the Venezuelan leprosy control policy consisted of repeated lepromin testing of contacts (intradermal injection of about 10 million killed leprosy bacilli) and repeated BCG

vaccination of those that tested negative. Their findings showed that the risk of contracting leprosy was lowest among contacts with two or more BCG scars.

The Venezuelan study served as a model for recommending two doses of BCG for leprosy contacts as an important measure toward reducing the incidence of leprosy among contacts in Brazil. As stated above, the measure took effect in 1991 but no evaluation of the results has yet been made. The objective of the present study was, therefore, to evaluate the protective effect of the BCG vaccine in leprosy contacts subsequent to index case diagnosis in accordance with BMH guidelines.

4.3. Materials and methods

4.3.1. Study design

This was an observational study involving 1161 leprosy patients and their contacts examined between June 1987 and December 2006 at the Leprosy Outpatient Clinic National Reference Center located at the Oswaldo Cruz Foundation in Rio de Janeiro, RJ, Brazil. Recruitment of participants continued throughout the entire June 1987–December 2005 period and follow up ended in December 2006.

All the individuals resided in the State of Rio de Janeiro, in which the leprosy prevalence rate in 2006 was 0.97/10 000 and the new-case detection rate was 1.42/10 000 individuals (78).

4.3.2. Contact identification

Individuals diagnosed with leprosy were first interviewed by a social worker to obtain their personal data, after which the initial signs and symptoms of the disease were described. The individuals were then requested to inform their family members and household contacts of the urgent necessity of their being examined at the leprosy outpatient clinic for possible disease. An experienced clinical dermatologist examined all of the contacts to detect any leprosy lesions as well as the typical neonatal BCG scar. Contacts suspected of having leprosy were submitted to bacteriological, histopathological and immunological examinations and classified according to the Ridley and Jopling scale (17) as: borderline-borderline (BB), borderline-lepromatous (BL), lepromatous-lepromatous

(LL), borderline-tuberculoid (BT), tuberculoid-tuberculoid (TT), or indeterminate leprosy (IL). They were also grouped according to their bacillary index (BI) as either multibacillary (MB positive BI) or paucibacillary (PB negative BI).

Whenever a MB leprosy case was detected among the contacts of a PB patient, this MB individual was considered an index case. Household and non-household contacts were examined and enrolled in the study no later than 12 months after their index cases commenced multi-drug therapy (MDT). The dermatologists responsible for these patients and their contacts remained the same throughout the 15-year study period.

A household contact was defined as an individual who had either lived in the same or an adjacent dwelling during the five-year period before index case detection. In addition, non-household contacts were also examined and defined as those who, while not meeting any of the criteria for household contacts, had had occasional contact as neighbours and/or relatives, as indicated by the index case.

4.3.3. Vaccination status

Prior to 1991, leprosy contacts were not vaccinated at the Leprosy Outpatient Clinic National Reference Center. Since 1991, however, the Center has administered one or two doses of BCG to all contacts without signs of leprosy. Since 1991, 4467 healthy contacts were examined at the Center, 30 (0.7%) of whom were excluded due to previous/current tuberculosis or HIV infection, while 786 (17.6%) were not immediately vaccinated due to

pregnancy, infection or unavailability of the vaccine. Appointments for these contacts were rescheduled and 699 did not return (451 with a BCG scar and 248 without). These non-returners and 1111 contacts examined before 1991 (636 with a BCG scar and 475 without) were included in the study as part of the non-vaccinated group, or controls.

Although contacts with a doubtful scar were vaccinated upon arrival at the Center, they were not included in the study group. Likewise, the co-prevalent cases and contacts with previous or current tuberculosis, or HIV infection were also excluded and were not vaccinated.

The group of 3536 individuals vaccinated after index case diagnosis since 1991 consisted of 1199 contacts without and 2337 contacts with a BCG scar (2058 had one and 279 had two BCG scars). All 2337 contacts with BCG scars were analyzed as a single group of previously vaccinated individuals. Within the entire 12 month period, only 70 of the 1199 contacts without a scar received two doses. The other 1129 received one.

4.3.4. Case detection

Between 1987 and 1991, all contacts were instructed to attend the Center once a year without fail. From January 1992–December 2005 they were asked to return to the Center if and when skin lesions appeared. For the purposes of this study, those who did not return were considered healthy.

In June 2006, the Brazilian Disease Notification System (SINAN) with reference to the State of Rio de Janeiro, covering December 1986–April 2006, was searched to locate the healthy contacts in order to ascertain whether any leprosy cases had been missed in contact follow-up procedures. SINAN records were matched to the database of the study group with respect to the variables present in both: name of contact, date of birth and mother's full name. Contacts that had not been identified as leprosy patients in SINAN by June 2006 were considered healthy.

4.3.5. Statistical analysis

The effect of the BCG vaccine administered to contacts after index case diagnosis was estimated according to the ratio of the incidence rate (RR) of leprosy per person years among the contacts vaccinated at the initial examination and the rate among the unvaccinated contacts. The incidence rate during contact follow up was based on person years between the initial examination and the date of leprosy diagnosis or date of study closure (contacts who did not develop leprosy). The effectiveness of BCG given prior to index case diagnosis was measured by the odds ratio (OR) of the contacts with a BCG scar contracting leprosy compared to those who did not have a scar. Vaccine effectiveness (VE) was estimated as follows: $VE = (1 - OR) \times 100$ or $VE = (1 - RR) \times 100$.

Baseline characteristics of the contacts were described by univariate analysis as follows: the presence of a BCG scar before index case diagnosis, age of contact at initial examination, gender, index case BI at start of MDT and contact type. Crude and adjusted

rate ratios as well as odds ratios (with 95% confidence intervals (CI)) were estimated according to Poisson and logistic regression, respectively. To account for the clustering effect in both types of regression, CI were based on robust variance estimators that describe a cluster as an index case in conjunction with his/her contacts. In the Poisson regression, estimates were controlled for age, gender, BCG scar, contact type, and sum of familial BIs (index plus co-prevalent case BIs), which were believed to be a better proxy of disease risk for the contacts followed up after the initial examination. In the logistic regression, estimates were controlled for age, gender, contact type, and index case BI at start of MDT. Statistical interaction (test of homogeneity) was assessed by the Wald test. Statistical analysis was done using Stata 7.0 (90).

4.4. Results

Between January 1987 and December 2005, 1863 index-case leprosy patients were administered MDT at the Leprosy Outpatient Clinic National Reference Center, 966 (52%) of whom were MB and 897 (48%) PB. Contacts of 728 (75%) registered MB patients and 433 (48%) PB patients were examined. A total of 8231 contacts were recruited and 5680 (69%) reported to the Center for examination. The contacts had a mean age of 26 years (range 0–84 ± 17.8) and 2400 (42%) were male and 3280 (58%) female.

Among the 5680 contacts examined, 304 (5.4%) were found to have leprosy concurrently with their index cases (co-prevalent); 89 (29.3%) had MB leprosy and 215 (70.7%) had the PB form. Among the 5376 healthy contacts, 30 were excluded due to previous or current tuberculosis, or HIV infections. Of the 5346 contacts enrolled in the study, 3536 were vaccinated and 1810 were not (controls) (Figure 1).

During follow up, 122 (2.3%) leprosy incident cases were diagnosed among the 5346 contacts examined. The index cases of 115 contacts were MB and of seven contacts were PB. Among these 122 cases, 111 were first detected at the Center during follow up and 11 cases were ascertained in SINAN. All 111 cases detected at the Center were classified according to the Ridley-Jopling classification scale. Among the 111 new leprosy cases, 9 were BB, 5 BL, 2 LL, 64 BT, 11 TT, and 20 IL. The 11 leprosy cases found in SINAN had not been classified according to Ridley-Jopling criteria.

The incidence rate within the contact population was 3.37 per 1000 person years (122 cases/36 213 person years). Among the non-vaccinated contacts (controls), the incidence rate was higher (4.76/1000 person years) than among the vaccinated ones (2.55/1000 person years). However, the highest incidence rate of all was among the unvaccinated contacts without a BCG scar (7.26/1000 person years) (Table 1).

4.4.1 Vaccine protection of BCG in contacts

Protection against leprosy conferred by BCG after index case diagnosis against all forms of leprosy was 56% (95% CI 31–71%). For those without a scar, protection reached 59% (95% CI 27–77%); and for those with a scar, it was 50% (95% CI 11–72%). In addition, the protection conferred by BCG was 85% (95% CI 49–96%) for the MB forms (BB, BL, LL) and 83% (95% CI 56–94%) for the indeterminate form. However, no statistically significant protection (26%; 95% CI 28–57%) was observed against the tuberculoid forms of leprosy (BT, TT).

Among the 122 cases detected during contact follow up, leprosy was diagnosed in 28 individuals (10 with a BCG scar and 18 without) after a relatively short period of time had elapsed (from 2–10 months). Twenty-one were classified as BT (17 vaccinated and four unvaccinated), two were TT (one vaccinated and one unvaccinated), three IL (two vaccinated and one unvaccinated), and two BB (one vaccinated and one unvaccinated). The incidence rate during this initial 2–10 month period of the study was higher among the

vaccinated contacts without a BCG scar (2.13/1000 person years) than among the unvaccinated (0.38/1000 person years) (data not shown).

Due to the possibility that the above 28 patients had an ongoing subclinical disease, vaccine effectiveness was reanalyzed after their exclusion (Table 2). The protection conferred by the vaccine against all forms of leprosy was 69% (95% CI 49–81%). For those without a scar, protection was 80% (95% CI 61–90%) while for those with a scar, it was a much lower 51% (95% CI 4–74%). The protection was 88% (95% CI 62–96%) against IL leprosy; 48% (95% CI 1–72%) against BT and TT leprosy; and 89% (95% CI 60–97%) against the MB forms (BB, BL and LL).

4.4.2. Vaccine protection conferred by BCG administered before contact examination

BCG effectiveness against leprosy was also retrospectively evaluated by comparing the presence or absence of BCG scars among contacts that were diagnosed upon entry to the study as co-prevalent cases. Among the 5680 contacts and previously undiagnosed cases, 304 (5.4%) cases of leprosy were detected during contact examinations (110 with and 194 without a BCG scar). The adjusted OR for all forms corresponded to a vaccine effectiveness of 68% (95% CI 56–77%). Vaccine effectiveness was 51% against IL leprosy (95% CI 17–79%), 45% (95% CI 17–63%) against tuberculoid leprosy (BT, TT), and 94% (95% CI 87–97%) against MB leprosy (BB, BL, LL) (data not shown). Estimates were adjusted for age, gender, contact type and index case BI at start of MDT.

4.5. Discussion

The most significant finding in the present study was that administration of the BCG vaccine subsequent to index case diagnosis was effective in reducing the risk of disease among household and other close contacts of leprosy patients. The protection conferred by BCG after index case diagnosis was 56%, which, however, was not substantially affected by previous BCG vaccination (50% protection for those with and 59% for those without a BCG scar), a finding consonant with the Venezuelan study results referred to above (83). Conducted in a similar setting, the Venezuelan report also showed that protection conferred by the vaccine among single-scar contacts was 56%.

During the first 2–10 months after clinical examination, 28 new leprosy cases; 21 vaccinated (16 without a BCG scar) and seven unvaccinated were detected among the contacts. Interestingly, the tuberculoid forms markedly predominated in relation to all the other forms, especially within the vaccinated group. Although this finding may appear paradoxical in indicating that the BCG vaccine administered to contacts after index case diagnosis may be associated with an increased risk for leprosy, it may be hypothesized that these cases were either within the incubation period at the time of examination or, possibly, that leprosy was mistakenly not diagnosed. According to Bagshawe et al. (53), the accelerated manifestations of benign tuberculoid leprosy after BCG vaccination reflected the influence of BCG in hastening the natural history of *M. leprae* infection in subjects infected prior to or immediately after BCG vaccination. These events were dependent upon an overall change in the BCG-induced immune response associated with the growing immune capability of the individual to combat *M. leprae*.

Among these 28 incident cases, 25 (90%) had MB index cases and 17 (68%) had more than one MB case in the family, thereby accounting for a higher familial BI (ranging from 1.8 to 5.3), which, it is hypothesized, most likely contributed to their being less prone to benefit from vaccination.

An alternative explanation is that the BCG vaccine in this group of contacts may have induced a cross-reactive immunological activation leading to the appearance of benign tuberculoid skin lesions. For the other contacts, who most probably were already infected but lacking any sign of subclinical disease, the BCG vaccine may have played a protective role by modifying the natural history of the disease in such a way as to prevent infected individuals from manifesting any clinical symptoms.

Our study, in agreement with two others (91;92), suggests that BCG vaccination may actually induce emergence of the clinical manifestations of leprosy during the initial follow-up period. The reports referred to above were restricted to previously unvaccinated individuals and those who had received a single dose of BCG. The Burma study conducted by Lwin et al. (92) specifically dealt with children under 15 years of age, while the India study, Gupte et al., (91) included the population at large. In both reports, the results for the most part focused on the first BCG dose and since, in the initial follow-up stages, the rates of leprosy disease among vaccinated individuals were higher than among the unvaccinated, no protection was observed.

However, it is important to point out that the analysis excluding the above-mentioned 28 leprosy cases disclosed a substantial 80% (95% CI 61–90%) protection rate,

particularly among those without a BCG scar (Table 2). Considering that the neonatal scar within this contact population conferred 68% (95% CI 56–77%) protection against leprosy, it is noteworthy that the vaccine given after index case diagnosis demonstrated a similar effectiveness.

The significant protection conferred on those without a BCG scar needs to be evaluated with caution, however, since it is necessary to consider that treatment of the index case tends to render leprosy less infectious over time. According to the findings of several other studies (55;56), when patients began WHO/MDT, the incidence among their contacts declined between the first and third years after their index cases had initiated MDT.

The most severe limitation of this study was the authors being compelled to rely on incomplete follow-up data, leading to the assumption that the contacts who did not return after the first examination were healthy. However, under the circumstances, this assumption could be considered reasonable, keeping in mind that SINAN data on leprosy were considered reliable. Despite the uncertainty, however, it is believed that a reasonable approximation was achieved with the data available. It is also believed that any missed cases, probably few in number, and/or misclassifications, were more likely to have occurred within the unvaccinated subgroup, resulting in conservative rather than exaggerated estimations of vaccine effectiveness. The two analytical approaches (person-time and cumulative incidence (CI)) used to explore the data also provided coherent results.

Regarding other possible threats to the internal validity of this study, there is no solid reason to doubt the disease classification data, BCG exposure (scar and BCG

vaccination), or data on the main covariates (clinical form, BI, gender and age). Errors of this nature are highly unlikely considering the quality of human and material resources at the Reference Center. Other covariates, however, such as misclassification of contact type, may have led to residual confounding.

Generalizations of these findings, however, should also be undertaken with caution since the study consisted of leprosy patient close contacts whose exposure to leprosy was therefore likely to have been higher than among the population at large. Most of the leprosy cases detected among contacts were diagnosed at the first clinical examination during contact tracing. Therefore, a significant number of contacts may have been exposed to *M. leprae* over extended periods of time, and the resulting immunological stimulation may have prolonged the duration of the protective effect of BCG. It is important to point out, on the other hand, that the risk of a contact without a BCG scar contracting leprosy immediately after vaccination had substantially declined by the end of the first year of follow up as well as in the following years, at which time the protection rate in this group reached 80%.

Since Brazil is endemic for leprosy and the detection rate is not declining satisfactorily, vaccinating all contacts could be an effective means of substantially reducing the incidence of leprosy. In this regard, our data strongly support the routine BCG vaccination of all leprosy contacts in addition to treatment of index cases, regardless of previous vaccination.

Authors' contributions: NCD participated in the study design, data collection, analysis and interpretation, and manuscript writing; LABC and ENS participated in the study

design, analysis and interpretation, and manuscript writing; SSC participated in analysis and interpretation and manuscript writing; CJS participated in data interpretation and manuscript writing; AMS and JACN carried out the clinical assessment.

Acknowledgements: The authors are grateful to the patients and families who participated in this study. We would like to thank Rita Maria de Oliveira Pereira, Denise Vieira de Moura, and Virna Jansen da Silva Pereira for their technical support and Judy Grevan for editing the text. Thanks are also in order to the SCAALA (Social Change, Asthma and Allergy in Latin America) programme and CNPq.

Conflicts of interest statement: The authors declare no conflict of interest.

Ethical approval: The study was based on medical records of routine care. Data collection, management and analysis were performed by the study coordinators with protection of confidentiality. Approval for use of clinical and laboratory data was obtained from the research ethics committee from the Brazilian National School of Public Health – (FIOCRUZ).

Figure 1. Distribution of leprosy contacts based on BCG vaccination and BCG scar status

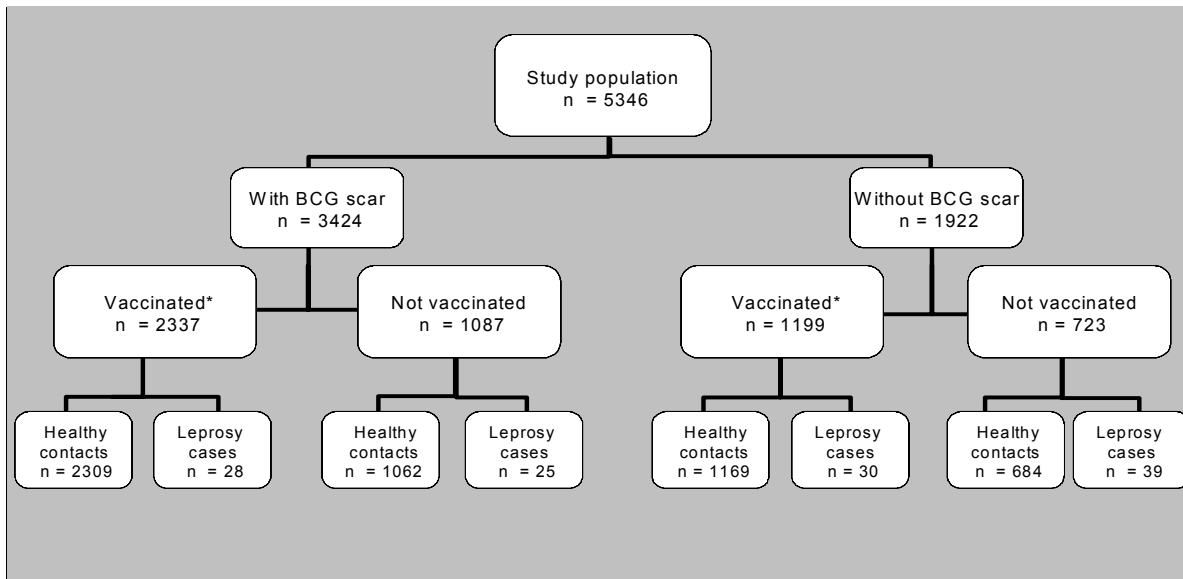


Table 1. Number of cases/total person years among contacts and rate ratios (95% confidence limits) of leprosy by BCG vaccination status after diagnosis of index cases, stratified by selected covariates.

Covariates	BCG vaccination of contacts at initial examination				Rate ratio (95% C.I.) ¹		
	Vaccinated		Not vaccinated		Crude	Adjusted ²	<i>p</i> value ³
	cases/PY	Rate per 1,000 PY	cases/PY	Rate per 1,000 PY			
All contacts	58/22 776	2.6	64/13 437	4.8	0.53 (0.35 - 0.83)	0.44 (0.29 - 0.69)	
Strata:							
Neonatal BCG							
Without BCG scar	30/7 570	4.0	39/5 375	7.3	0.55 (0.31 - 0.96)	0.41 (0.23 - 0.73)	
With BCG scar	28/15 206	1.8	25/8 062	3.1	0.59 (0.33 - 1.06)	0.50 (0.28 - 0.89)	<i>p</i> = 0.8
Sex							
Male	20/9 609	2.1	27/6 029	4.5	0.46 (0.25 - 0.88)	0.34 (0.18 to 0.67)	
Female	38/13 167	2.9	37/7 408	5.0	0.58 (0.35 to 0.96)	0.51 (0.31 to 0.86)	<i>p</i> = 0.4
Contact type							
Household contact	41/12 918	3.3	48/8 170	5.9	0.54 (0.33 to 0.88)	0.43 (0.26 to 0.71)	
Non-household contact	17/9 858	1.7	16/5 268	3.0	0.57 (0.28 to 1.16)	0.48 (0.22 to 1.02)	<i>p</i> = 0.7
Age-group							
< 15 years	18/7 501	2.4	19/4 548	4.2	0.57 (0.28 to 1.17)	0.47 (0.22 to 0.98)	
≥ 15 years	40/15 275	2.6	45/8 889	5.1	0.52 (0.32 to 0.84)	0.43 (0.26 to 0.71)	<i>p</i> = 0.7
Sum of family BI							
< 2.0	17/13 462	1.3	14/8 502	1.6	0.77 (0.33 to 1.78)	0.79 (0.33 to 1.90)	
≥ 2.0	41/9 314	4.4	50/4 935	10.1	0.43 (0.26 to 0.72)	0.46 (0.28 to 0.75)	<i>p</i> = 0.2
Type of leprosy among incident contacts classified by the Ridley-Jopling scale*							
Indeterminate	6/22 644	0.3	14/13 233	1.1	0.25 (0.09 to 0.69)	0.17 (0.06 to 0.44)	
BT+TT	45/22 724	2.0	30/13 280	2.3	0.88 (0.52 to 1.47)	0.74 (0.43 to 1.28)	
BB+BL+LL	4/22 659	0.2	12/13 268	0.9	0.20 (0.06 to 0.60)	0.15 (0.04 to 0.51)	

¹ All estimates are adjusted to effect of clustering and controlled for all other covariates

² Adjusted to effect of clustering and controlled for listed covariates

³ Test of homogeneity: comparing covariate-controlled rate ratios among sub-groups and taking the main exposure (vaccination at initial examination), based on the Wald test

* Including only the 111 leprosy cases detected at this Reference Center

Table 2. Crude and adjusted leprosy incidence rates and association with the BCG vaccine administered after index case diagnosis, only including contacts that became ill after 1 year of follow-up.

Covariates	BCG vaccination of contacts at initial examination				Rate ratio (95% C.I.) ¹		<i>p</i> value ³
	Vaccinated		Not vaccinated		Crude	Adjusted ²	
	cases/PY	Rate per 1,000 PY	cases/PY	Rate per 1,000 PY			
All contacts*	37/22 763	1.6	57/13 433	4.2	0.38 (0.23 - 0.63)	0.31 (0.19 - 0.51)	
Strata:							
Neonatal BCG							
Without a BCG scar	14/7 562	1.9	37/5 374	6.9	0.27 (0.14 - 0.53)	0.20 (0.10 - 0.39)	
With a BCG scar	23/15 201	1.5	20/8 059	2.5	0.61 (0.32 - 1.16)	0.49 (0.26 - 0.96)	<i>p</i> = 0.06
Type of leprosy among incident contacts classified by the Ridley-Jopling scale**							
<i>Indeterminate</i>	4/22 643	0.2	13/13 232	1.0	0.18 (0.06 - 0.59)	0.12 (0.04 - 0.38)	
<i>BT+TT</i>	27/22 714	1.2	25/13 277	1.9	0.63 (0.35 - 1.15)	0.52 (0.28 - 0.99)	
<i>BB+BL+LL</i>	3/22 659	0.1	11/13 267	0.8	0.16 (0.04 - 0.57)	0.11 (0.03 - 0.40)	

¹ All estimates are adjusted to effect of clustering and controlled for BCG scar, age, sex, income, contact type, and sum of familial BI.

² Adjusted to effect of clustering and controlled for age, sex, income, contact type, and sum of familial BI.

³ Test of homogeneity: comparing covariate-controlled rate ratios among sub-groups and taking the main exposure (vaccination at initial examination) based on the Wald test

*Including all healthy contacts and only incident leprosy cases that became ill up to 12 months after the first examination

** Including only the 111 leprosy cases detected at this Reference Center

5. Segundo artigo

Identifying contacts with a higher risk of developing leprosy by studying PGL-I and BCG status: a cohort study

Identifying contacts with a higher risk of developing leprosy by studying PGL-I and BCG status: a cohort study

Düppre, N.C.¹; Camacho, L.A.B.²; Sales, A.M¹; Nery, J.A.C.¹, Sarno, E. N.¹; Bühler-Sékula, S.³ *

¹ Laboratório de Hanseníase – IOC - FIOCRUZ

² Escola Nacional de Saúde Pública – FIOCRUZ

³KIT Biomedical Research, Royal Tropical Institute, Amsterdam, The Netherlands.

*Current affiliation: Tropical Pathology and Public Health Institute, Federal University of Goiás, Goiânia, Goiás, Brazil

Running Title: PGL-I, BCG and the risk of contacts to develop leprosy

Keywords: PGL-I, BCG, leprosy, contact tracing, Brazil

This work was conducted at: Laboratório de Hanseníase – IOC - FIOCRUZ Rio de Janeiro, Brazil.

Author for correspondence: Dr. Euzenir Nunes Sarno, Leprosy Unit, Oswaldo Cruz Foundation, Av. Brazil 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, 21045-900 phone (55) (21) 2598.4287, (55) (21) 2270.9997, fax (55) (21) 2270.9997, e-mail euzenir@fiocruz.br

5.1. Summary

Background It was expected that treatment of all newly detected leprosy cases with multidrug therapy would not only lead to cure, but would also prevent further spread of *Mycobacterium leprae*. However, pockets of high endemicity still remain in several countries, including Brazil. It has long been known that contacts of leprosy patients run an increased risk of developing leprosy compared to the general population. The objective of the present study was to study the relation among serology, BCG status, index case status and other risk factors in order to identify which contacts of leprosy patients had the highest risk of developing the disease.

Methods Between June 1987 and October 2007 contacts of leprosy patients diagnosed at FIOCRUZ were examined for the presence of leprosy skin lesions. In addition, demographic and social data were collected and BCG status was assessed. Health education on leprosy was given and contacts were instructed to report if any clinical signs of leprosy occurred. The presence of IgM antibodies to PGL-I was investigated for 2,127 persons, who formed the cohort on which this study is based.

Results During follow-up, 42/2,127 (2.0%) leprosy incident cases were diagnosed. Overall, the leprosy incidence rate among seropositive contacts was 3.28 (95%CI 1.54 – 7.01) times higher than among seronegatives. A strong association between leprosy and seropositivity was observed for the 0-10 year-old age group, RR of 9.85 (95%CI 2.0 – 48.45). MB classification and high BI in the index patient were also related to an increased risk for leprosy among seropositive contacts, RR of 4.01 (95%CI 1.76 – 9.13) and 3.86, (95%CI 1.46 – 10.19) respectively. The risk of developing leprosy was higher for unvaccinated, seropositive contacts, especially after four years of follow-up. The risk for developing clinical leprosy among vaccinated seropositive contacts was mainly during the first year after BCG vaccination. All of the vaccinated, seropositive contacts that developed leprosy had PB leprosy.

Conclusion Contact examination combined with PGL-I testing and BCG status assessment appears to justify targeting seropositive individuals for enhanced follow-up measures. As PGL-I is related to risk of developing leprosy, attention to the association of PGL-I seropositivity to other risk factors such as age, BI, and type of contact should be given.

Furthermore, seropositive children should be followed carefully and the possibility of an intervention strategy such as prophylactic treatment should be considered.

5.2. INTRODUCTION

It was expected that treatment of all newly detected leprosy cases with multidrug therapy (MDT) would not only lead to cure, but would also prevent further spread of *Mycobacterium leprae*. The number of new cases detected globally has fallen by more than 40,000 cases (a 13.4% decrease) during 2006 compared with 2005 (1). However, pockets of high endemicity still remain in Angola, Brazil, Central African Republic, Democratic Republic of Congo, India, Madagascar, Mozambique, Nepal, and the United Republic of Tanzania (1). In 2006, Brazil had the largest number of cases in the Americas, ranking second in the world (2). Of the 46,535 new cases detected that year in Brazil, 8% were children under 15, 6% showed disability grade (DG) 2, and 53% had multibacillary leprosy (MB) (3).

As early case detection and treatment with MDT were not successful in decreasing the number of new cases of leprosy, additional interventions need to be considered, especially focusing on groups who are at high risk of developing clinical leprosy (4). It has long been known that contacts of leprosy patients run an increased risk of developing leprosy compared to the general population (5).

In different parts of the world, serological testing for antibodies to phenolic glycolipid I (PGL-I) of *M.leprae* in school children (6) and in general population has been used to identify the risk of developing leprosy. It was shown that there is a relationship between the leprosy burden in a given population and seroprevalence (7-9). In some studies, the observed seropositivity was higher in contacts of leprosy patients than in the general population and it was related to a higher risk of developing leprosy (10;11). In contrast, other studies (12-14) did not find an increased risk of developing leprosy among seropositive contacts.

Several studies have shown that serological and cellular immunology tests could be helpful in defining groups of contacts at higher risk, partly because the results of these tests may be an indication of sub-clinical infection (10;15;16). These studies have pointed to a number of possibilities for identifying people at risk of developing leprosy. For example, in a cohort study conducted by Douglas et al. (17) with household contacts of MB patients in the Philippines covering a follow-up period of 11 years, seropositive contacts had a 7 times higher risk of developing leprosy and a 24 times higher risk of developing MB leprosy.

The objective of the present study was to study the association between the development of leprosy and PGL-I serological status, exposure to BCG, index case classification and other risk factors in order to identify which contacts of leprosy patients had the highest risk of developing the disease.

5.3. MATERIAL AND METHODS

5.3.1 Study design

Since 1987, the Leprosy Outpatient Clinic National Reference Center located at the Oswaldo Cruz Foundation in Rio de Janeiro, RJ, Brazil, has conducted routine clinical examinations of contacts of leprosy patients diagnosed at the Center. Among a total of 6,052 contacts examined between June 1987 and October 2007, 35.1% (2,127) were tested for the presence of IgM antibodies to PGL-I and they form the study cohort. All these individuals were living in the State of Rio de Janeiro where the case detection rate per 10,000 ranged from 1.64 in 1987 to 1.42 in 2006 (18).

5.3.2. Contact examination

All contacts were interviewed by a social worker to obtain demography and social information (income, degree of schooling, familiar monthly income), as well as the degree of closeness the contacts had with the index case. An experienced clinical dermatologist then examined all contacts for leprosy lesions. Non-affected contacts received information on leprosy and were instructed to report to the Leprosy Clinic if any clinical signs of leprosy occurred. Those presenting skin lesions suggestive of leprosy were given bacteriological, histopathological, and immunological examinations and classified

according to the Ridley and Jopling scale and were grouped according to their bacillary index (BI) as either multibacillary (MB - positive BI) or paucibacillary (PB - negative BI). The disability grade was measured by the standard WHO grading system (19).

5.3.3 Contact definition

Household contacts were defined as individuals who had either lived in the same or an adjacent dwelling during the five-year period before index case detection. *Non-household contacts* were defined as those who had had occasional contact such as next neighbors and/or relatives during the five-year period before index case detection.

5.3.4. Contact vaccination status

BCG scars from previous routine vaccinations were noted. Since 1991, healthy leprosy contacts have been vaccinated with BCG-ID at the Center according to Brazilian Ministry of Health (BMH) recommendations. In addition, all vaccinated and unvaccinated contacts who consented to participate in the study had a blood sample collected and the serum separated in aliquots and stored at -20°C for later determination of anti-PGL-I antibodies.

5.3.5. PGL-I serology

Serology was performed on serum samples collected before vaccination as previously described by Bühner-Sékula et al. using the ML Dipstick (20) and ML Flow tests (21). Both tests detect the presence of IgM antibodies in human serum samples to the species-specific phenolic glycolipid-I (PGL-I) of *M. leprae*.

Prior to 2003, the stored sera of 1,050 healthy contacts were tested using the ML Dipstick. Since 2003, the ML Flow test was implemented as part of the routine contact examinations. During the study period, the ML Flow test was performed on 1,077 healthy contacts prior to vaccination.

All tested contacts received information on the meaning of the test result and gave their consent to participate in the study.

5.3.6. Case detection

All healthy contacts were instructed to return to the Clinic if they noted skin lesions suggestive of leprosy. Due to the long duration of leprosy incubation and the lengthy follow-up period of the study, surveillance could not be done as thoroughly as we would have liked to. To overcome this limitation, in July 2006, the database covering Rio de Janeiro State from December 1986 through June 2006 in the Brazilian Disease Notification System (SINAN) was searched to ascertain cases missed among contacts that did not visit our study Center for examination, but who had been notified as patients in other health centers. SINAN records were matched to the database of the present study group with regard to the variables name, date of birth and mother's full name. Contacts that had not been diagnosed with leprosy at the Center and had not been identified as leprosy patients in SINAN were considered free of leprosy.

5.3.7. Statistical analysis

The incidence rate during contact follow-up was based on *person-years* between the initial examination and the date of leprosy diagnosis, or date of study closeout for contacts that did not develop leprosy.

Crude and adjusted rate ratios (RR) with 95% confidence intervals (CI) were estimated according to Poisson and logistic regression to verify a possible association between serological and BCG status and the occurrence of leprosy. Logistic regression was used to identify independent determinants of seropositivity among leprosy contacts.

Multivariate analysis and CI were based on robust variance estimators that accounted for *clusters* made up by the index case in conjunction with his/her contacts. Estimates were controlled for age, sex, BCG scar, BCG vaccine given after index case diagnosis, contact type, and index case BI at start of MDT. Statistical interaction (test of homogeneity) was assessed by way of the Mantel-Haenszel test. The statistical analysis for logistic and Poisson regression was done using STATATM version 9.0 (22).

A non-parametric estimate of cumulative proportion without leprosy via the Kaplan-Meier method was used to assess the time-varying association of leprosy disease with serological results between those with and without a BCG scar at the end of the 18-year follow-up period. Statistical significance was assessed by the log-rank test. This analysis was performed via Statistica version 6 (23).

5.4. RESULTS

Between January 1987 and October 2007, 6,052 contacts were examined in our Clinic. Of these, 2,127 were PGL-I tested. Table 1 shows that the distribution of BCG vaccination status after index case diagnosis and age of contacts differed significantly between the people who were included in the cohort (tested for PGL-I) and those who were not.

A total of 341/2,127 (16.0%) contacts were seropositive at intake. Controlling for other covariates, females, those aged 21-30 years, people with a BCG scar, household contacts and contacts of PB patients with a disability grade 2 all had a statistically significant higher risk to be seropositive (Table 2). The leprosy classification of the index case was not associated to seropositivity, but was an effect modifier (qualitative interaction) of disability grade.

During follow-up, 42 (2.0%) incident leprosy cases were diagnosed among the 2,127 contacts who had been tested for the PGL-I antibodies. Thirty-seven were diagnosed as PB patients (27 seronegative and 10 seropositive) and 5 as MB (2 seronegative and 3 seropositive). Among the PB incident cases, 27 were vaccinated (19 seronegative and 8 seropositive) and 10 were not (8 seronegative and 2 seropositive). None of the contacts diagnosed as MB patients had been vaccinated (date not shown). Overall, the leprosy incidence rate among seropositive contacts was 3.28 (95%CI 1.54 – 7.01) times higher than the seronegative (Table 3). The association was stronger in contacts of the following subgroups: without a BCG scar, vaccinated after clinical examination, females, non-household contacts, children under 10 years of age, and MB index cases.

Seventy-two percent (1535/2127) of contacts received a BCG vaccination after diagnosis of their index case 40% (614/1535) first dose and 60% (921/1535) second dose (data not shown).

Although the leprosy incidence rate was higher among unvaccinated seropositive contacts (12.79/1000 PY), the highest risk for developing leprosy was found for seropositive vaccinated contacts, RR of 4.53 (95%CI 1.80 – 11.43). A strong association between leprosy and seropositivity was observed for the 0-10 year-old age group, RR of 9.85 (95%CI 2.0 – 48.45). The highest incidence rate was seen in seropositive contacts of index cases with high BIs (19.49/1000 PY). MB classification and high index patient BI were related to an increased risk for leprosy among seropositive contacts, RR of 4.01(95%CI 1.76 – 9.13) and 3.86 (95%CI 1.46 – 10.19) respectively. Leprosy rates among contacts were strongly associated to PGL-I seropositivity, with effect modification by previous vaccination (BCG scar), vaccination after diagnosis of index case, age and sex.

In contrast to what was observed above, the cumulative risk was higher for non-vaccinated seropositive individuals showing In the long run, the largest proportion of contacts developing disease, but vaccinated seropositive contacts developed the disease earlier (Figure 1). Vaccinated seronegative contacts showed the best scenario because they had the lowest rates. In general, the risk of developing leprosy was higher for the unvaccinated, seropositive contact, mainly after four years of follow-up. In this group, the cumulative incidence in 9 years of follow-up was approximately 11.5%. The risk for developing leprosy among vaccinated seropositive contacts was mainly during the first year after BCG vaccination. In this group the cumulative incidence was roughly 6% in 4 years of follow-up. The risk of developing leprosy for vaccinated, seropositive contacts declined substantially after 4 years of follow-up. Conversely, for unvaccinated, seropositive contacts, the risk increased after the four years of follow-up activity.

5.5. DISCUSSION

PGL-I serology can be used as a tool to identify contacts of leprosy patients with a higher risk of developing leprosy (21). The present study relates antibody levels of PGL-I with the risk of developing leprosy in association with BCG vaccination exposure.

The observed seropositivity of 16.0% is similar to several other serological studies (24-27). Moreover, the prevalence of seropositivity in this study population showed associations with age and sex similar to those reported in other studies (6;28;29).

Females have higher innate IgM levels than males (30), which may explain the higher seropositivity rate found. We observed that seropositivity rates increased until young adulthood (21-30 years old) and declined in the older groups, which is consistent with the general decrease of overall IgM levels as related to age (30).

The presence of BCG scar was associated with a higher seropositivity but when adjusted for covariates it was weak and marginally significant, corroborating findings of Baumgart et al. (15), who argued that BCG vaccination, exposure to tuberculosis or environmental mycobacteria could potentially interfere with serological tests, such as the PGL-I assay. Interestingly, it was observed that seropositive children had a higher risk of developing leprosy which might indicate a higher specificity of the PGL-I test in this age group than in older contacts. Our study found that among the group of seropositive contacts, other factors are associated for the clinical manifestation of leprosy, such as a high index case bacterial load, BCG vaccination and, as discussed, contact age.

There was no significant difference in seropositivity between contacts of MB or PB patients, but an increased risk for seropositivity was observed among contacts of MB index cases with higher BIs OR= 1.54 (95%CI 1.03 – 2.31) and for contacts of PB index cases with a disability grade of 2 at start of MDT OR= 2.41(95%CI 1.33 – 4.38) compared to negative BI disability grade 0, respectively. However, incident cases of leprosy were rare in this group, perhaps due to the sample size. Nevertheless, these findings suggested that long exposure (as witnessed by the disability grade 2 of the index patient) to a low *M.leprae*

bacterial load (as witnessed by the PB classification of the index patient) might be sufficient to infect the contact (as witnessed by seropositivity) but insufficient for the development of overt disease (as witnessed by the low number of incident cases), indicating that the PB index cases with disability grade 2, in addition to the MB index cases with low bacillary loads, might be equally efficient at transmitting infection, which would corroborate the findings of Moet et al (2004) who found that not only contacts of MB patients but also contacts of PB patients have a higher risk of developing leprosy than the general population. All this indicates that PB patients should not be ignored as a possible source of infection.

A previous study showed that anti-PGL-I antibody-positive contacts have a significantly higher risk of developing MB leprosy than seronegative contacts (17). The authors did not report BCG status of this population, therefore it is difficult to interpret this data. In the present study, all eight vaccinated seropositive contacts with overt disease developed PB leprosy. Out of five non-vaccinated seropositive contacts with overt disease, three developed MB leprosy. These data suggest that serology and BCG vaccination reduces the risk of developing MB leprosy.

We observed a higher risk of developing leprosy for unvaccinated PGL-I positive contacts that vaccinated PGL-I negative. To our knowledge there are no reports of similar studies, therefore we cannot assess the validity of our findings. A study concerning PGL-I status was also conducted in Venezuela by Ulrich et al. (11), comparing BCG and PGL-I status and the risk of developing leprosy. As a group of unvaccinated persons was not included it was not possible to compare the risk of developing leprosy in such a group.

In figure 1, we observe that serology and BCG vaccination do exactly as one would predict. The risk of developing leprosy is increasing progressively from vaccinated seronegative to unvaccinated seropositive. Furthermore, the risk of developing leprosy is similar for unvaccinated seronegative and vaccinated seropositive contacts. The risk of developing leprosy was also higher for seropositive contacts within the first few months after receiving a BCG vaccination. This group may represent a individual with ongoing

sub-clinical disease. These explain the higher rate of leprosy case among those BCG vaccinated, confirming the hypothesis (31) that these contacts were subclinically infected by the time they received the vaccine. Therefore, these findings cannot be interpreted as BCG vaccination should not be given to contacts of leprosy patients that are seropositive, especially since the long-term effect is protective. However this BCG vaccination in seropositive contacts presented the tuberculoid forms of disease. Our data suggested that the BCG vaccine could protect them from MB forms.

In summary, PGL-I is related to an increased risk of developing leprosy and BCG vaccination is protective. Most of the vaccinated, seropositive contacts developed PB leprosy, in support of our previous observation that the BCG vaccine protects against MB leprosy (31). Additionally, contact examination combined with PGL-I testing and BCG status assessment appears to justify targeting seropositive individuals for enhanced follow-up measures. Furthermore, seropositive children should be followed extra carefully and the possibility of an intervention strategy such as prophylactic treatment should be considered.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the patients and families who participated in this study. We would like to thank Linda Oskam for reading the text critically. Thanks are also in order to the Netherlands Leprosy Relief (NLR) and CNPq (Brazilian Research Council) that financially supported this project. The ND-O-BSA (Contract NO1 AI 55262, to CSU, PJB, PI) used for production of the ML Dipstick was kindly provided by Dr. D. Chatterjee, Colorado University, Denver, USA. The NT-P-BSA used for the production of the ML Flow tests was kindly provided by Dr Fujiwara, Institute for Natural Science, Nara University, Nara, Japan.

CONFLICTS OF INTEREST STATEMENT

The authors declare no conflict of interest.

ETHICAL APPROVAL

The study was based on medical records of routine care. Data collection, management and analysis were performed by the study coordinators with protection of confidentiality.

Approval for use of clinical and laboratory data was obtained from the research ethics committee from the Brazilian National School of Public Health – (FIOCRUZ).

Table 1. Distribution of PGL-1 tested and untested contacts according to selected variables. June 1987 to October 2007.

Determinants	Serology Anti PGL-I			Total p value*
	Not tested N (%)	Tested N (%)	N (%)	
All contacts	3925 (64.9)	2127 (35.1)	6052 (100)	
Sex				
• Male	1696 (43.2)	880 (41.4)	2576 (42.6)	0.10
• Female	2229 (56.8)	1247 (58.6)	3476 (57.4)	
Contact type				
• Household contact	2523 (64.3)	1514 (71.2)	4037 (67.7)	0.26
• Non-household contact	1402 (35.7)	613 (28.8)	2015 (33.3)	
Clinical forms of index cases				
• Multibacillary	2851(72.6)	1567 (73.7)	4418 (73.0)	0.29
• Paucibacillary	1074 (27.4)	560 (26.3)	1634 (27.0)	
Age-group				
0 to 10 years	1193 (30.4)	306 (14.4)	1499 (24.8)	0.00
11 to 20 years	733 (18.6)	488 (22.9)	1221 (20.2)	
21 to 30 years	717 (18,3)	441 (20.7)	1158 (19.1)	
30 to more	1282 (32.7)	892 (41.9)	2174 (35.9)	
Previous BCG scar				
• Without BCG scar	1451 (37.0)	777 (36.5)	2228 (36.8)	0.74
• With BCG scar	2474 (63.0)	1350 (63.5)	3824 (63.2)	
By categories of BCG vaccine after diagnosis of index cases				
• Vaccinated	2124 (54.1)	1750 (82.3)	3874 (64.0)	0.00
• No vaccinated	1801 (45.9)	377 (17.7)	2178 (36.0)	
Index case BI				
0	1111 (28.3)	560 (26.3)	1671 (27.6)	0.24
0 - 2.5	1056 (26,9)	651 (30.6)	1707 (28.2)	
2.6 – 5.5	1758 (44.8)	916 (43.1)	2674 (44.2)	

* based on chi-squared test

Table 2. Crude and adjusted measures of association of seropositivity and selected covariates, among leprosy contacts.

Covariates	Serology anti PGL-I		Odds ratio (95% C.I.)	
	n	seropositive n (%)	Unadjusted	Adjusted ¹ . (aOR)
All contacts*	2127	341 (16.0)	-	-
Previous BCG scar				
Without BCG scar	777	106 (13.6)	1	1
With BCG scar	1350	235 (17.4)	1.33 (1.03 – 1.72)	1.36 (1.0 – 1.85)
Sex				
Male	876	119 (13.6)	1	1
Female	1251	222 (17.8)	1.37 (1.07-1.75)	1.39 (1.08 – 1.78)
Age-group				
0 to 10 years	306	45 (14.7)	1.06 (0.73 – 1.52)	0.88 (0.58 – 1.34)
11 to 20 years	488	78 (16.0)	1.17 (0.87 – 1.57)	1.02 (0.73 – 1.44)
21 to 30 years	441	93 (21.1)	1.64 (1.20 – 2.24)	1.49 (1.06 – 2.10)
30 to more	892	125 (14.0)	1	1
Contact type				
Non -household contact	613	76 (12.4)	1	1
Household contact	1514	265 (17.5)	1.50 (1.10 – 2.04)	1.59 (1.16 – 2.18)
Clinical forms of index cases				
Paucibacillary	560	76 (13.6)	1	1
Multibacillary	1567	265 (16.9)	1.30 (0.91 – 1.84)	1.07 (0.72 – 1.60)
Index case BI at start MDT				
0	560	76 (13.6)	1	1
0 - 2.5	651	92 (14.1)	1.05 (0.71 - 1.54)	1.07 (0.72 – 1.60)
2.6 – 5.5	916	173 (18.9)	1.48 (1.02 – 2.17)	1.54 (1.03 – 2.31)
Disability grade/ PB index cases				
0	345	37 (10.7)	1	1
1	111	16 (14.4)	1.40 (0.50 – 3.93)	1.44 (0.50 – 4.11)
2	104	23 (22.1)	2.36 (1.31 – 4.27)	2.41 (1.33 – 4.38)
Disability grade/MB index cases				
0	766	138 (18.0)	1	1
1	431	75 (17.4)	0.96 (0.64 – 1.43)	0.92 (0.61 – 1.38)
2	370	52 (14.1)	0.74 (0.51 – 1.10)	0.72 (0.49 – 1.07)

Notes: 1-all estimates are controlled for all age-group, sex, contact type, BCG scar, clinical forms and grade of disability of index cases, bacterial index cases at start MDT and are adjusted to effect of clustering.

Table 3. Number of cases/total person years among contacts and rate ratios (95% confidence limits) of leprosy according initial serological status by selected covariates.

Covariates	Serological status				Rate ratio (95% C.I.) ¹	
	Positive		Negative		Crude	Adjusted ²
	cases/PY	Rate per 1,000 PY	cases/PY	Rate per 1,000 PY		
All contacts	13/1202	10.8	29/9531	3.04	3.55 (1.77 – 7.16)	3.28 (1.54 – 7.01)
Strata:						
Neonatal BCG						
Without BCG scar	6/368	16.30	14/3952	3.54	4.60 (1.68 – 12.58)	3.72 (1.21 – 11.43)
With BCG scar	7/839	8.39	15/5579	2.69	3.12 (1.23 – 7.89)	2.84 (1.04 – 7.79)
BCG vaccination						
Not vaccinated	5/391	12.79	10/2318	4.31	2.96 (0.94 – 9.37)	2.65 (0.75 – 9.40)
Vaccinated	8/811	8.86	19/7213	2.63	3.75 (1.33 – 8.12)	4.53 (1.80 – 11.43)
Sex						
Male	4/415	9.64	9/4183	2.15	4.48 (1.36 – 14.71)	3.68 (0.85 – 16.0)
Female	9/787	11.44	20/5347	3.74	3.06 (1.35 – 6.93)	2.58 (1.07 – 6.23)
Contact type						
Household contact	11/905	12.15	24/6673	3.60	3.38 (1.42 – 6.66)	3.22 (1.48 – 7.02)
Non-household contact	2/297	6.69	5/2858	1.75	3.85 (0.67 – 22.16)	3.75 (0.39 – 36.5)
Age-group						
0 to 10 years	2/106	18.87	4/919	4.35	4.35 (0.78 – 24.35)	9.85 (2.0 – 48.45)
11 to 20 years	3/327	9.17	4/2444	1.64	5.61 (1.25 – 25.27)	4.49 (0.96 – 20.87)
21 to 30 years	0/359	-	4/2016	1.98	NR	NR
30 to more	8/410	19.51	17/4151	4.10	4.76 (2.0 – 11.38)	3.67 (1.47 – 9.20)
Clinical forms of index cases						
Paucibacillary	1/290	3.45	4/3001	1.33	2.59 (0.29 – 23.50)	3.32 (0.56 – 19.59)
Multibacillary	12/912	13.16	25/6530	3.83	3.43 (1.62 – 7.26)	4.01 (1.76 – 9.13)
Index case BI						
0	1/290	3.45	4/3001	1.33	2.59 (0.29 – 23.5)	3.32 (0.56 – 19.6)
0.5 - 2.5	2/399	5.01	5/3225	1.55	3.23 (0.62 – 16.77)	3.57 (0.65 – 19.67)
2.6 – 5.5	10/513	19.49	20/3305	6.05	3.22 (1.38 – 7.51)	3.86 (1.46 – 10.19)

¹ All estimates are adjusted to effect of clustering and controlled for all other covariates

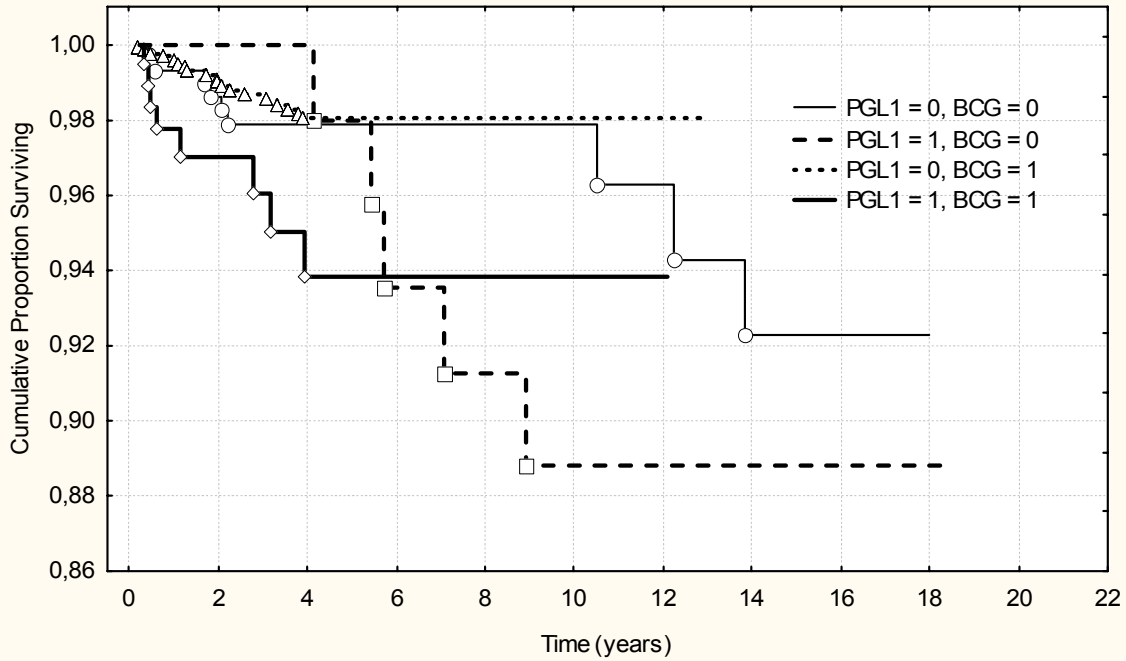
² Adjusted to effect of clustering and controlled for listed covariates

Figure 1. Cumulative Proportion Surviving (Kaplan-Meier) in contacts of leprosy patients according serological results and BCG vaccination after diagnosis of the index cases

PGL1 = 0 (PGL1= negative) PGL1 = 1 (PGL1 = positive)

BCG = 0 (No vaccinated after diagnosis of the index case)

BCG = 1 (Vaccinated after diagnosis of the index case)



6. Terceiro artigo

Avaliação de fatores determinantes do adoecimento em contatos de pacientes de hanseníase.

Avaliação de fatores determinantes do adoecimento em contatos de pacientes de hanseníase.

Düppre, N.C.¹; Camacho, L.A.B.²; Sales, A.M.¹; Nery, J.A.C.¹, Pereira, R.M.O¹; Hacker, M.A.V.B¹; Sarno, E. N.¹; Bühner-Sékula, S.³

¹ Laboratório de Hanseníase – IOC - FIOCRUZ

² Escola Nacional de Saúde Pública – FIOCRUZ

³KIT Biomedical Research, Royal Tropical Institute, Amsterdam, The Netherlands.

*Afiliação atual: Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública , Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás

Running Title: Fatores de risco na hanseníase

Palavras chave: hanseníase, exame de contato , Brasil

Local do estudo: Laboratório de Hanseníase – IOC - FIOCRUZ Rio de Janeiro, Brasil.

Correspondente: Dra. Euzenir Nunes Sarno, Leprosy Unit, Oswaldo Cruz Foundation, Av. Brazil 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, 21045-900 phone (55) (21) 2598.4287, (55) (21) 2270.9997, fax (55) (21) 2270.9997, e-mail euzenir@fiocruz.br

6.1. Resumo

Uma das atividades fundamentais para interromper a cadeia de transmissão da hanseníase é o diagnóstico precoce, principalmente quando realizado através das ações de vigilância de contatos. No entanto, vários estudos apontam que essa prática é deficiente na maior parte do país. Os dados de um serviço em que estas ações vêm sendo executadas regularmente desde 1987 são relevantes para analisar seus limites e possibilidades. O objetivo deste estudo foi avaliar as características dos casos novos de hanseníase detectados na vigilância de contatos, relacionando-os com a exposição à infecção e o tempo entre o diagnóstico do caso índice e o exame do contato. Foi realizado um estudo de coorte retrospectiva incluindo 6.158 contatos provenientes de 1.204 famílias. Além do caso índice, foram diagnosticados casos de hanseníase em 288 (24,0%) das famílias. No primeiro exame foram detectados 319 casos, dos quais 113 (35%) após 12 meses do diagnóstico do caso índice. Neste subgrupo predominaram as formas MB e grau de incapacidade igual a 2. Alto IB familiar, convivência intradomiciliar com o caso índice e baixa renda familiar foram fatores associados ao risco de adoecer. Durante o seguimento, 129 casos incidentes foram detectados e crianças de famílias que tinham casos co-prevalentes, apresentaram um risco maior de adoecer (OR = 2,1) do que os adultos. A vacinação BCG após o diagnóstico do caso índice, não conferiu proteção significativa para crianças que pertenciam a famílias nas quais já haviam sido detectados casos co-prevalentes. Este estudo indica que (1) as atividades de busca de contatos permitiram o exame de um número significativo deles, embora tardiamente em muitos casos; (2) permitiu também que os contatos identificassem os sinais da doença e procurassem o serviço para o diagnóstico; (3) os altos níveis de transmissão no domicílio, a presença de mais de uma fonte de contágio na família na época do diagnóstico do caso índice esteve associada à diminuição da proteção da vacina BCG recebida no primeiro exame do contato, principalmente entre as crianças.

Palavras-chave: Hanseníase, vigilância de contatos, BCG

6.2. Introdução

A adoção da poliquimioterapia (PQT) proposta pela Organização Mundial da Saúde (OMS) no tratamento do pacientes de hanseníase começou a ser implementada no Brasil de maneira gradual a partir de 1986 (61) e foi adotada oficialmente pelo Ministério da Saúde (MS) a partir de 1991 (62). Por ser um tratamento que leva à cura do paciente, acreditou-se que a PQT seria o instrumento mais importante na eliminação da doença. Porém, apesar das taxas de prevalência ter diminuído acentuadamente nas últimas décadas, no Brasil e no mundo, os coeficientes de detecção continuam elevados (108).

Segundo recomendação da Organização Mundial de Saúde (OMS) (109), a partir de 2007, o Brasil substituiu o uso da taxa de prevalência pela taxa de detecção de casos novos e detecção em menores de 15 anos como indicadores de monitoramento da hanseníase. Considera-se que a detecção da doença em menores de quinze anos é indicador de alta endemicidade e de precocidade de exposição da população ao *M. leprae*, sendo um importante elemento para avaliação da magnitude da doença, fornecendo uma informação mais precisa sobre a tendência da doença (110).

De acordo com dados do Ministério da Saúde (108), nos últimos seis anos, foram detectados em média no Brasil 47.400 novos casos e cerca de 3.000 pessoas ainda são diagnosticadas com deformidade física por hanseníase a cada ano. Em 2006, o coeficiente de detecção foi 2,49/10.000 habitantes (59) e em menores de 15 anos foi 0,70/10.000 habitantes (93), indicando que a hanseníase é um importante problema de saúde pública no Brasil. A Região Norte foi a que apresentou o maior coeficiente, 6,45 casos por 10.000 habitantes, seguida da Região Centro-Oeste, com 6,17 casos por 10.000 habitantes. Já o Nordeste apresentou 3,36 casos por 10.000 habitantes; o Sudeste 1,17 casos por 10.000 habitantes; e o Sul 0,70 casos por 10.000 habitantes (59). As taxas de detecção parecem acompanhar o grau de desenvolvimento das regiões (111).

O risco de desenvolver hanseníase é maior entre os contatos domiciliares (112;113) e a idade ao adoecer está intimamente relacionada com a oportunidade de exposição

(71;72). Como a demora no diagnóstico está associada à incapacidade física entre os casos detectados(114), é fundamental o diagnóstico precoce da hanseníase principalmente em menores de 15 anos, que podem ser os contatos de casos ainda não-diagnosticados, focos de infecção na comunidade. Para alguns autores (75;115), a informação sobre a doença e o exame dos contatos domiciliares dos casos novos diagnosticados ainda são as principais estratégias para o diagnóstico precoce da hanseníase.

Para Andrade (76), o impacto epidemiológico esperado pela implantação da poliquimioterapia, foi comprometido na medida em que as ações de diagnóstico precoce, prevenção e tratamento de incapacidades físicas, vigilância de contatos e educação sanitária não foram executadas no Brasil, na mesma amplitude que a oferta de tratamento. Pinto-Neto et al. afirmam que, apesar de todas as evidências apontarem para a necessidade dos serviços de saúde valorizarem a investigação epidemiológica da doença no grupo de contatos, essa atividade nunca foi seguida conforme o recomendado (6).

No Brasil, a maioria dos estudos de contatos dos pacientes de hanseníase foram executados através de visitas domiciliares (116;117) ou utilizando estratégias de campanhas pontuais (118;119). Embora todos esses estudos relatem que a busca ativa ampliou as oportunidades de diagnóstico precoce, evitando assim as incapacidades físicas, poucos são os estudos relatando o exame dos contatos intradomiciliares na rotina do atendimento do paciente de hanseníase (120).

Desde junho de 1987, o Ambulatório Souza Araújo, Laboratório de Hanseníase da FIOCRUZ realiza o exame sistemático dos contatos dos pacientes de hanseníase registrados (casos índices) como rotina do serviço. Este setor desenvolve trabalho de educação em saúde junto aos pacientes e seus familiares em diversos momentos tanto no diagnóstico do caso índice, como na orientação e exame de seus familiares.

A experiência acumulada pela equipe deste Ambulatório somada a escassez de dados no Brasil, sobre a vigilância de contatos nas condições de atendimento de rotina, justificam uma análise dos limites e possibilidades deste método de controle de contatos de

hanseníase recomendados pelo Ministério da Saúde e aplicados em um serviço de referência.

O presente estudo tem como objetivo avaliar a característica dos casos novos de hanseníase detectados na vigilância de contatos, relacionando estes casos com a exposição à infecção e o intervalo de tempo entre o diagnóstico do caso índice e o comparecimento do contato.

6.3. Metodologia

Foi desenvolvido um estudo de coorte retrospectivo, envolvendo os contatos de pacientes de hanseníase registrados no Ambulatório Souza Araújo (ASA), Laboratório de Hanseníase - FIOCRUZ. A demanda de pacientes atendidos é proveniente de encaminhamentos realizados por quaisquer serviços de saúde (públicos ou privados) do município, do estado do Rio de Janeiro ou de procura espontânea.

6.3.1. Recrutamento dos contatos

Após a confirmação clínica, histopatológica e bacteriológica da hanseníase os pacientes (casos índices) foram orientados pela assistente social sobre a sua forma clínica, contágio, tratamento, modo de transmissão e sobre a necessidade do exame de seus contatos. Todos os indivíduos referidos pelo paciente como contatos, vivendo no mesmo domicílio ou não, porém, mantendo contato diário ou esporádico foram agendados para comparecerem ao serviço, em data mais próxima possível do início do tratamento do caso índice.

A inclusão no estudo foi feita, à medida que os contatos compareciam para exame dermatoneurológico e verificação da cicatriz de BCG. A partir de 1991, os contatos passaram a receber a vacina BCG intradérmica seguindo as recomendações do Ministério da Saúde (5): uma dose naqueles que apresentavam cicatriz de BCG e duas doses naqueles que não apresentavam cicatriz.

No primeiro exame clínico, o comunicante também era entrevistado por assistente social para obtenção de dados referentes à idade, sexo, escolaridade, renda familiar, tipo e tempo de convivência com o caso índice e também orientação quanto as formas clínicas da hanseníase, período de incubação, primeiros sinais e sintomas da doença, bem como da necessidade de retornar ao serviço em caso de apresentar os sinais da doença, indicados na entrevista.

Para confirmação diagnóstica de hanseníase foram realizados exames clínico, baciloscópico e histopatológico. Para classificação das formas clínicas utilizou-se a escala de Ridley-Jopling (17): borderline-borderline (BB), borderline-lepromatoso (BL), lepromatoso-lepromatoso (LL), borderline-tuberculóide (BT), tuberculóide-tuberculóide (TT) ou hanseníase indeterminada (HI). Foram classificados também como multibacilares (MB) ou paucibacilares (PB), de acordo com o resultado do Índice Baciloscópico (IB) positivo ou negativo.

Para fins de controle de contato, **caso índice** foi definido como caso primário de hanseníase, responsável pela vinda do contato ao serviço. O **tipo de convivência com o caso índice** definiu como **contato intra-domiciliar** o indivíduo que convive ou tenha convivido com o caso índice durante um período de pelo menos cinco anos antes da detecção. **Contato extra-domiciliar** eram indivíduos que embora não residissem no mesmo domicílio, foram considerados como contatos importantes pelo caso índice. Os casos de hanseníase detectados entre os contatos foram considerados como co-prevalente ou incidente considerando o **momento em que esses casos foram diagnosticados: co-prevalentes** – aqueles casos em que o primeiro exame do contato evidenciou também neste a presença de hanseníase em adição ao caso-índice, esses casos não tinham sido diagnosticados anteriormente por nenhum outro serviço de saúde. Interpretou-se esse contato como tendo adoecido a partir de contágio com o caso-índice – ou **casos incidentes** - casos novos de hanseníase entre os contatos diagnosticados durante o seguimento (contatos que estavam sadios no momento do primeiro exame no serviço e que desenvolveram a doença em algum momento durante o seguimento).

Com a finalidade de avaliar se o período decorrido entre o diagnóstico do caso índice e a avaliação do contato influenciaram no aparecimento de novos casos de hanseníase entre os contatos após o primeiro exame no serviço, foram criados grupos de análises segundo o momento do comparecimento do contato para ser examinado no serviço, considerando o intervalo de tempo entre o diagnóstico do caso índice e o comparecimento do contato para o exame dermatológico, o qual teve três categorias: **tempo regular** - Contatos examinados nos primeiros 3 meses após o início do tratamento do caso índice;

tempo intermediário - Contatos examinados entre o 4° e o 12° mês após o início do tratamento do caso índice; e *Comparecimento tardio* - Contatos examinados após o 12° mês após o início do tratamento do caso índice.

6.3.2. Análise estatística

Para avaliar a frequência das formas clínicas apresentadas pelos contatos e a incidência acumulada de casos de hanseníase segundo o momento do comparecimento do contato para o exame dermatoneurológico considerou-se como unidade de análise, o contato. Para verificar a presença de associação dos parâmetros demográficos, clínicos e epidemiológicos dos contatos e dos casos índices, segundo o momento em que os casos novos de hanseníase foram diagnosticados na família, considerou-se como unidade de análise o grupo familiar representado pelo caso índice.

A incidência acumulada foi calculada segundo o momento do comparecimento do contato para o primeiro exame no serviço, de acordo com as variáveis do estudo.

A proporção de casos co-prevalentes de hanseníase foi calculada para cada forma clínica e grau de incapacidade apresentados em relação ao momento do comparecimento do contato para ser examinado.

Em Junho de 2006, numa tentativa de minimizar as perdas ocorridas durante o seguimento, confrontamos o nosso banco de dados com a base de dados oficial de notificação SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação) das Secretarias Municipal e Estadual de Saúde do Rio de Janeiro, contendo todos os casos de hanseníase notificados desde 1986. A finalidade foi verificar casos novos de hanseníase entre os contatos examinados em nosso serviço e que tivessem procurado outras unidades de saúde para diagnóstico e tratamento. Utilizou-se como variável de busca o nome completo, nome da mãe e data de nascimento. Foram considerados sadios todos os contatos que não procuraram o nosso serviço para diagnóstico e aqueles que não foram localizados na base de dados do SINAN.

A análise dos dados foi feita utilizando o pacote estatístico Stata versão 8.0 (90).

A análise univariada foi realizada para verificar a distribuição dos contatos com relação a todas as variáveis do estudo para cada grupo familiar. A odds ratio (OR) foi

utilizada para estimar a magnitude da associação entre a ocorrência de hanseníase e as variáveis do estudo. O modelo de regressão logística foi aplicado para cada grupo familiar em separado, considerando como variável dependente (adoecimento ou não) os doentes detectados em cada grupo. As variáveis demográficas e sócio-ambientais relacionadas aos contatos foram: idade e sexo do comunicante, presença ou ausência da cicatriz de BCG recebida na infância, vacina BCG recebida após o diagnóstico do caso índice e tipo de convivência com o caso índice. Relacionadas aos casos índices: renda familiar mensal, escolaridade, grau de incapacidade física e índice baciloscópico (IB) familiar. Considerou-se como IB familiar o próprio IB do caso índice somado ao IB dos casos co-prevalentes detectados. Foi utilizado o modelo de regressão logística multivariado, considerando o efeito de conglomerado (cluster) indicado pela variável registro do caso índice.

6.4. Resultados

Entre Junho de 1987 a Dezembro de 2007 foram registrados no ASA 1.982 casos índices, sendo 53,2% MB e 46,8% PB. Compareceram 1204 famílias de contatos (intra e extra-domiciliares) para serem examinados, 785 (65,2%) relacionados a casos índices MB e 419 (34,8%) a casos índices PB. Foram incluídos no estudo 6.158 contatos, 4.495 (73%) com casos índices MB e 1.663 (27%) PB.

No momento do primeiro exame dos contatos no ASA em 18,5% (223/1204) das famílias examinadas foram detectados 319 casos co-prevalentes perfazendo um total de 5,2% (319/6.158) da população de contatos examinados (figura 1). Durante o período de seguimento 38 famílias, perfazendo um total de 3,2% (38/1.204) além de casos co-prevalentes, também apresentaram casos incidentes (69 casos co-prevalentes e 50 casos incidentes) com uma média de 3,9 doentes por família (variando de 2 a 10 doentes). Outras 67 famílias, perfazendo um total de 5,6% (67/1204) geraram apenas casos durante o seguimento (79 novos casos). Entre as 1.204 famílias examinadas, em 288 (24,0%) delas foram detectados casos de hanseníase nos contatos durante o estudo. Outras 916 (76%) famílias, todos os contatos examinados permaneceram sadios.

Na tabela 1, observamos que a incidência acumulada de hanseníase segundo os diferentes momentos de comparecimento dos contatos ao serviço foi significativamente maior quanto mais tardiamente o contato comparecia para ser examinado no serviço ($p = 0,00$) [dado não tabulado]. Neste grupo de contatos que compareceram após os 12 meses do diagnóstico do caso índice, foi significativa a maior proporção de casos co-prevalentes detectados em maiores de 15 anos, e naqueles do sexo masculino. Os contatos intradomiciliares e aqueles com casos índices com $IB > 2,5$ apresentaram uma maior proporção de casos co-prevalentes independente do momento de comparecimento para o exame. Nos contatos examinados nos primeiros 12 meses, incidência acumulada foi inversamente correlacionada à renda mensal. Nos contatos que compareceram após 12 meses, a incidência acumulada não pareceu ser substancialmente afetada pela renda

familiar. Em todos os estratos de tempo de comparecimento a incidência acumulada foi inversamente relacionada à escolaridade do caso índice.

Na tabela 2, observamos que a maior proporção de contatos que desenvolveram as formas PB da hanseníase foram examinados em tempo regular (44,3%), enquanto que entre os 91 (28,5%) detectados com as formas multibacilares, 48 (52,7%) compareceram tardiamente para o exame dermatoneurológico. A proporção de diagnósticos tardios também foi maior nos contatos que apresentaram maior grau de incapacidade física.

Entre os 129 casos incidentes de hanseníase 85,3% (110/129) eram PB e 14,7% (19/129) eram MB. O grau 2 de incapacidade física foi observado em 4,7% (6/129), desses, 5 eram MB e apenas 1 era menor de 15 anos no momento do primeiro exame no serviço. As crianças apresentaram um maior risco de adoecer (tabela 3) especialmente quando foram considerados os casos incidentes nas famílias em que já haviam casos co-prevalentes. Entre os casos co-prevalentes, 37,3% (31/83) conviviam com mais de um caso multibacilar e 79,5% (66/83) delas conviviam com casos índices com IB acima de 2,5.

Durante o seguimento, quando as crianças pertenciam a famílias nas quais casos co-prevalentes já tinham sido diagnosticados o risco de desenvolver hanseníase foi 2,1 vezes maior. Entre os 50 casos incidentes, 26 (52%) tinham além do caso índice, outros casos multibacilares co-prevalentes, dos quais 58% (14/24) compareceram tardiamente para o primeiro exame no serviço.

Alto IB familiar esteve associado ao risco de adoecer em todos os momentos em que o contato foi detectado. O tipo de convivência intra-domiciliar esteve associado ao adoecimento principalmente entre famílias com casos co-prevalentes e naquelas com apenas casos incidentes. A renda familiar mensal entre 0 e 3 salários mínimos demonstrou ser um fator de risco para o adoecimento principalmente entre os contatos detectados no primeiro exame (co-prevalentes).

A vacina BCG recebida na infância esteve associada à proteção, independente do momento em que o contato tenha sido diagnosticado. A proteção conferida pela vacina

BCG feita após o diagnóstico do caso índice em contatos não foi significativa OR = 0,55 (95% IC 0,28 – 1,10) no grupo de contatos que pertenciam a famílias nas quais já haviam sido detectados casos co-prevalentes. Análise para avaliação desta proteção segundo grupo etário demonstrou que para menores de 15 anos a proteção não foi significativa OR = 0,96 (95% IC 0,33 - 2,75). Enquanto que para aqueles com idade igual ou maior 15 anos a proteção foi de 62% [OR = 0,38 (95% CI 0,17 – 0,85)], dado não tabulado.

6.5. Discussão

Apesar da recomendação atual de examinar todos os contatos intradomiciliares dos casos novos de hanseníase (2), estudos indicam que problemas operacionais, falta de comprometimento e rotatividade de profissionais de saúde e a alta demanda de serviços dificultam o cumprimento desta norma no país (121). Em 2005, auditoria realizada em 206 municípios considerados prioritários para eliminação da hanseníase como um problema de saúde pública no Brasil (68) apontou como principais causas para a não-realização do exame dos contatos: (1) a dificuldade dos contatos em se deslocar até a unidade de saúde; (2) a recusa dos contatos em se submeter ao exame dermatoneurológico e (3) a resistência do paciente em revelar a família sua condição de paciente de hanseníase.

Cavallieri et al. (119) discutem estas dificuldades e relatam ter conseguido examinar em visita domiciliar 56,8% dos contatos que não atenderam a solicitação da unidade de saúde, demonstrando a dificuldade em mobilizar os contatos para exame dermatoneurológico. Em nosso estudo, observamos o comparecimento de 61% (1204/1982) das famílias dos pacientes registrados no serviço. O comprometimento dos profissionais com o exame de contato, as ações de educação em saúde realizadas sistematicamente durante as visitas de diagnóstico e o acompanhamento dos pacientes, também, nos exames dos contatos foram a base de sustentação para o recrutamento.

A maior parte de casos de hanseníase detectados entre os contatos foi no momento do exame inicial 5,2% (319/6.158). Durante o seguimento, 2,3% (129/5.710) daqueles inicialmente saudáveis, desenvolveram hanseníase. Estes achados corroboram com estudos anteriores (56;71), que relataram uma diminuição na probabilidade de adoecimento entre os contatos intra-domiciliares após o caso índice ter iniciado o tratamento poliquimioterápico.

Dos 6.158 contatos examinados, 3.620 (58,8%) compareceram nos primeiros 3 meses após o início do tratamento do caso índice. Qual seria o motivo que levou 41,2% dos contatos a comparecerem tardiamente? A média da idade dos 973 contatos examinados tardiamente foi 34 anos, variando de 2 a 79 anos, com predominância do sexo masculino.

Esta resistência ou demora no comparecimento não se diferenciou quanto à renda familiar e à escolaridade do caso índice, esses dados podem refletir a influência de fatores culturais relacionados à própria doença e que independem do grau de escolaridade e do nível sócio-econômico tanto dos casos índices como de seus contatos.

Cavalheri (119) observou, também, uma resistência dos contatos em comparecerem para exame. O autor relata não ter conseguido examinar este grupo, mesmo tendo realizado visita domiciliar. Em nosso estudo, um número significativo de co-prevalentes compareceram tardiamente, apesar da resistência inicial. Esta busca, mesmo que tardia, pelo serviço pode ter sido influenciada pela educação em saúde, dada ao caso índice e/ou aos familiares que compareceram previamente, permitindo que a família suspeitasse dos sinais e sintomas da doença.

A incidência de hanseníase nas formas multibacilares parece aumentar com a idade, sugerindo um período de incubação mais longo para as formas multibacilares da doença (122). Em nosso estudo, de um modo geral, entre aqueles detectados com as formas multibacilares 52,7% (48/91) compareceram tardiamente para serem examinados: o intervalo entre o diagnóstico do caso índice e o comparecimento foi de 2,4 anos (dp = 2,8). Dos menores de 15 anos que foram detectados entre os casos co-prevalentes 18,7% (17/91) eram MB. Teriam essas crianças sido infectadas precocemente em um ambiente com cargas de infecção elevada? Poderia ser uma característica genética? O risco de menores de 15 anos desenvolverem hanseníase confirma dados da literatura que apontam para a vulnerabilidade desta faixa etária quando a exposição ao *M. leprae* ocorre muito precocemente e quando o processo de transmissão é bastante intenso (71;72)

Segundo alguns autores (123;124), é a demora no diagnóstico a maior causa do dano neural, o qual pode causar desde a perda de sensibilidade até deformidades irreversíveis. A maior proporção dos casos co-prevalentes foi detectada com grau de incapacidade física igual a zero [265 (83,1%)]. Este achado demonstra que a busca ativa pode ter favorecido o diagnóstico precoce da doença, impedindo o dano neural. Maior proporção de casos detectados com grau 2 de incapacidade física foi observada nos que

compareceram mais tardiamente para o exame, indicando o longo período entre os primeiros sinais e sintomas da doença e o diagnóstico.

O risco de adoecer é inversamente proporcional ao número de anos escolares seguidos e as boas condições de vida (54), relatando que os fatores sócios econômicos têm um papel importante no risco de desenvolver hanseníase. Dados do nosso estudo indicam que embora a carga bacilar seja importante para o adoecimento, a associação de fatores como baixa renda e escolaridade potencializam este risco.

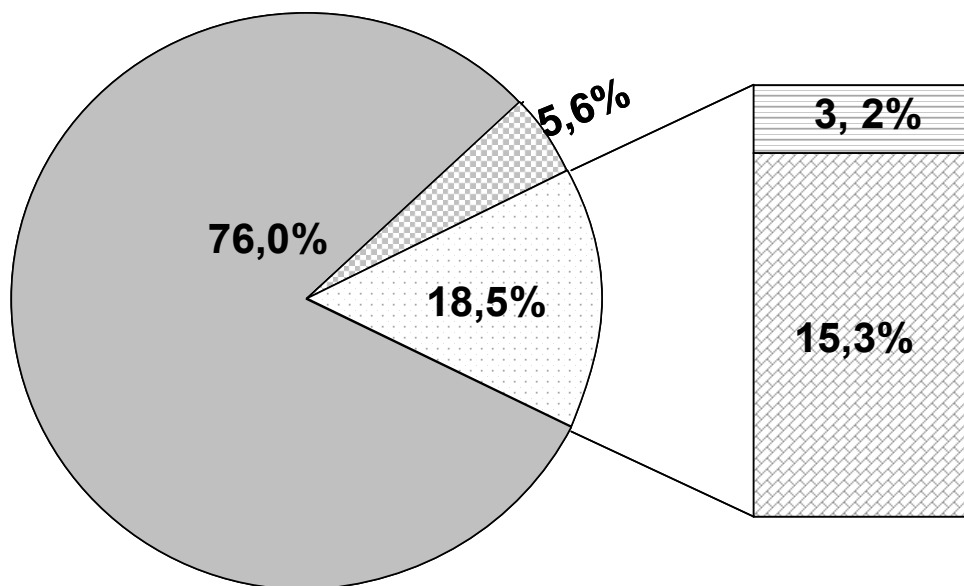
A vacina BCG recebida na infância segundo as normas do programa da tuberculose conferiu uma significativa proteção contra a hanseníase, independente do momento em que novos casos foram sendo detectados na família. No grupo de contatos provenientes de famílias que já tinham casos co-prevalentes, a vacina BCG, fornecida após o diagnóstico do caso índice, não mostrou ser efetiva contra hanseníase. Neste grupo a alta do IB familiar foi o principal responsável pelo adoecimento, sugerindo a presença de infecção sub-clínica no grupo de contatos que estavam sadios no primeiro exame no serviço e que adoeceram mesmo tendo recebido a vacina. Esses dados corroboram com os achados de Duppre et al (107) e Muliyl et al (125), de que a vacina BCG administrada após o diagnóstico do caso índice naqueles que estejam desenvolvendo a infecção subclínica, pode ter acelerado a resposta imune, levando ao aparecimento da doença.

A proteção da vacina no grupo de contatos que já tinham casos co-prevalentes foi significativa para os adultos (62%), já para as crianças a proteção foi quase nula (4%). Do total de casos de hanseníase detectados, no grupo que já tinham casos co-prevalentes na família, 82% (41/50) tinham laços de consangüinidade com o caso índice. Entre as 21 crianças, apenas uma não tinha laços de consangüinidade. Uma das possíveis explicações, com base em estudos genéticos, seria a presença de variantes genéticas em um ou mais genes envolvidos com a susceptibilidade a doença. Segundo Beiguelman e col (126), a presença do alelo A no DNA humano indica a suscetibilidade à hanseníase. Assim, indivíduos que apresentam esta variante podem ter uma resposta imune mais fraca com maior possibilidade de desencadear a doença. Segundo Moraes e col (127), o efeito inibidor

desse gene é mais aparente em crianças de até 15 anos, porém não pode ser considerado como único fator. É a contribuição conjunta de genes somados à carga de infectividade na família, que favorecem o desenvolvimento da doença.

Os dados apresentados mostram que as atividades de vigilância de contatos, mesmo quando executadas em um serviço com amplos recursos humanos e materiais, deixa de fora uma proporção substancial que não comparecem para serem examinados regularmente. A maior limitação do ASA talvez seja o acesso, já que muitos dos contatos residem em áreas distantes da cidade. Os dados parecem confirmar o pressuposto das atividades de vigilância de contatos, na medida em que a alta (co)prevalência e alta incidência mostram que este é o grupo de risco a ser priorizado em ações de busca ativa.

Figura 1. Proporção de famílias com casos de hanseníase detectados durante o estudo segundo o momento da detecção



- Percentual de famílias sem doentes
- ▤ Percentual de famílias com casos coprevalentes
- ▨ Percentual de famílias apenas com casos incidentes
- ▧ Percentual de famílias com casos Coprevalentes e incidentes
- ▩ Percentual de famílias apenas com casos coprevalentes

Tabela 1. Incidência acumulada de hanseníase no exame inicial segundo o intervalo de tempo entre o diagnóstico do caso índice e o comparecimento do contato para exame dermatoneurológico.

	Tempo de comparecimento do contato					
	Até o 3º mês		Entre o 4º e o 12º mês		Após o 12º mês	
	Casos/n	Incidência Acumulada (%)	Casos/n	Incidência Acumulada (%)	Casos/n	Incidência Acumulada (%)
Características do contato						
Grupo etário						
< 15 anos	37/1.231	3,01	22/500	4,40	24/319	7,52
>15 anos	87/2.389	3,64	60/1.065	5,63	89/654	13,61
p valor*		0,32		0,31		0,05
Sexo						
Masculino	51/1.515	3,37	31/669	4,63	60/428	14,02
Feminino	73/2.105	3,47	51/896	5,69	53/545	9,72
p valor*		0,86		0,35		0,04
Tipo de convivência						
Intradomiciliar	95/2.370	4,01	61/897	6,80	71/525	13,52
Extradomiciliar	29/1.250	2,32	21/668	3,14	42/448	9,38
p valor*		0,00		0,00		0,04
Características do caso índice						
IB do caso índice						
0	21/1.291	1,63	11/404	2,72	11/156	7,05
0,5 – 2,5	24/994	2,41	12/465	2,58	29/332	8,73
2,6 - +	79/1.335	5,92	59/696	8,48	73/485	15,05
p valor*		0,00		0,00		0,03
Renda familiar mensal						
0 a 3	94/2.065	4,55	64/962	6,65	74/571	12,96
3 a 6	23/1.034	2,22	14/429	3,26	32/339	9,44
6 e +	7/521	1,34	4/174	2,30	7/63	11,11
p valor*		0,00		0,01		0,28
Escolaridade do caso índice						
0 a 3 anos	90/2.221	4,05	66/979	6,74	77/626	12,30
4 a 7 anos	12/449	2,67	8/239	3,35	19/123	15,45
8 a 10 anos	15/392	3,83	6/168	3,57	10/111	9,01
11 e mais	7/558	1,25	2/179	1,12	7/113	6,19
p valor*		0,00		0,00		0,11

* Baseado no teste qui quadrado de Pearson.

Tabela 2. Distribuição dos casos novos de hanseníase entre os contatos detectados no momento do exame inicial (co-prevalentes) por forma clínica e grau de incapacidade física segundo o intervalo de tempo entre o diagnóstico do caso índice e o comparecimento do contato.

	Tempo de comparecimento do contato						Total
	Até o 3º mês		Entre o 4º e o 12º mês		Após o 12º mês		
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Total de contatos examinados	3.620	58,8	1.565	25,4	973	15,8	6.158
Forma clínica*							
HI	25	56,8	12	27,3	7	15,9	44
BT	62	38,8	43	26,9	55	34,4	160
TT/NP/NI	14	58,3	7	29,2	3	12,5	24
BB	6	20,7	3	10,3	20	69,0	29
BL	9	24,3	9	24,3	19	51,4	37
LL	8	32,0	8	32,0	9	36,0	25
Total	124	38,9	82	25,7	113	35,4	319
Classificação clínica**							
PB	101	44,3	62	27,2	65	28,5	228
MB	23	25,3	20	22,0	48	52,7	91
Grau de Incapacidade física							
0	108	40,8	69	26,0	88	33,2	265
1	13	38,2	9	26,5	12	35,3	34
2	3	15,0	4	10,0	13	65,0	20

*HI = hanseníase indeterminada; BT = borderline-tuberculóide; TT = tuberculóide-tuberculóide; NP = neural pura; NI = nodular infantil; BB = borderline-borderline; BL = borderline lepromatoso; LL = lepromatoso-lepromatoso.

** PB = Paucibacilar; MB = Multibacilar

Tabela 3. Características demográficas e epidemiológicas dos contatos segundo o momento da detecção durante todo o período do estudo.

Momentos da detecção dos casos de hanseníase entre os contatos.						
	Famílias com casos co-prevalentes		Famílias com apenas casos incidentes		Casos incidentes de famílias com casos co-prevalentes	
	Casos (n)	OR (95% IC)	Casos (n)	OR (95% IC)	Casos (n)	OR (95% IC)
Grupo etário						
0 a 14	83/2.050	1,51 (1,05 – 2,16)	20/1.945	1,21 (0,65 – 2,24)	21/1.947	2,1 (1,12 – 3,85)
15 a +	236/4.108	1	59/3.842	1	29/3.813	1
Sexo						
Masculino	142/2.612	1,23 (0,96 – 1,57)	29/2.451	0,87 (0,56 – 1,36)	19/2.441	0,68 (0,40 – 1,18)
Feminino	177/3.546	1	50/3.336	1	31/3.319	1
IB familiar*						
0	43/1.851	1	11/1.811	1	3/1.803	1
0,5 – 2,5	65/1.791	1,80 (1,15 – 2,80)	42/2.507	1,84 (0,88 – 3,85)	10/2.475	1,47 (0,28 – 7,85)
2,6 +	211/2.516	4,17 (2,88 – 6,05)	26/1.469	4,16 (2,04 – 8,48)	37/1.483	7,23 (1,37-38,22)
Tipo de convivência com o caso índice						
Intradomiciliar	227/3.792	1,34 (1,03 – 1,75)	63/3.534	2,46 (1,40 – 4,30)	31/3.502	1,03 (0,50 – 2,13)
Extradomiciliar	92/2.366	1	16/2.253	1	19/2.258	1
Escolaridade do caso índice						
0 a 3 anos	233/3.826	2,51 (1,53 – 4,09)	43/3.560	0,33 (0,17 – 0,64)	80/3.597	1,14 (0,50 – 2,58)
4 a 7 anos	39/811	2,35 (1,28 – 4,33)	5/765	0,19 (0,07 – 0,52)	21/781	1,51 (0,54 – 4,26)
8 a 10 anos	31/671	2,29 (1,22 – 4,29)	10/630	0,54 (0,19 – 1,59)	15/637	0,45 (0,06 – 3,25)
11 e mais	16/850	1	21/832	1	3/814	1
Renda familiar mensal						
0-3	232/3.598	2,09 (1,17 – 3,73)	53/3.327	1,82 (0,82 – 4,04)	37/3.313	0,99 (0,46 – 2,13)
4-5	69/1.802	1,55 (0,83 – 2,89)	17/1.722	0,94 (0,44 – 2,03)	11/1.716	0,37 (0,09 – 1,58)
6 e +	18/758	1	9/738	1	2/731	1
Cicatriz de BCG						
Presente	118/3.908	0,32 (0,24 – 0,43)	34/3.763	0,44 (0,26 – 0,73)	26/3.756	0,46 (0,26 – 0,82)
Ausente	201/2.250	1	45/2.024	1	24/2.004	1
Vacina BCG						
Sim	-	-	39/3.595	0,48 (0,28– 0,81)	23/3.580	0,66 (0,33 – 1,30)
Não			40/2.192	1	27/2.180	1

*Para aqueles detectados no exame inicial considerou-se o IB do caso índice no início do tratamento e para aqueles casos incidentes de famílias com co-prevalentes utilizou-se a soma do IB familiar (IB do caso índice mais o IB dos casos de hanseníase detectados na família durante o exame inicial)

7. Lista de Referências

- (1) World Health Organization. Leprosy elimination. *Leprosy today*. 21-11-2007. 21-11-2007.
Ref Type: Internet Communication
- (2) Ministério da Saúde. *Guia para o controle da hanseníase*. 2002. Brasil.
Ref Type: Pamphlet
- (3) Fine PE, Sterne JA, Ponnighaus JM, Bliss L, Sauj J, Chihana A, et al. Household and dwelling contact as risk factors for leprosy in northern Malawi. *Am J Epidemiol* 1997 Jul 1;146(1):91-102.
- (4) van Beers SM, Hatta M, Klatser PR. Patient contact is the major determinant in incident leprosy: implications for future control. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1999 Jun;67(2):119-28.
- (5) Portaria nº 1.401, de 14 de Agosto de 1991, 1401, Ministério da Saúde, (1991).
- (6) Pinto-Neto JM, Villa TCS, Oliveira MHP, Barbeira CBS. O controle dos comunicantes de hanseníase no Brasil: uma revisão da literatura. *Hansen Int* 2000;25:163-76.
- (7) Araújo MG. Hanseníase no Brasil. Artigo de atualização. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2003;36(3):373-82.
- (8) Walsh GP, Meyers WM, Binford CH, Gerone PJ, Wolf RH, Leininger JR. Leprosy--a zoonosis. *Lepr Rev* 1981 Dec;52 Suppl 1:77-83.
- (9) Pallen MJ, McDermott RD. How might *Mycobacterium leprae* enter the body? *Lepr Rev* 1986 Dec;57(4):289-97.
- (10) Pedley JC. Transmission of leprosy. A window on leprosy. *Wardha : Gandhi Memorial Leprosy Foundation*, 1978. p. 54-8.
- (11) Davey TF, Rees RJ. The nasal discharge in leprosy: clinical and bacteriological aspects. *Lepr Rev* 1974 Jun;45(2):121-34.
- (12) Noordeen SK. Long term effects of chemoprophylaxis among contacts of lepromatous cases: results of a 8 ½ years follow-up. *Lepr India* 1977;49:504-9.
- (13) Noordeen SK. Plenary session on the needs and opportunities for prevention of leprosy: discussion, conclusions and recommendations. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1980;67:72-80.
- (14) Harboe M. *Leprosy. Medicine in the Tropics*. Churhill Livingstone, USA.; 1985.

- (15) Ridley DS, Jopling WH. A classification of leprosy for research purposes. *Lepr Rev* 1962 Apr;33:119-28.
- (16) ILA. Summary of the Report of The International Leprosy Association Technical Forum. *Int J Lepr Other micobact Dis* 2002;70(1 Suppl).
- (17) Ridley DS, Jopling WH. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1966 Jul;34(3):255-73.
- (18) Ridley DS. Indeterminate leprosy. *Lepr Rev* 1974 Jun;45(2):95-7.
- (19) WHO Study Group. Chemotherapy of leprosy for control programmes. Geneva: World Health Organization; 1982. Report No.: 675.
- (20) WHO. Expert Committee on Leprosy, Sixth Report. Geneva: World Health Organization; 1988. Report No.: 768.
- (21) WHO. Expert Committee on Leprosy, Seventh Report. Geneva: World Health Organization; 1998. Report No.: 874.
- (22) WHO Study Group. Chemotherapy of Leprosy. Geneva: World Health Organization; 1994. Report No.: 847.
- (23) Ridley DS. Reactions in leprosy. *Lepr Rev* 1969 Apr;40(2):77-81.
- (24) Sampaio SP. Hanseníase. *Dermatologia*. Artes Médicas; 2002. p. 467-87.
- (25) Britton WJ, Lockwood DN. Leprosy. *Lancet* 2004 Apr 10;363(9416):1209-19.
- (26) Moschella SL. An update on the diagnosis and treatment of leprosy. *J Am Acad Dermatol* 2004 Sep;51(3):417-26.
- (27) Schlesinger LS, Horwitz MA. Phenolic glycolipid-1 of *Mycobacterium leprae* binds complement component C3 in serum and mediates phagocytosis by human monocytes. *J Exp Med* 1991 Nov 1;174(5):1031-8.
- (28) Chanteau S, Cartel JL, Roux J, Plichart R, Bach MA. Comparison of synthetic antigens for detecting antibodies to phenolic glycolipid I in patients with leprosy and their household contacts. *J Infect Dis* 1988 Apr;157(4):770-6.
- (29) Cho SN, Kim SH, Cellona RV, Chan GP, Fajardo TT, Walsh GP, et al. Prevalence of IgM antibodies to phenolic glycolipid I among household contacts and controls in Korea and the Philippines. *Lepr Rev* 1992 Mar;63(1):12-20.
- (30) Fine PE, Ponnighaus 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.

- (31) Brennan PJ, Barrow WW. Evidence for species-specific lipid antigens in *Mycobacterium leprae*. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1980 Dec;48(4):382-7.
- (32) Brett SJ, Draper P, Payne SN, Rees RJ. Serological activity of a characteristic phenolic glycolipid from *Mycobacterium leprae* in sera from patients with leprosy and tuberculosis. *Clin Exp Immunol* 1983 May;52(2):271-9.
- (33) Fujiwara T, Aspinall GO, Hunter SW, Brennan PJ. Chemical synthesis of the trisaccharide unit of the species-specific phenolic glycolipid from *Mycobacterium leprae*. *Carbohydr Res* 1987 Jun 1;163(1):41-52.
- (34) Brett SJ, Payne SN, Gigg J, Burgess P, Gigg R. Use of synthetic glycoconjugates containing the *Mycobacterium leprae* specific and immunodominant epitope of phenolic glycolipid I in the serology of leprosy. *Clin Exp Immunol* 1986 Jun;64(3):476-83.
- (35) Buhner SS, Smits HL, Gussenhoven GC, van Ingen CW, Klatser PR. A simple dipstick assay for the detection of antibodies to phenolic glycolipid-I of *Mycobacterium leprae*. *Am J Trop Med Hyg* 1998 Feb;58(2):133-6.
- (36) Buhner-Sekula 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 high risk of developing leprosy. *J Clin Microbiol* 2003 May;41(5):1991-5.
- (37) Douglas JT, Hirsch DS, Fajardo TT. Evaluation of *Mycobacterium leprae* antigens in the serological monitoring of a clofazimine-based chemotherapy study of dapson resistant lepromatous leprosy patients in Cebu, Philippines. *Lepr Rev* 1989;60:8-19.
- (38) Schuring RP, Moet FJ, Pahan D, Richardus JH, Oskam L. Association between anti-pGL-I IgM and clinical and demographic parameters in leprosy. *Lepr Rev* 2006 Dec;77(4):343-55.
- (39) Klatser PR, de Wit MY, Fajardo TT, Cellona RV, Abalos RM, de la Cruz EC, et al. Evaluation of *Mycobacterium leprae* antigens in the monitoring of a dapson-based chemotherapy of previously untreated lepromatous patients in Cebu, Philippines. *Lepr Rev* 1989 Sep;60(3):178-86.
- (40) Roche PW, Britton WJ, Failbus SS, Williams D, Pradhan HM, Theuvenet WJ. Operational value of serological measurements in multibacillary leprosy patients: clinical and bacteriological correlates of antibody responses. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1990 Sep;58(3):480-90.
- (41) Sengupta U. Experience and lessons from the use of lepromin and *Mycobacterium leprae*-specific serology. *Lepr Rev* 2000 Dec;71 Suppl:S63-S66.

- (42) Bakker MI, Hatta M, Kwenang A, Faber WR, van Beers SM, Klatser PR, et al. Population survey to determine risk factors for *Mycobacterium leprae* transmission and infection. *Int J Epidemiol* 2004 Dec;33(6):1329-36.
- (43) Gonzalez-Abreu E, Pon JA, Hernandez P, Rodriguez J, Mendoza E, Hernandez M, et al. Serological reactivity to a synthetic analog of phenolic glycolipid I and early detection of leprosy in an area of low endemicity. *Lepr Rev* 1996 Mar;67(1):4-12.
- (44) Sinha S, Kannan S, Nagaraju B, Sengupta U, Gupte MD. Utility of serodiagnostic tests for leprosy: a study in an endemic population in South India. *Lepr Rev* 2004 Sep;75(3):266-73.
- (45) Chanteau S, Glaziou P, Plichart C, Luquiaud P, Plichart R, Faucher JF, et al. Low predictive value of PGL-I serology for the early diagnosis of leprosy in family contacts: results of a 10-year prospective field study in French Polynesia. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1993 Dec;61(4):533-41.
- (46) Douglas JT, Cellona RV, Fajardo TT, Jr., Abalos RM, Balagon MV, Klatser PR. Prospective study of serological conversion as a risk factor for development of leprosy among household contacts. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004 Sep;11(5):897-900.
- (47) Ulrich M, Smith PG, Sampson C, Zuniga M, Centeno M, Garcia V, et al. IgM antibodies to native phenolic glycolipid-I in contacts of leprosy patients in Venezuela: epidemiological observations and a prospective study of the risk of leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1991 Sep;59(3):405-15.
- (48) van Beers SM, Izumi S, Madjid B, Maeda Y, Day R, 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.
- (49) van Beers S, Hatta M, Klatser PR. Seroprevalence rates of antibodies to phenolic glycolipid-I among school children as an indicator of leprosy endemicity. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1999 Sep;67(3):243-9.
- (50) Chanteau S, Cartel JL, Celerier P, Plichart R, Desforges S, Roux J. PGL-I antigen and antibody detection in leprosy patients: evolution under chemotherapy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1989 Dec;57(4):735-43.
- (51) Menzel S, Harboe M, Bergsvik H, Brennan PJ. Antibodies to a synthetic analog of phenolic glycolipid-I of *Mycobacterium leprae* in healthy household contacts of patients with leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1987 Dec;55(4):617-25.
- (52) Baumgart KW, Britton WJ, Mullins RJ, Basten A, Barnetson RS. Subclinical infection with *Mycobacterium leprae*--a problem for leprosy control strategies. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993 Jul;87(4):412-5.

- (53) Bagshawe AF, Garsia RJ, Baumgart K, Astbury L. IgM serum antibodies to phenolic glycolipid-I and clinical leprosy: two years' observation in a community with hyperendemic leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1990 Mar;58(1):25-30.
- (54) Ponnighaus JM, Fine PE, Sterne JA, Malema SS, Bliss L, Wilson RJ. Extended schooling and good housing conditions are associated with reduced risk of leprosy in rural Malawi. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1994 Sep;62(3):345-52.
- (55) Vijayakumaran P, Jesudasan K, Mozhi NM, Samuel JD. Does MDT arrest transmission of leprosy to household contacts? *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1998 Jun;66(2):125-30.
- (56) Matos HJ, Alvim MFS, Struchiner CJ, Duppre NC, Sarno EN. Epidemiologia da hanseníase em coortes de contatos intradomiciliares no Rio de Janeiro. *Cad Saúde Pública* 1999;(15).
- (57) Moet FJ, Pahan D, Schuring RP, Oskam L, Richardus JH. Physical distance, genetic relationship, age, and leprosy classification are independent risk factors for leprosy in contacts of patients with leprosy. *J Infect Dis* 2006 Feb 1;193(3):346-53.
- (58) Durães SMB, Guedes LS, Cunha MD, Cavaliere FAM, Oliveira MLWDR. Estudo de 20 focos familiares de hanseníase no município de Duque de Caxias, Rio de Janeiro. *An Bras Dermatol* 80[Supl 3], S295-300. 2005.
Ref Type: Journal (Full)
- (59) SINAN. Coeficiente de Prevalência de Hanseníase por 10⁴ hab. Regiões e Unidades Federadas. Brasil, 1990 a 2007. *Sinan/SVS/MS 2007* [cited 2008 Jan 23];
- (60) OPAS. Taller sobre Quimioterapia de la Lepra em las Américas. Organización Panamericana de la Salud; 1988.
- (61) Ministério da Saúde. Manual de Normas e Procedimentos para implantação de esquemas Multidrogas OMS. Secretaria Nacional de Programas Especiais de Saúde/Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária; 1986.
- (62) Ministério da Saúde. Relatório do Grupo Técnico: Instruções Normativas, Regulamentação Referente a Portaria Ministerial n. 862/GM de 07/08/92. (mimeo). Fundação Nacional de Saúde/Centro Nacional de Epidemiologia/Coordenação Nacional de Dermatologia Sanitária; 1992.
- (63) WHO. Resolution WHA 44.9. 1991.
- (64) WHO. Leprosy. Fact Sheet 1999N101 Available from: URL: [h](#)

- (65) Sansarricq H. Leprosy elimination – Urgent Action Required. *International Journal of Leprosy* 1998;67(1):60-3.
- (66) WHO. Global Strategy for further reducing the leprosy burden and sustaining leprosy control activities (Plan period : 2006-2010). 2005.
- (67) Brasil. Portaria GM nº. 31 de 8 de julho de 2005. Estabelece indicador epidemiológico para avaliação da prevalência da hanseníase. *Diário Oficial da União*; 2005.
- (68) Tribunal de Contas da União. Avaliação Do Programa Nacional De Eliminação Da Hanseníase. 2005. 2-4-2008.
Ref Type: Internet Communication
- (69) WHO. Global leprosy situation 2006. *Weekly epidemiological record* 2006;81(32):309-16.
- (70) Ministério da Saúde. Número de pacientes com Hanseníase em tratamento até 31/12 de cada ano, Regiões e Unidades Federadas. Brasil, 1990 a 2007. 2007. 20-4-2008.
Ref Type: Internet Communication
- (71) Jesudasan K, Bradley D, Smith PG, Christian M. Incidence rates of leprosy among household contacts of "primary cases". *Indian J Lepr* 1984 Jul;56(3):600-14.
- (72) Rao PS, Karat AB, Kaliaperumal VG, Karat S. Transmission of leprosy within households. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1975 Jan;43(1):45-54.
- (73) WHO. The final push towards elimination of leprosy. Strategic Plan, 2000-2005. WHO/CDS/CPE/CEE/2000.1.; 2000.
- (74) WHO. A Estratégia do Esforço Final para a Eliminação da Hanseníase como Problema de Saúde Pública: Perguntas e Respostas. 2003.
- (75) Ignotti E, Bayona M, varez-Garriga C, Andrade VL, Valente JG. Transmission of Hansen's disease and unscreened household contacts. *Indian J Lepr* 2007 Jan;79(1):11-25.
- (76) Andrade V. Implementação da PQT/OMS no Brasil. *Hansen Int* 2007;31(1).
- (77) WHO. New case detection trends in leprosy. 2006.
- (78) Ministério da Saúde. DATASUS HansWin-Módulo de Acompanhamento da Hanseníase. 2007.
- (79) Abel L, Cua VV, Oberti J, Lap VD, Due LK, Grosset J, et al. Leprosy and BCG in southern Vietnam. *Lancet* 1990 Jun 23;335(8704):1536.

- (80) Zodpey SP, Ambadekar NN, Thakur A. Effectiveness of Bacillus Calmette Guerin (BCG) vaccination in the prevention of leprosy: a population-based case-control study in Yavatmal District, India. *Public Health* 2005 Mar;119(3):209-16.
- (81) Fine PE, Carneiro AM, Milstein JB, Clements JC. Issues relating to the use of BCG in immunization programmes. A discussion document. 1999.
Ref Type: Internet Communication
- (82) Bertolli J, Pangi C, Frerichs R, Halloran ME. A case-control study of the effectiveness of BCG vaccine for preventing leprosy in Yangon, Myanmar. *Int J Epidemiol* 1997 Aug;26(4):888-96.
- (83) Convit J, Smith PG, Zuniga M, Sampson C, Ulrich M, Plata JA, et al. BCG vaccination protects against leprosy in Venezuela: a case-control study. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1993 Jun;61(2):185-91.
- (84) Ministério da Saúde. Segundo informe técnico sobre vacinação/revacinação BCG. Brasil: Fundação Nacional de Saúde, Centro Nacional de Epidemiologia, Coordenação Nacional de Pneumologia Sanitária.; 1994.
- (85) Ministério da Saúde. Nota técnica nº 66/CGPNI/DEVEP/SVS/MS. Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasil: Departamento de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Geral do Programa Nacional de Imunizações; 2006.
- (86) Cunha SS, Rodrigues LC, Pedrosa V, Dourado IM, Barreto ML, Pereira SM. Neonatal BCG protection against leprosy: a study in Manaus, Brazilian Amazon. *Lepr Rev* 2004 Dec;75(4):357-66.
- (87) Rodrigues ML, Silva SA, Neto JC, de Andrade AL, Martelli CM, 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.
- (88) Lombardi C, Pedrazzani ES, Pedrazzani JC, Ferreira FP, Zicker F. [The protective efficacy of BCG against leprosy in Sao Paulo, Brazil]. *Bol Oficina Sanit Panam* 1995 Nov;119(5):415-21.
- (89) Convit J, Sampson C, Zuniga M, Smith PG, Plata J, Silva J, et al. Immunoprophylactic trial with combined Mycobacterium leprae/BCG vaccine against leprosy: preliminary results. *Lancet* 1992 Feb 22;339(8791):446-50.
- (90) Stata Statistical Software [computer program]. Version Release 9. College Station, TX: StataCorpLP; 2005.
- (91) Gupte MD, Vallishayee RS, Anantharaman DS, Nagaraju B, Sreevatsa, Balasubramanyam S, et al. Comparative leprosy vaccine trial in south India. *Indian J Lepr* 1998 Oct;70(4):369-88.

- (92) Lwin K, Sundaresan T, Gyi MM, Bechelli LM, Tamondong C, Garbajosa PG, et al. BCG vaccination of children against leprosy: fourteen-year findings of the trial in Burma. *Bull World Health Organ* 1985;63(6):1069-78.
- (93) SINAN. Casos novos de Hanseníase em menores de 15 anos e Coeficiente de Detecção , Região e Unidade Federada, Brasil, 1994 a 2007. Sinan/SVS/MS . 2007. 20-4-2008.
Ref Type: Internet Communication
- (94) Visschedijk J, Broek J, Eggens H, Lever P, Beers S, Klatser P. Mycobacterium leprae - millennium resistant! Leprosy control on the threshold of a new era. *Trop Med Int Health* 2000 Jun;5(6):388-99.
- (95) van Beers SM, de Wit MY, Klatser PR. The epidemiology of Mycobacterium leprae: recent insight. *FEMS Microbiol Lett* 1996 Mar 1;136(3):221-30.
- (96) Oskam L, Slim E, Buhner-Sekula S. Serology: recent developments, strengths, limitations and prospects: a state of the art overview. *Lepr Rev* 2003 Sep;74(3):196-205.
- (97) Shah DH, Vartak RR, Naik SS, Dandekar SR, Ganapati R. Epidemiological studies in children of a low-endemic region, a high- endemic region, and dwellers of a leprosy colony: evaluation of anti-ND- BSA antibodies and lepromin response. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1994 Dec;62(4):539-46.
- (98) Groenen G, Pattyn SR, Ghys P, Tshilumba K, Kuykens L, Colston MJ. A longitudinal study of the incidence of leprosy in a hyperendemic area in Zaire, with special reference to PGL-antibody results. The Yalisombo Study Group. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1990 Dec;58(4):641-50.
- (99) Cunaman Jr A., Chan GP, Douglas JT. Risk of developing leprosy among Culion contacts. 15 th International Leprosy Congress, International Journal of Leprosy 61[4], 78A. 1998.
Ref Type: Abstract
- (100) WHO. *International Classification of Impairments, Disabilities, and Handicaps*. 1980.
- (101) Cellona RV, Walsh GP, Fajardo TT, Jr., Abalos RM, la 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 Other Mycobact Dis* 1993 Jun;61(2):192-8.
- (102) 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 Jul;89(4):381-5.

- (103) Calado K, Vieira AG, Durães S, Bühner-Sékula S, Oliveira MLW. Seropositivity with anti-PGL- I of household and close neighbours contacts of leprosy patients in an urban area. *Anais Brasileiro de Dermatology* 2005;80(3):S301-S306.
- (104) Krishnamurthy P, Rao PS, Reddy BN, Subramanian M, Dhandayudapani S, Bhatia V, et al. Seroepidemiological study of leprosy in a highly endemic population of south India based on an ELISA using synthetic PGL-I. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1991 Sep;59(3):426-31.
- (105) Maddison 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.
- (106) 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 Dec;75(4):310-26.
- (107) Düppre NC, Camacho LAB, Cunha SS, Struchiner CJ, Sales AM, Nery JAC, et al. Effectiveness of BCG Vaccination among Leprosy Contacts: A Cohort Study. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. In press 2008.
- (108) Ministério da Saúde. Situação Epidemiológica Da Hanseníase No Brasil, 2001 – 2006. *Public Health* 2007 [cited 2008 Jan 23];
- (109) Ministério da Saúde. Indicadores de Monitoramento do Comportamento da Hanseníase no Brasil (Nota Técnica Agosto de 2007). 2008.
- (110) Sehgal V.N., Chaudhry A.K. Leprosy in children: A prospective study. *Int J Dermatology* 1993;32(3):194-7.
- (111) Magalhães M.C.C., Rojas L.I. Diferenciação territorial da hanseníase no Brasil. *Epidemiol Serv Saúde* 2007;16(2).
- (112) WHO. A guide to leprosy control, 2nd Edition . Geneva: World Health Organization; 1988.
- (113) Lechat MF. Control programs in leprosy. *Leprosy*. Churchill Livingstone; 1985. p. 167-92.
- (114) Ferreira J, Mengue S.S., Wagner M.B., Duncan B.B. Estimating hidden prevalence in Hansen's disease through diagnosis delay and grade of disability at time of diagnosis. *Int J Lepr Other micobact Dis* 2000;68(4):464-73.
- (115) de Matos HJ, Duppre N, Alvim MF, MachadoVieira LM, Sarno EN, Struchiner CJ. [Leprosy epidemiology in a cohort of household contacts in Rio de Janeiro (1987-1991)]. *Cad Saude Publica* 1999 Jul;15(3):533-42.

- (116) Silva A.R., Portela E.G.F., Matos W.B., Silva C.C.B., Gonçalves E.G.R. Hanseníase no município de Buriticupu, Estado do Maranhão: busca ativa na população estudantil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2007;40(6):657-60.
- (117) Ferreira I.N., Evangelista M.S.N., Alvarez R.R.A. Distribuição espacial da hanseníase na população escolar em Paracatu - Minas Gerais, realizada por meio da busca ativa. *Rev Bras Epidemiol* 2007;10(4):555-67.
- (118) Andrade V, Moreira TMA, Tardin RT, Castro AJW, Souza ACM. Campanha de eliminação da hanseníase combinada com a vacina antipoliomielite. *An Bras Dermatol* 1998;73(2):159-65.
- (119) Cavaliere FAM. Estratégias para o exame de contatos de hanseníase: avaliação de desempenho em área urbana endêmica do Rio Janeiro 2005.
- (120) Camello R.S. Detecção de casos novos de hanseníase através do exame de contatos no Estado do Rio Grande do Sul. *Hansen Int* 2006;31(3):15-9.
- (121) Feliciano K.V.O., Kovacs M.H., Alzate A. Diagnóstico precoce da hanseníase: o caso dos serviços de saúde no Recife (Pernambuco), Brasil. *Rev Panam Salud Publica* 1998;4(1):6-13.
- (122) Bechelli LM, Dominguez V.M., Patwary K.M. WHO Epidemiologic random sample surveys of leprosy in Northern Nigeria (Katsina), Cameroon and Thailand (Khon Kaen). *Int J Lepr Other micobact Dis* 1966;34:223-43.
- (123) Talhari S. *Dermatologia Tropical: Hanseníase*. 3 ed. 1997.
- (124) Trao V.T. Dynamics of immune responses in leprosy patients during treatment. Netherlands: 1997.
- (125) Muliylil J., Nelson KE, Diamond EL. Effect of BCG on the risk of leprosy in an endemic area: a case-control study. *International Journal of Leprosy* 1991;59:229-36.
- (126) Beiguelman B. An appraisal of genetic studies in leprosy. *Acta Gent Med Gemellol* 1972;17:21-52.
- (127) Moraes M, Cardoso C, Vanderborcht P, Pacheco A. Genetics of host response in leprosy. *Lepr Rev* 2006;77:189-202.

7. Considerações Finais:

O processo de eliminação da hanseníase tem sido marcado por importantes mudanças sobre o número de casos detectados de doentes em tratamento, e principalmente sobre o número de casos curados a cada ano. Desde a instituição da poliquimioterapia (PQT) em todo o mundo, verifica-se tendência oposta entre o número de casos curados e de casos em tratamento, mostrando o impacto deste protocolo terapêutico. Sabe-se que o princípio máximo da PQT é eliminar as condições que favorecem a transmissão e que a detecção precoce tem fundamental relevância nesse processo. Parece inquestionável que o maior risco de adoecimento se encontre entre os indivíduos que têm mais contato com os doentes, especialmente no espaço intradomiciliar. No entanto, vários estudos apontam que esta prática não é realizada em muitos estados brasileiros.

Os resultados deste estudo indicam que, embora não se tenha ainda uma vacina específica para ser usada contra a hanseníase, a recomendação do Ministério da Saúde de se utilizar a vacina BCG como medida profilática no grupo de contatos dos pacientes, deve ser mantida visto que, a mesma, demonstrou ser um fator importante na cadeia epidemiológica da doença, interferindo no mecanismo de transmissão e desempenhando papel fundamental na redução da endemia. Esta é, no entanto uma questão recorrente que ainda suscita polêmica. De um lado as evidências científicas conflitantes e de outro a necessidade de utilizar todo o arsenal disponível para reforçar programas de controle.

Nesse sentido, o uso da sorologia anti PGL-I mostrou ser um bom instrumento para determinar uma população com maior risco de adoecer entre os contatos. A presença de soropositividade em crianças demonstrou ser mais específica do que entre adultos. Embora muitos estudos indiquem uma significativa associação entre soropositividade e o desenvolvimento das formas multibacilares da hanseníase, em nosso estudo ficou demonstrado, que em contatos soropositivos a utilização da vacina BCG provavelmente induziu a modificação na imunidade e o resultado foi a maior presença das formas paucibacilares da hanseníase, principalmente as formas tuberculóides. A contribuição da

sorologia anti-PGL-I como acessório para o controle de contatos ainda está por ser plenamente utilizada.

Apesar da recomendação atual de examinar todos os contatos intradomiciliares dos casos novos de hanseníase, muitas unidades de saúde do país deixam de executar esta atividade relatando dificuldades, tanto por parte do serviço, como aquelas relacionadas à própria resistência do contato em comparecer ao serviço. Nosso estudo indica que o comprometimento dos profissionais com o exame de contato, as ações de educação em saúde realizadas sistematicamente durante as visitas de diagnóstico e acompanhamento dos pacientes, também, nos exames dos contatos foram a base de sustentação para o recrutamento. A observação de que entre os contatos dos pacientes de hanseníase, as crianças apresentam um maior risco de adoecer do que os adultos, principalmente quando além do caso índice, outros casos da doença existem no ambiente familiar. A presença de incapacidades físicas instaladas nos casos de hanseníase diagnosticados entre os contatos foi mais frequente entre aqueles que comparecem mais tardiamente para serem examinados.

Dessa forma, a vacinação BCG e o teste sorológico PGL-I podem contribuir para melhorar o controle da hanseníase na medida em que permitem aos serviços de saúde ampliar o elenco de ações que são oferecidas aos contatos. No caso do PGL-I, parece haver possibilidades a explorar no manejo clínico e nas ações de saúde pública. O desafio parece ser o uso racional destes recursos sem deslocar a ênfase na detecção e tratamento precoces, cuja efetividade tem sido demonstrada.

9. Anexos

Anexo 1 Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

Anexo 2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

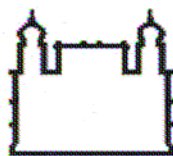
Anexo 3 Ficha de Investigação Epidemiológica

Anexo 4 Protocolo ML Flow

Anexo 5 Protocolo ML Dipstick

Anexo 6 Protocolo simplificado ML Dipstick

Anexo I:



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz
Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca
Comitê de Ética em Pesquisa



Rio de Janeiro, 21 de novembro de 2006.

Parecer Nº 113 /06
CAAE: 0109.0.031.000-06

Título do Projeto: "Identificação e caracterização dos grupos com maior risco de desenvolver hanseníase, entre os comunicantes dos pacientes Multibacilares e Paucibacilares, através da positividade ao teste Anti-PGL-I"

Classificação no Fluxograma: Grupo III

Pesquisadora Responsável: Nádia Cristina Düppre

Orientadores: Luiz Antônio Bastos Camacho e Samira Buhner-Sékula

Instituição onde se realizará: Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca - ENSP/FIOCRUZ e Departamento de Micobacterioses /Laboratório de Hanseníase/IOC/Fiocruz

Tipo do projeto: Projeto de Tese de Doutorado - ENSP

Data de qualificação: 24 / 05 / 2006

Data de recebimento no CEP-ENSP: 20 / 08 / 2006

Data de apreciação: 04 / 10 / 2006

O projeto "Identificação e caracterização dos grupos com maior risco de desenvolver hanseníase, entre os comunicantes dos pacientes Multibacilares e Paucibacilares, através da positividade ao teste Anti-PGL-I", da pesquisadora Nádia Cristina Düppre foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola Nacional de Saúde Pública e considerado aprovado.

Parecer do CEP: Aprovado.


Inês Nascimento de Carvalho Reis
Membro Titular Adjunta
Comitê de Ética em Pesquisa



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
FIOCRUZ

Anexo 2:

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO NO PROJETO

“Identificação e caracterização dos grupos com maior risco de desenvolver hanseníase, entre os comunicantes dos pacientes, através da positividade ao teste anti PGL-I”

A hanseníase é uma doença infecciosa causada pelo *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*), que é uma bactéria que se multiplica lentamente no organismo. Muitos dos indivíduos infectados, em torno de 90% mesmo tendo contato com paciente de hanseníase não adoecem. Outros, em menor proporções em torno de 10%, poderão adoecer, desenvolvendo algumas das formas clínicas da hanseníase, dependendo da imunidade celular de seu organismo.

No mundo, o Brasil ocupa o 2º lugar no mundo em número de pacientes. Para a interrupção da transmissão da hanseníase o diagnóstico precoce é fundamental. Por isso, os principais desafios no campo do controle da hanseníase são: desenvolver um teste de diagnóstico eficiente para ajudar os sistemas de saúde pública a superarem os problemas de diagnóstico relacionados às várias formas de hanseníase e suas complicações. Assim, existe uma necessidade urgente de um teste de diagnóstico simples para a hanseníase.

Uma variedade de testes para a detecção de anticorpos anti *M. leprae* tem sido utilizada desde a década de 70. O anticorpo anti PGL-I, que foi um dos primeiros antígenos específicos do *M. leprae* a ser isolado e caracterizado como o maior glicolípido antigênico na bactéria foi o glicolípido fenólico I (PGL-I).

A maior parte das micobactérias possuem glicolípídios específicos e altamente antigênicos que podem ser utilizados como instrumentos para o diagnóstico sorológico de infecções micobacterianas distintas. Quando as micobactérias entram no corpo humano, a parede celular é a primeira a ser detectada pelo sistema imunológico. Em um número de outras

doenças, testes simples são baseados na sorologia, isto é, na detecção de anticorpos específicos nos fluidos corpóreos de possíveis pacientes. No caso da hanseníase este anticorpo é denominado anti PGL-I.

Atualmente está sendo empregada uma técnica mais simples para este fim que é o teste *ML Flow*, o qual detecta a presença de anticorpos. Esses anticorpos são produzidos pelo sistema de defesa do ser humano. Os anticorpos detectados pelo teste são produzidos pelo corpo numa tentativa de nos proteger do micróbio da hanseníase.

A positividade ao anti PGL-I na população em geral é mais elevada principalmente em mulheres e em grupos mais jovens, com idade em torno de 10 a 20 anos. Isso não significa que a hanseníase se manifesta preferencialmente em mulheres e crianças. Provavelmente esses altos níveis de anticorpos podem apenas estar relacionados a uma característica comum do sistema imunológico de cada indivíduo.

Estudos observaram uma maior proporção de positivos entre contatos quando comparados a não contatos. O risco de desenvolver a hanseníase foi demonstrado ser em torno de 30 vezes maior nos contatos de pacientes com as formas contagiosas da doença.

Portanto, você está convidado a participar como voluntário deste projeto que envolve todos os comunicantes dos pacientes de hanseníase, tendo o direito de estar ciente dos procedimentos que serão realizados. Após a avaliação dermatoneurológica e a administração da vacina BCG, deverá ser coletado sangue que será processado para realização do teste. Para tanto, aqueles com idade igual ou maior de 18 anos quando concordarem, ou os menores de 18 anos, havendo o consentimento do responsável.

Procedimento e métodos usados : Em crianças o sangue deverá ser coletado da ponta do dedo indicador esquerdo. A seguir será utilizado um tubo capilar para coletar o sangue. Esse sangue será imediatamente utilizado para fazer o teste *ML Flow*. Em adultos o sangue será coletado da veia. Uma pessoa bem treinada neste procedimento fará a punção da veia do seu antebraço no Ambulatório Souza Araújo, levando no máximo de 5 a 10 minutos.

Os resultados deste teste serão fornecidos imediatamente após a sua realização. Caso seja negativo você será liberado e sendo positivo será agendado para exame médico e repetir este teste anualmente por um período de 4 anos consecutivos.

Desconfortos e riscos: Os possíveis desconfortos e riscos, se ocorrerem, serão aqueles relacionados com a retirada de sangue, como dor local e/ou hematoma (rouxidão) no local. A quantidade de sangue retirada será aproximadamente de 10 ml. Esta quantidade é um limite bem saudável estipulado pelo NIH (Clinical Center Guidelines).

Você poderá conversar com as pessoas responsáveis pelo estudo e tirar suas dúvidas.

Confiabilidade: As pessoas que vão puncionar a sua veia e os pesquisadores que estão coordenando este estudo irão tratar sua identidade com padrões profissionais de confiabilidade. Na amostra de sangue ou soro estocado não constará o seu nome, estes são identificados por um número fornecido pelo laboratório, no momento do registro do material coletado do comunicante. Apenas os pesquisadores serão capazes de identificar você como doador desta amostra. Entretanto, a Comissão de Ética Nacional (CONETPI) e o NIH têm o direito de inspecionar os arquivos relacionados a este estudo com o propósito de verificar dados. As informações obtidas neste estudo provavelmente serão publicadas em jornais científicos, mas sua identidade não será revelada.

Responsabilidade: A comissão de Ética Nacional (CONEP) responsabilizará a Fundação Oswaldo Cruz por qualquer transtorno que aconteça durante o estudo.

A Assistente Social responsável colocou-me a par destas informações, estando à disposição para responder minhas perguntas sempre que eu tiver dúvidas. Também tenho a liberdade para contactar os demais pesquisadores envolvidos neste estudo: Dr. José Augusto da Costa Nery; Dra Anna Maria Sales; Enf. Nádia Cristina Duppre, A.S. Rita Maria de Oliveira Pereira através do telefone **(21) 2598.4286**.

Participação: Minha participação neste estudo é inteiramente voluntária e sou livre para recusar em participar ou me retirar em qualquer fase da pesquisa.

Ao assinar este documento significa que você leu as informações deste termo de consentimento, datou e recebeu uma cópia do mesmo que contém duas páginas.

Nome do Caso Índice _____

Nome do Comunicante _____ Data ____/____/____

Prof. Responsável pela Orientação _____ Data ___ / ___ / ___

1 ASSINATURA DO RESPONSÁVEL

Como responsável você autoriza _____ (escreva o nome) se tornar um participante do estudo descrito. A natureza e a proposta geral do projeto foi satisfatoriamente explicado para você pelo _____

Ass. dos Pais ou responsáveis _____

Anexo 3:

LABORATÓRIO DE HANSENÍASE – IOC - FIOCRUZ

FICHA DE INVESTIGAÇÃO CLÍNICA-EPIDEMIOLÓGICA-COMUNICANTE

1. CASO ÍNDICE: _____

Data: _____ Nº. de Registro _____

Forma Clínica: _____ Bacteriologia: Positiva
 Negativa

2. IDENTIFICAÇÃO:

Nome: _____

Nome do pai: _____

Nome da mãe: _____

Data de Nascimento: ____/____/____ Idade: _____

Cor: _____ Sexo: F M Estado Civil: _____

Nacionalidade: _____ Naturalidade: _____

Residência Atual: _____

Quanto Tempo: _____

Residência Anterior: _____

Quanto Tempo: _____

3. OCUPAÇÃO: _____

Situação Sócio Econômica:

- Aposentado Desempregado Empregado c/ carteira assinada
 Auxílio-doença Não trabalha Empregado s/carteira assinada
 Autônomo

4. RENDA FAMILIAR: (Salário Mínimo)

- Menor que 1 1 a 2 3 a 5 acima de 5

5. GRAU DE INSTRUÇÃO:

- Analfabeto Alfabetizado Formação Universitária
 1º. Grau 2º. Grau Completo Incompleto

6. PARENTES COM CONVIVÊNCIA:

Grau de Parentesco: _____

Tempo de Convivência: _____

Tipo de Convivência: _____

- Mesmo terreno Mesma casa Mesmo quarto
 Mesmo leito outro domicílio

7. USO DE OBJETO EM COMUM (especificar):

8. ANAMNESE DIRIGIDA:

8.1- D.P.L:

8.2- História Patológica Progressiva:

8.3- Estado de Saúde Atual:

8.4- História de Alergia:

8.5- Uso de Medicamentos (especificar):

8.6- Exame Dermatológico:

8.7- Avaliação Fisioterápica:

8.8- Cicatriz de BCG: Sim Não

8.9- Vacina BCG:

Data da Aplicação: ___/___/___

8.10- Sorologia Anti-PGL-I:

Data da Realização : ___/___/___

Resultado: _____

8.11- Laser Doppler:

Data da Realização: ___/___/___

Resultado: _____

9. OBSERVAÇÕES: _____

10. EVOLUÇÃO: _____

Anexo 4:

ML Flow

USO APENAS PARA PESQUISA

Um teste imunológico específico ao *Mycobacterium leprae* para uso em soro humano e amostras de sangue

1.1 Instruções para o uso

1. Uso proposto:

O Departamento de Pesquisa Biomédica do KIT (Koninklijk Instituut voor de Tropen - Instituto Real Tropical) em Amsterdã, com o apoio financeiro do NLR (Netherlands Leprosy Relief - Assistência Holandesa à Hanseníase), desenvolveu o ML Flow com a finalidade de uma detecção rápida dos anticorpos imunoglobulina M (IgM) específicos ao *M. leprae* no soro humano ou em amostras de sangue total.

2. Introdução:

A hanseníase é uma infecção causada pelo *Mycobacterium leprae*. O ML Flow é um teste simples para a detecção de anticorpos específicos ao *M. leprae* contra o componente de açúcar do glicolípido fenólico-I (PGL-I) no soro humano ou no sangue. A presença de anticorpos IgM contra PGL-I do *M. leprae* sugere a presença de uma infecção multibacilar e portanto pode ser usada para discriminar pacientes multibacilares dos paucibacilares. O teste é rápido e não requer nenhum equipamento especial. Os reagentes são altamente estáveis e podem ser armazenados em temperatura ambiente. Quando testado em um grupo de soro proveniente de pacientes hansenianos e de controles negativos de regiões endêmicas, foi demonstrado sensibilidade e especificidade semelhantes àquelas do ML Dipstick e às da ELISA (1), ambas as quais já vêm utilizadas na detecção de anticorpos IgM específicos ao *M. leprae*.

3. Princípio:

O ML Flow é um teste imunológico de um só passo utilizando o ouro coloidal. O antígeno específico do *M. leprae* é imobilizado formando uma linha discreta numa membrana porosa de nitrocelulose localizada na zona de teste. O reagente de detecção consiste de partículas móveis de ouro coloidal vermelho rotuladas com IgM anti-humano e vem inserido dentro do dispositivo. Uma amostra de sangue ou soro é colocada no receptáculo de amostras e é carregada com o fluido da amostra. O reagente de detecção se ligará aos anticorpos IgM na amostra, e juntos se moverão através da membrana porosa até a zona de teste. Se o anticorpo for específico à hanseníase, ele se ligará ao antígeno e uma linha vermelha aparecerá na zona de teste. Se a amostra não contiver nenhum anticorpo IgM específico ao *M. leprae*, a amostra e o reagente de detecção passarão sobre a zona de teste e nenhuma linha aparecerá. Com qualquer amostra, a linha de controle deverá aparecer na zona de controle. Esta banda de controle quando positiva, nos dará a segurança de que o conjugado ainda está ativo.

4. Kit de teste:

Cada kit contém 25 dispositivos para o teste de fluxo lateral embalados individualmente, juntamente com um frasco de solução tampão diluente, suficiente para a análise de 25 amostras de soro ou de sangue total.



Atenção: A solução tampão diluente contém azoteto de sódio. Não ingerir e evitar contato com a pele.

5. Utensílios não fornecidos:

Micropipetas, ponteiros descartáveis para pipetas e luvas.

6. Armazenamento:

Para que a conservação do material seja a melhor possível, o ML Flow deve ser armazenado a uma temperatura de +2°C a +25°C, em lugar seco e protegido da exposição direta ao sol. Dispositivos individuais de teste de fluxo lateral podem ser armazenados a uma temperatura de +2°C a +45°C por duas semanas.

7. Data de validade: (⊗)

O material expira na data indicada na caixa.

8. Precauções:

Amostras de sangue e soro devem ser manuseadas com cuidado, pois são potencialmente infectantes. O equipamento e os materiais para o manuseio dos espécimens devem ser tratados da mesma maneira, com cuidado. Amostras de soro que tenham sido inativadas por calor (56°C, 30 minutos) podem ser utilizadas, pois a exposição ao calor não afeta os resultados do teste. Os dispositivos do ML Flow usados, os materiais descartáveis e as amostras devem ser devidamente descontaminadas e descartadas.

9. Coleta das amostras:

O soro deve ser preparado seguindo a mesma rotina empregada para qualquer teste sorológico. Amostras de sangue e soro coletadas recentemente devem ser usadas. Amostras de soro armazenadas à -20°C podem também ser utilizadas.

10. Procedimento padrão do teste:

1. Remova o dispositivo de ML Flow do pacote e o coloque na mesa com a janela virada para cima.
2. Pingue 5 µl de soro ou sangue total heparinizado no suporte de papel do receptáculo redondo de amostras.
3. Adicione 130 µl de líquido de tamponamento ao receptáculo redondo de amostras.
4. Será possível visualizar uma cor movendo-se através das zonas de teste e controle. Isto demonstra que o teste está funcionando.
5. Leia os resultados após 5 minutos quando usar sangue total e após 10 minutos quando usar soro.
6. Os resultados mantêm-se estáveis por mais 15 minutos. Não execute leitura do teste após 20 minutos.

11. Interpretação dos resultados dos testes:

- Um resultado negativo é indicado pela ausência de uma linha na zona de teste e pela presença de uma linha na zona de controle.
- Um resultado positivo é indicado pela presença de duas linhas: uma linha definida na zona de teste e uma outra linha na zona de controle.

Uma intensidade de coloração, que indica um resultado do teste como forte positivo, em um paciente diagnosticado clinicamente como hanseniano, fornece evidências de uma doença multibacilar. Uma intensidade de coloração positiva e acentuada, de testes feitos em contatos próximos de pacientes hansenianos, sugere uma incubação de hanseníase multibacilar.

Ocasionalmente, uma linha tênue pode ser observada na linha de teste. Um sinal fraco pode corresponder a um nível de anticorpo de muito baixa especificidade. Nas áreas endêmicas em particular, a presença de um nível de anticorpos de baixa especificidade pode corresponder à presença de anticorpos, isto, devido a uma exposição anterior, e por conseguinte deve ser observada como um resultado negativo.

12. Limitações de uso:

O teste de ML Flow deve ser usado somente como um teste de confirmação, e não deve ser usado como critério único no diagnóstico da hanseníase.

13. Literatura adicional sugerida:

1. Bühner-Sékula S, Smits HL, Gussenhoven GC, van Leeuwen J, Amador S, Fujiwara T, Klatser PR, Oskam L, (2003). Simple and fast lateral flow test for classification of leprosy patients and identification of contacts with high risk of developing leprosy. *Journal of Clinical Microbiology*, 41: 1991-1995.
2. Bühner-Sékula S, Sarno EN, Oskam L, Koop S, Wichers I, Nery JAC, Vieira LM, de Matos HJ, Faber WR, Klatser PR, (2000). The use of ML Dipstick as a tool to classify leprosy patients. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases* 68: 456 – 463.
3. Bühner-Sékula S, Cunha MG, Foss NT, Oskam L, Faber WR, Klatser PR (2001). Dipstick assay to identify leprosy patients who have an increased risk of relapse. *Tropical Medicine and International Health* 6:317-323.
4. Oskam L, Slim E, Bühner-Sékula S, (2003). Serology: recent developments, strengths, limitations and prospects. A state of the art overview. *Leprosy Review*, in press.

ML Dipstick

Teste para detecção de IgM em soro humano através de *M.leprae* específico

APENAS PARA USO EM PESQUISA

Instruções de uso

1. Uso proposto

O ML Dipstick foi desenvolvido para sorologia em hanseníase em humanos. Ele foi idealizado para detecção de anticorpos IgM em amostras de soro humano contra o antígeno espécie-específico glicolipídio fenólico-I (PGL-I) do *M.leprae*.

2. Introdução

Hanseníase é uma infecção causada pelo *M.leprae*. O teste humano ML dipstick é um teste simples para detecção de anticorpos IgM específicos ao *M.leprae* em soro humano. O teste é rápido e não requer equipamento especial. Os reagentes são altamente estáveis e podem ser armazenados em temperatura ambiente. Quando testado em um grupo de soro de pacientes hansenianos e controles negativos de uma região endêmica, foi encontrada sensibilidade e especificidade semelhante às da ELISA para detecção específica de anticorpos IgM do *M.leprae*-específico(1).

3. Princípio

O dipstick contém duas bandas horizontais: uma com o antígeno constituída do epitópio imunodominante específico do *M.leprae* (2) o glicolipídio fenólico I (PGL-I)(banda superior) e uma de controle interno (banda inferior). O teste baseia-se em ligações de anticorpos IgM específicos ao antígeno *M.leprae*. Estes anticorpos da classe IgM são especificamente detectados com um corante conjugado anti-humano.

O teste é realizado diluindo soro a 1:50 em reagente detetor e incubando o dipstick nesta solução. Coloração da banda de antígeno revela a presença de anticorpos IgM específicos na amostra de soro

A banda de controle interno checa a integridade do reagente detetor.

4. Reagentes

- I. Fluido de reconstituição (**Frasco A**).
- II. Reagente detetor liofilizado (**Frasco B**).
- III. Fluido para o Dipstick (**Frasco B**).
- IV. Dipsticks contendo, em uma fita branco, banda de antígeno *M.leprae* (banda superior) e uma banda de controle interno(banda inferior).



Aviso: O fluido de reconstituição e o fluido para o Dipstick contém Azoteto de Sódio.
Não ingerir e evitar contato com a pele.

5. Utensílios (fornecidos)

- I. Tubos de teste.
- II. Suporte para os tubos de teste.

6. Utensílios (necessários)

- I. 4 µl micro pipeta
- II. 200 µl micro pipeta
- III. Ponteiros descartáveis para pipetas
- IV. 5 ml pipeta
- V. Luvas

7. Acondicionamento

Cada tubo contém 100 dipsticks e suficiente reagentes para analisar 100 soros.

8. Armazenamento

Dipsticks e reagentes devem ser guardados a +4°C até 37°C, em lugar seco e protegidos de exposição direta à luz solar. Armazenamento entre +4°C até 25°C é recomendado para o reagente detetor reconstituído. Quando armazenado a esta temperatura o reagente reconstituído retém toda sua capacidade reativa por um mês.

9. Data de vencimento

O material expira na data impressa na caixa.

10. Precauções

Amostras de sangue e soro devem ser manipuladas cuidadosamente por serem potencialmente infecciosas. Equipamento e suprimentos para manuseio de amostras devem ser tratados de acordo. Amostras de soro que tenham sido inativadas por calor (56°C, 30 min) podem ser utilizadas pois este tratamento não interfere nos resultados do teste. Materiais descartáveis e amostras devem ser descartadas de acordo.

11. Coleta das amostras

Soro deve ser coletado como para testes laboratoriais de rotina.

12. Procedimento padrão do teste

1. Abra os **Frascos A e B**. Adicione 5 ml do fluído de reconstituição (**Frasco A**) no reagente detetor liofilizado (**Frasco B**). Feche o **Frasco B** e misture com movimentos rotativos até dissolver completamente, aproximadamente 5 a 10 min.

NOTA

Talvez forme um leve precipitado no fundo do **Frasco B** com o armazenamento. Antes de usar, misture o conteúdo do frasco muito bem com movimentos rotativos até que todo o material tenha sido dissolvido.

2. Transferir 200 µl do reagente detetor reconstituído em um tubo de teste marcado.
3. Adicione 4 µl de soro no tubo de reação contendo o reagente detetor e misture.
4. Segure um dipstick pela parte mais fina e remova-o do tubo.

NOTAS

a. Não toque ou vergue a fita do teste, ou seja, a parte mais espessa com a nitrocelulose.

b. Contaminação da fita de nitrocelulose com vestígio de soro ou sangue pode produzir resultado falso positivo. Contaminação pode ocorrer no manuseio de líquidos contendo soro diluído e/ou ao abrir a ampulheta do soro.

5. Abra o **Frasco C**. Previamente umedeça a fita do teste emergindo o final branco do dipstick por alguns segundos no fluido do dipstick (**Frasco C**). Remova o excesso do líquido esfregando o dipstick contra o gargalo do **Frasco C** e transfira o dipstick pré-umidecido para o tubo de teste contendo a mistura do reagente detetor reconstituído e o soro.

NOTA

Colocando o dipstick seco na mistura do reagente detetor reconstituído e soro sem molhar previamente a fita branca do teste resultará em elevada coloração de fundo.

6. Incubar a fita pré-umidecida do dipstick na mistura do reagente detetor e soro em temperatura ambiente por 1 hora. Certifique-se de que a fita esteja completamente submersa.

NOTA

O procedimento acima foi desenhado e otimizado para ser realizado entre 18°C e 25°C. Resultados equivalentes foram obtidos quando o teste for realizado a 37°C e o período de incubação reduzido (item 6) para 30 minutos.

7. Feche o tubo contendo os dipsticks, feche **Frascos B e C** e armazene a +4°C a 25°C para uso futuro (inicie no item 2).
8. Remova o dipstick da mistura do reagente detetor e soro e lave-o brevemente em água de torneira corrente ou use uma garrafa de lavar.
9. Coloque o dipstick com a fita do teste para cima em toalha de papel e deixe secar ao ar.
10. Interprete o resultado quando a fita do teste estiver completamente seca para assegurar uma leitura ideal.

13. Interpretação dos resultados do teste

Coloração na banda do antígeno (banda superior) é consistente com a presença de anticorpos IgM para PGL-I do *M. leprae*.

A banda de controle interno (banda inferior) deverá colorir em todos os casos. Se o controle interno não colorir o teste fica invalidado e deverá ser repetido.

14. Limitações no uso

A detecção dos anticorpos para PGL-I do *M. leprae* podem fornecer auxílio no diagnóstico da hanseníase, especialmente na fase inicial, assim como para acompanhamento durante e depois do tratamento, para detectar precocemente casos de recaídas, especialmente para distingui-las de reações reversas(3). Todavia, precisa ser enfatizado que os resultados sorológicos precisam ser interpretados em combinação com outras informações de diagnóstico. Testes sorológicos em populações talvez tenham valor em monitoramento de mudanças na intensidade de infecção pelo *M. leprae* (4).

Ao interpretar os resultados deve-se ter em mente que hansenianos podem ser soronegativos (especialmente o lado tuberculóide do espectro da doença), enquanto que indivíduos saudáveis podem ser soropositivos (em particular contatos domiciliares de pacientes).

Embora os resultados do ML Dipstick concordaram com os obtidos com ELISA para detecção dos anticorpos IgM *M.leprae*-específicos, tampouco 100% sensibilidade ou 100% especificidade são aclamadas.

Referências

1. Bühner S, Smits HL, Gussenhoven GC, van Ingen CW & Klatser PR. (1998). A simple dipstick assay for the detection of antibodies to phenolic glycolipid - I of *Mycobacterium leprae*. Am. J. Trop. Med. Hyg. **58**: 133-136.
2. Brett SJ, Payne SN, Gigg J, Burgess P & Gigg R. (1986). Use of synthetic glycoconjugate containing the *Mycobacterium leprae* specific and immunodominant epitope of phenolic glycolipid I in the serology of leprosy. Clin. Exp. Immunol. **64**:476-453.
3. Klatser PR. (1994). Serology of leprosy. Trop. Geogr. Med. **46**:59-62.
4. Beers van SM, Hatta M & Klatser PR. (1999). Epidemiological mapping of leprosy through detection of antibodies to phenolic glycolipid-I among schoolchildren. Submitted for publication.
5. Gussenhoven G.C., Hoorn M.A.W.G.van der, Goris M.G.A., Terpstra W.J., Hartskeerl R.A., Mol B.W., Ingen C.W. van, and Smits H.L. (1997) LEPTO Dipstick, a dipstick assay for detection of *Leptospira*-Specific Immunoglobulin M antibodies in Human Sera. J.Clin.Microbiol. **35**:92-97.

Anexo 6:

ML Dipstick

Teste para detecção de IgM através de *M.leprae* PGL-I Ag

APENAS PARA USO EM PESQUISAS

Protocolo simplificado

Antes de usar o protocolo simplificado familiarize-se com o uso das pipetas, manuseio dos dipsticks e reagentes assim como com a interpretação dos resultados descrita nas instruções de uso.

1. Reconstitua o reagente detetor liofilizado (**Frasco B**) com 5 ml do fluido para reconstituição (**Frasco A**).
2. Transfira 0,20 ml do reagente detetor reconstituído para um tubo marcado.
3. Adicione 4µl de soro no reagente detetor reconstituído do tubo e misture.
4. Mergulhe brevemente o filamento branco de nitrocelulose da tira do dipstick no fluido para dipstick (**Frasco C**).
5. Incube o filamento branco de nitrocelulose na mistura de reagente detetor e soro (**tubo de teste**). Incubar o teste em temperatura ambiente por 1 hora.
Atenção: Certifique-se que o lote do teste em uso é para uma hora de incubação.
6. Feche muito bem o tubo que contém os dipsticks e os frascos com as soluções B e C e guarde entre +4°C e 25°C para uso futuro.
7. Remova o dipstick do reagente detetor e lave em água. Deixe secar.
8. Interprete os resultados.

