

ANÁLISE IMUNODIAGNÓSTICA DO TESTE ANTI-PGL-I NA DIFERENCIAÇÃO ENTRE HANSENÍASE CLÍNICA E REAÇÃO HANSÊNICA PÓS-CURA

Imunodiagnosis analysis of anti-PGL-I test in the differentiation between clinical hansen's disease and postcure leprosy reaction

Maria do Perpétuo Socorro Corrêa Amador¹, Maria Heliana Chaves Monteiro da Cunha², Carlos Alberto Vieira Da Cruz³

RESUMO

Neste artigo avalia-se o teste anti-PGL-I na diferenciação entre doentes com hanseníase clínica multibacilar (MB) e pacientes com reação hansênica após tratamento poliquimioterápico. A amostra constou de 160 indivíduos classificados em doentes MB (n=40), reacionais (n=40), contatos de doentes (n=40) e controles de área endêmica (n=40). O teste anti-PGL-I foi realizado por meio de Ensaio Imunoabsorvente Enzima-Associado (ELISA). Os resultados mostraram que o teste sorológico pode ser útil no diagnóstico diferencial, do ponto de vista imunológico, de doentes hansênicos e reacionais pós-cura; pôde-se observar também que o tempo entre a cura e o aparecimento de novas lesões sugestivas de reação hansênica é diretamente proporcional ao Índice Bacteriológico (IB), indicando que existe uma correlação entre os níveis de anticorpos anti-PGL-I e a carga bacteriana presente no paciente.

PALAVRAS-CHAVE

Hanseníase, imunologia, recidiva

ABSTRACT

This work evaluates the anti-PGL-I test in the differentiation among multibacillary leprosy clinical patients (MB) and patients with leprosy reaction after multidrug therapy. The sample consisted of 160 individuals classified in MB patients (n=40), leprosy reactions (n=40), contacts with leprosy cases (n=40) and controls of endemic area (n=40). The anti-PGL-I test was accomplished by means of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). The results showed that, from of the immunologic point of view, the serologic test is useful for the differential diagnosis between leprosy patients and patients with leprosy reaction after treatment. We could also observe that the time between cure and the appearance of new suggestive lesions of leprosy reaction are directly proportional to the Bacteriological Index (BI), indicating that a correlation exists between the levels of antibodies anti-PGL-I and the bacterial load in the patient.

KEY WORDS

Leprosy, immunology, relapse

¹ Mestre em Doenças Tropicais. Pesquisadora Titular responsável pelo Laboratório de hanseníase IEC/SVS/MS. End: Rodovia Br-316, Km 07 – Levilândia, Ananindeua – Pará. CEP: 67030-000 – E-mail: socorroamador@iec.pa.gov.br

² Mestre em Saúde Pública. UFPA.

³ Médico dermatologista, especialista em hanseníase. Centro de Referência em Dermatologia "Dr. Marcelo Cândia" - SESPA.

I. INTRODUÇÃO

A hanseníase é uma doença crônica que ocorre de forma endêmica, principalmente nas Américas do Sul e Central; no Brasil é endêmica principalmente na região Norte. No início de 2005, a prevalência global registrada foi de 286.063 casos (OMS, 2005).

Os episódios de resposta imunológica representam a fase aguda no curso crônico da hanseníase, são complicações que podem resultar em deformidades, na maioria das vezes, irreversíveis. A proporção de casos novos da doença com alterações funcionais dos nervos periféricos é, em muitas regiões, maior que 20% (Foss *et al.*, 2003). A detecção precoce dos episódios reacionais é importante na prevenção das incapacidades físicas.

Os episódios reacionais resultam do processo inflamatório como resposta imunológica, mediada por antígenos do *Mycobacterium leprae* que têm relação com a carga bacilar e a resposta imune do hospedeiro. Esta relação é responsável pela perda funcional de nervos periféricos com o agravante de levar a incapacidades físicas (Bührer, 1998; Foss *et al.*, 2003, OMS, 2005).

Os principais tipos de reações observadas estão classificadas como eritema nodoso hansênico (ENH), ou reação tipo II, e reação reversa (RR), ou reação tipo I. Estes períodos de fase aguda da doença podem levar à incapacidades permanentes e ocorrem antes, durante e após o tratamento poliquimioterápico (Bührer, 1998; Ananias, 1998; Foss *et al.*, 2003; OMS, 2005). Esses dois tipos de reações hansênicas refletem o processo inflamatório imune-mediado, envolvendo distintos mecanismos de hipersensibilidade.

O episódio da RR, classificada como tipo IV de Coombs & Gell, envolve mecanismos da imunidade mediada por células ou de hipersensibilidade tardia, os quais são mais freqüentes em pacientes hansênicos dimorfos (HD), dimorfos tuberculóides (HDT) e dimorfos virchowianos (HDV). A incidência da RR na forma HV é significativamente menor do que na forma HDV, e sua ocorrência pode ser observada na forma tuberculóide (HT) (Ananias, 1998; Bührer, 1998; Foss *et al.*, 2003).

As reações tipo II (ENH) resultam da deposição de imunocomplexos nos tecidos dos pacientes que, na evolução da doença, acumulam grande quantidade de antígenos, ocorrendo como conseqüência estímulo permanente à produção de anticorpos, criando-se um estado de hipersensibilidade humoral. A maior fração de antígenos se encontra no interior dos macrófagos e de células de Schwann, células endoteliais e células musculares lisas. A liberação destes antígenos para o interstício provoca a formação de complexos imunes, fixação do complemento e desencadeamento da reação tipo II (Bührer, 1998; Ananias, 1998; Martelli *et al.*, 2003; OMS, 2005).

Outro evento possível de acontecer, mesmo com o advento da poliquimioterapia, é o reaparecimento da doença após alta por cura, denominado recidiva (Foss *opud* Martelli *et al.*, 2003).

Diferenciar entre reação e recidiva não é tarefa das mais fáceis, principalmente quando a reação é do tipo 1 ou reversa, pois o médico pode confundir com hanseníase em atividade clínica. Para minimizar essa dificuldade a Organização Mundial de Saúde (OMS) estabeleceu critérios clínicos e laboratoriais, estes constituídos pela baciloscopia e histopatologia, os quais nem sempre podem ser realizados, principalmente na região Norte do Brasil, em virtude das dificuldades operacionais, o que pode levar a erro diagnóstico.

Desta forma, a utilização de marcadores imunolaboratoriais para diferenciar reação hanseníase de hanseníase clínica e/ou recidiva é importante e pode representar instrumento adicional para evitar a inclusão do paciente no registro dos serviços de saúde, elevando falsamente a prevalência, quando na realidade este paciente pode estar necessitando somente do tratamento específico para controle da reação, fato que nos motivou a realizar este estudo (Foss *et al.* 2003; OMS, 2005).

O objetivo principal deste estudo foi avaliar o potencial do teste anti-PGL-I para diferenciar pacientes com hanseníase clínica daqueles com reação hanseníase, após tratamento específico em áreas endêmicas.

2. METODOLOGIA

O estudo é do tipo transversal, realizado em uma Instituição de Pesquisa Avançada na Região Norte - Instituto Evandro Chagas-IEC/SVS/MS - seção de Bacteriologia e Micologia.

Os pacientes recém diagnosticados por especialistas do Centro de Referência em Dermatologia “Dr. Marcelo Cândia” da Secretaria Estadual de Saúde do Pará, foram encaminhados ao IEC com solicitação para realização da pesquisa de anticorpos IgM, contra PGL-I do *Mycobacterium leprae*, como complementação do diagnóstico clínico. Os pacientes foram registrados no banco de dados da seção de Bacteriologia e Micologia do IEC/SVS/MS e posteriormente selecionados.

Um total de 160 indivíduos foi selecionado para este estudo, dos quais 40 eram doentes multibacilares, com hanseníase em atividade clínica; 40 eram doentes que foram tratados e considerados curados, porém após a alta apresentaram lesões cutâneas sugestivas de episódios reacionais; 80 eram do grupo de não doentes, os quais foram divididos em contatos e controles.

- Doentes multibacilares: Fazem parte deste grupo 13 pacientes de forma virchowiana (MHV) e 27 de forma dimorfa (MHD), recém diagnosticados por sorologia (S). A idade variou de 13 a 78 anos com média de 37,45 anos.

- Doentes Multibacilares Reacionais: dependendo do tempo de alta por cura e da carga bacilar inicial, esses pacientes podem apresentar sorologia positiva ou negativa. Nossa amostra neste grupo constou de 23 pacientes MHV (21 com reação tipo II e 2 com reação tipo I) e 17 MHD. A idade variou de 7 a 71 anos com média de 39,4 anos.
- Contatos de doentes hansênicos: a amostra constou de 15 indivíduos do sexo masculino, sendo 6 positivos e 9 negativos à sorologia; 25 do sexo feminino, sendo 3 positivos e 22 negativos. A idade variou de 2 a 75 anos com média de 24,15 anos.
- Controles: 12 indivíduos do sexo masculino, 2 positivos e 10 negativos à sorologia e 28 do sexo feminino, 9 positivos e 19 negativos, fizeram parte de nosso grupo controle. A idade variou de 3 a 73 anos, com média de 30,23 anos. Para este grupo não foi realizada a baciloscopia por questões éticas.

A distribuição por sexo e positividade dos pacientes da amostra é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1

Distribuição de soropositividade e sexo entre pacientes segundo forma clínica e tipo de reação hansênica.

Forma Clínica / Tipo de reação	Positivo		Negativo		Total
	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino	
MHV	12	1	-	-	13
MHD	15	7	2	3	27
MHV (reação tipo II)	10	5	3	3	21
MHV (reação tipo I)	1	1	-	-	2
MHD (reação tipo I)	10	2	3	2	17
Total	48	16	8	8	80

O exame sorológico de toda a amostra, inclusive dos contatos e controles foi realizado por meio de Enzimaímunoensaio-ELISA padrão para medir níveis de anticorpos IgM anti-PGL-I do *M. Leprae*. O valor do cut-off para positividade foi de uma DO = 0.250 anticorpos/mL de soro, conforme padrão utilizado em estudos anteriores (Buhner *et al.*, 2000; Jagannath & Sangupta, 1981). Para se alcançar maior acurácia e menor variabilidade das estimativas, todos os soros foram testados em duplo e os resultados expressos como a média da absorbância dos valores das duplicatas.

Os indivíduos clinicamente doentes e os reacionais pós-cura foram submetidos ao exame bacteriológico no Centro de Referência Marcelo Cândia por meio da técnica de esfregaço cutâneo – baciloscopia da linfa e pela coloração de Zihel-Neelsen. Os contatos e os controles não realizaram baciloscopia e histopatologia, em virtude de que estas técnicas são indicadas apenas aos doentes e suspeitos, de acordo com as normas do Ministério da Saúde (Ministério da Saúde, 1998).

Os contatos são indivíduos sadios que durante cinco ou mais anos compartilharam o mesmo domicílio com doente hansênico. Este grupo fez parte do estudo porque indivíduos residentes em áreas endêmicas podem apresentar sorologia positiva ou negativa sem sinais evidentes de hanseníase.

O grupo controle é composto por indivíduos residentes em área de alta endemicidade Taxa de prevalência variando de >10 a <20 /10.000 habitantes) com a particularidade de não apresentarem sinais clínicos compatíveis com hanseníase e não informarem história de convívio domiciliar com hansênicos.

As variáveis de predição foram idade, sexo, classificação dos pacientes, história familiar de hanseníase e procedência; as variáveis de desfecho foram: os níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I e o Índice Bacteriológico, este último exceto para os grupos de contatos e controles.

Estimou-se a correlação entre índices de anticorpos entre doentes clínicos e reacionais, bem como entre doentes e não doentes, a magnitude do Índice Bacteriológico (IB) e dos níveis séricos de anti-PGL-I entre doentes e reacionais, assim como a razão de chances (OR) de soropositividade entre doentes e não doentes. Utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson (Ayres *et al.*, 2003) para comparação dos índices de anticorpos entre todos os grupos para comparação do IB para os grupos de doentes e reacionais após tratamento. Os programas computacionais utilizados para as análises foram: Epi-Info.6.0; Excel 2000 e Biostat 3.0 (Ayres *et al.*, 2003).

3. RESULTADOS

Do total de 160 indivíduos selecionados, 40 foram diagnosticados como doentes e 40 reacionais. Esse dado, quando comparado à distribuição dos sexos masculino e feminino, mostrou que 48 indivíduos do sexo masculino eram positivos e 8 negativos, entre as mulheres 16 eram positivas e 8 negativas (Tabela 1).

As variáveis idade e sexo foram analisadas em relação à soropositividade ao teste empregado na qual observa-se frequência de positividade mais acentuada nas faixas etárias de 21 a 30 e 31 a 40 particularmente entre os homens (Tabela 2).

Tabela 2

Prevalência de anticorpos IgM para PGL-I do *Mycobacterium leprae* na amostra estudada segundo a faixa etária e o sexo, atendidos pelo Laboratório de hanseníase do Instituto Evandro Chagas, 2003 a 2006.

Faixa etária	Masculino			Feminino		
	Total	Positivo	%	Total	Positivo	%
0 a 10	7	1	14,3	7	3	42,9
11 a 20	14	9	64,3	19	6	31,6
21 a 30	13	10	76,9	20	8	40,0
31 a 40	17	15	88,2	14	6	42,9
41 a 50	8	5	62,5	10	3	30,0
51 a 60	7	3	42,9	7	1	14,3
61 a +	15	11	73,3	2	1	50,5
Total	81	54	66,7	79	28	35,4

Pelo exame da sorologia foi observada positividade em 85% dos pacientes multibacilares – MB; 75% dos reacionais pós-cura; 25% dos indivíduos contactantes; e 27,5% do grupo controle. A chance de um indivíduo MB ser positivo foi 1,89 vezes maior quando comparado com os reacionais pós-cura, mas este resultado não foi estatisticamente significativo (Tabela 3). As chances de positividade entre doentes MB e entre reacionais foram significativamente maiores do que entre não doentes (controles e contactantes).

Tabela 3

Distribuição de soropositividade ao teste IgM anti-PGL-I por grupo de estudo, 2003 a 2006.

Grupos	Sorologia IgM anti-PGL-I				OR	IC95%	p-valor
	Positivo	%	Negativo	%			
Doentes MB	34	85,0	6	15,0	1,89*	0,54 - 7,07	0,2636
Reacionais (pós-cura)	30	75,0	10	25,0	8,42**	3,27 - 22,40	<0,0001
Contatos	10	25,0	30	75,0	15,92**	5,44 - 51,73	<0,0001
Controles	11	27,5	29	72,5			
Total	85	53,1	75	46,9			

*Odds ratio (Doentes MB vs reacionais) **Odds (Reacionais vs Contatos + controles) ***Odds (Doentes MB vs Contatos + controles)

Considerando os doentes MB e os não-doentes (contatos e controles) como padrão-ouro para definição de positivities, pode-se calcular uma sensibilidade do teste anti-PGL-I de 85%, especificidade de 74%, valor preditivo do teste negativo de 91%, valor preditivo do teste positivo de 62%, e acurácia global de 78%.

O teste anti-PGL-I é um dos parâmetros mais significativos na diferenciação entre doentes clínicos e reacionais após tratamento poliquimioterápico, sendo uma ferramenta importante para análise comparativa entre o controle e a eficácia do tratamento na resposta imunológica do paciente. Nossos resultados mostraram que 76,5% dos pacientes com período de 3 meses a 1 ano entre a cura e o

aparecimento de lesões compatíveis com reações hansênicas foram positivos no teste anti-PGL-I; 66,7% foram positivos dentre os que tinham tempo entre a alta e aparecimento da reação de 1 a 2 anos, 57,1% dos que tinham tempo entre a alta e aparecimento da reação de 2 a 3 anos e 100% dos indivíduos que já tinham mais de 3 anos de cura (Tabela 4).

Tabela 4

Soropositividade ao teste anti-PGL-I em doentes hansênicos reacionais pós-cura atendidos pelo Laboratório de hanseníase do Instituto Evandro Chagas, 2003 a 2006.

Tempo entre alta e reação pós-cura	Positivo	%	Negativo	%
3 meses a 1 ano	13	76,5	4	23,5
1 a 2 anos	8	66,7	4	33,3
2 a 3 anos	4	57,1	3	42,9
3 anos e mais	4	100,0	-	0,0
Total	29	72,5	11	27,5

Para a comparação dos níveis de anticorpos anti-PGL-I e IB inicial, foram analisados 10 doentes MB e 10 reacionais pós-cura com exame bacteriológico prévio. O nível de anticorpos variou de 0,036 a 4,3 anticorpos/mL no grupo de doentes, com IB variando de 1 a 6 bacilos/campo (média = 2,15 bacilos/campo). Entre os reacionais o nível de anticorpos variou de 0,044 a 2,781 anticorpos/mL com IB variando de 0,075 a 4,75 bacilos/campo (média = 1,62 bacilos/campo). A correlação entre os níveis de anticorpos anti-PGL-I e o Índice Bacteriológico (IB) entre os grupos de doentes MB e reacionais foi 0,99 e 0,87, respectivamente (Figura 1).

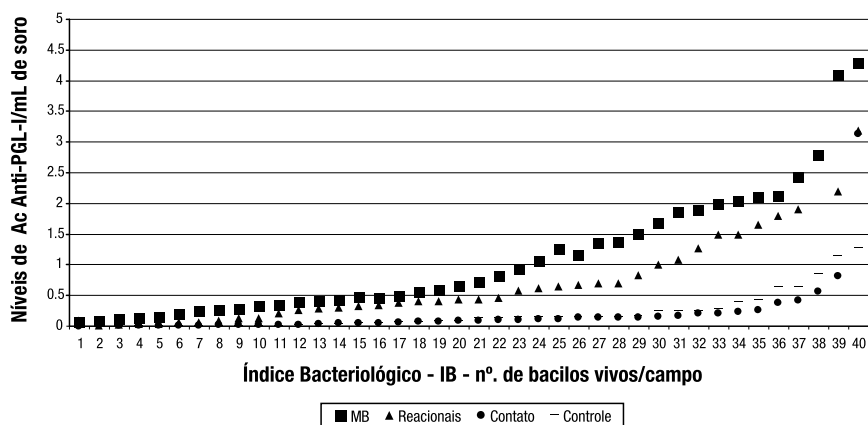


Figura 1

Níveis de anticorpos IgM anti-PGL-I e Índice Bacteriológico (IB) nos grupos de doentes MB e reacionais pós-cura atendidos pelo Laboratório de hanseníase do Instituto Evandro Chagas, 2003 a 2006.

4. DISCUSSÃO

A população de referência deste estudo constituiu-se de 160 pacientes hansênicos, contatos e controles, todos oriundos de área endêmica no estado do Pará, Brasil, que pelos parâmetros do Ministério da Saúde, é considerada uma região hiperendêmica.

Na análise da soropositividade ao teste anti-PGL-I, segundo o sexo e a faixa etária, observou-se maior frequência de positivos entre os homens, especificamente na faixa etária de 20 a 40 anos, fato que pode ser explicável considerando que estas faixas representam parte da população economicamente ativa, ou seja, parcela da comunidade com maior contato social e portanto maior probabilidade de contágio. Estudos prévios demonstram maior tendência de soropositividade entre os jovens e mulheres, achado discordante deste estudo, provavelmente, por se tratarem de estudos de base populacional além de terem avaliado grupos maiores de indivíduos (Mitie *et al.*, 1998; Bühner *et al.*, 2000).

Foi observada correlação positiva entre os níveis de anticorpos anti-PGL-I e o Índice Bacteriológico (IB), mais evidente, entre o grupo de doentes MB quando comparados com o grupo de reacionais, reforçando a idéia de que a técnica pode ser utilizada como instrumento para diferenciar hanseníase em fase de atividade clínica, dos casos de reação hansênica após tratamento. Uma vez que, em concordância com o objetivo do estudo, a pergunta principal a ser respondida é: “O teste sorológico que mede níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I do *Mycobacterium leprae*, por meio da técnica ELISA, tem potencial para distinguir doentes hansênicos com doença em atividade clínica de doentes reacionais após o tratamento específico?” Nossos resultados indicam que esse teste pode ser utilizado como rotina diferencial entre os dois tipos de pacientes. Os níveis de anticorpos anti-PGL-I foram mais elevados entre doentes hansênicos multibacilares diagnosticados recentemente como caso novo ou recidiva, do que entre doentes hansênicos multibacilares, formas MHD e MHV, que após o tratamento poliquimioterápico, voltaram a apresentar sinais e sintomas sugestivos de episódios reacionais tipo I e tipo II, os quais nem sempre podem ser diferenciados pelo diagnóstico clínico.

Para os doentes hansênicos, o exame sorológico foi avaliado em relação ao índice bacteriológico, aos aspectos clínicos e ao tempo de aparecimento dos sintomas, para comprovar a concordância entre os níveis de anticorpos anti-PGL-I e a carga bacilar inicial dos pacientes, em virtude da predominância de resposta humoral em detrimento da resposta de base celular nos doentes MB e reacionais pós-cura MB. Nossos resultados foram de acordo com a literatura pertinente (Goulart *et al.*, 2002 ; Bakker, 2005; Scollard *et al.*, 2006). Resultado semelhante foi encontrado no estudo de Roche *et al.* (1990), o qual não demonstrou

que o aparecimento de reação tipo I ou tipo II tivesse influência significativa nas alterações dos níveis de anticorpos, quando comparados a outros pacientes.

Em nossa amostra, o tempo transcorrido entre o tratamento poliquimioterápico e o aparecimento de reações pós-cura, sem sinais clínicos e bacteriológicos evidentes de atividade de hanseníase, variou de 3 meses a 4 anos, sendo que o maior índice de soropositividade foi observado nos indivíduos com menor tempo entre o tratamento e o aparecimento de sinais de reação Imunológica (considerando que a amostra em indivíduos com mais de 3 anos foi muito pequena para permitir inferências mais robustas).

As relativamente altas estimativas de sensibilidade e especificidade comparando-se os níveis de anticorpos no grupo de doentes clínicos multibacilares com o grupo controle sugere que o teste pode ser apropriado para distinguir, doentes em atividade clínica de indivíduos clinicamente sadios, do ponto de vista sorológico.

Estudos têm demonstrado que a presença de anticorpos contra PGL-I específico do *M.leprae* está correlacionada com a carga bacteriana do paciente (Roche *et al.*, 1996; Chin-a-Lien *et al.*, 1992; Cellona *et al.*, 1993; Klatser *et al.*, 1996). A maioria dos autores concorda que os pacientes MB têm índices elevados de anticorpos para PGL-I, enquanto que pacientes PB, em geral, são soronegativos (Douglas & Worth, 1984; Bach *et al.*, 1986; Hussain *et al.*, 1990; Roche *et al.*, 1990; 1993). Em nosso estudo a correlação dos níveis de anticorpos anti-PGL-I relacionados ao Índice Bacteriológico (IB) foi positiva entre os grupos de doentes MB e reacionais, apresentando índice de correlação mais elevado para o grupo de doentes comparados aos reacionais. Este achado se deve, provavelmente, ao fato de que os pacientes reacionais não mais possuem carga bacteriana elevada, em virtude da eficácia do tratamento poliquimioterápico, achado concordante com a literatura (Buhner, 1998; Klatser, 1996; Ananias, 1998).

A integração do controle da hanseníase dentro do Serviço de Saúde Geral, determina que o diagnóstico e a classificação dos pacientes hansênicos para propósitos de tratamento, assim como a avaliação de indivíduos que, após o término do tratamento específico, voltam a apresentar alterações cutâneas e/ou neurológicas, ficarão sob a responsabilidade de profissionais não especializados, podendo acarretar problemas de classificação com conseqüente tratamento inadequado, o que pode levar a um novo registro no Sistema como caso novo ou recidiva.

A distinção precisa entre hanseníase em atividade clínica (casos novos e/ou recidiva) dos casos que apresentam somente reações pós-cura é importante para o controle da doença. Desta forma, um sistema de teste laboratorial que distinga, do ponto de vista imunológico, infecção e não infecção é relevante para o diagnóstico acurado das reações como também para a escolha do tratamento adequado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANANIAS, M. T. P. *Hanseníase: estudo da reação tipo 1 e do anti-PGL-1 sérico nos pacientes do ambulatório de dermatologia do Hospital das Clínicas da UFMG, no período de junho de 1996 a março de 1998*. 1998. 135p. Dissertação (Mestrado em Dermatologia) – Faculdade de Medicina. UFMG, Belo Horizonte.
- AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. *Bio Estat 3.0. Aplicações Estatísticas nas áreas das Ciências Biológicas e Médicas*. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, Brasília: CNPQ, 2003. 290p.
- BACH, M. A.; WALLACH, D.; FLAGEUL, B.; HOFFENBACH, A. E.; COTTENOT, F. Antibodies to phenolic glycolipid-1 and to whole *Mycobacterium leprae* in leprosy patients evolution during therapy. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases*. United States, v. 54, n. 2, p. 256 - 267, 1986.
- BAKKER, M. *Epidemiology and prevention of leprosy: a cohort study in Indonesia*. 2005. 165p. Tese (Doutorado). Departamento de Pesquisa Biomédica. Royal Tropical Institute, Amsterdam.
- BUHRER, S. *A simple dipstick assay for the detection of antibodies to phenolic glycolipid-1 of Mycobacterium leprae*. 1998. 123p. Tese (Doutorado em Imunologia) - Departamento de Pesquisa Biomédica. Royal Tropical Institute, Amsterdam.
- BUHRER, S. S.; SMITHS H. L.; GUSSENHOVEN, G. C.; VON INGEN, C. W.; KLATSER, P. R. A simple dipstick assay for the detection of antibodies to phenolic glycolipid-I of *Mycobacterium leprae*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. v. 58, n. 2, p. 133 - 136, 1998.
- BUHRER-SEKULA, S.; SARNO, E. N.; OSKAM, L.; KOOP, S.; WICHERS, I.; NERY, J. A.; VIEIRA, L. M.; DE MATOS, H. J.; FABER, W. R.; KLATSER, P. R. Use of MI Dipstick as a tool to classify leprosy patients. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases*. United States, v. 68, n. 4, p. 456 - 463, 2000.
- CELLONA, R. V.; WALSH, G. P.; FAJARDO, T. T. JR.; ABALOS, R. M.; DELA CRUZ, E. C.; GUIDO-VILLAHERMOSA, L.; FELICIO-BALAGON, M. V.; STEENBERGEN, G. J.; DOUGLAS, J. T. 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. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases*. United States, v. 61, n. 2, p. 192 - 198, 1993.

CHIN-A-LIEN, R. A.; FABER, W. R.; VAN RENS, M. M.; LEIKER, D. L.; NAAFS, B.; KLATSER, P. R. Follow-up of multibacillary leprosy patients using a phenolic glycolipid-I-based ELISA. Do increasing ELISA-values after discontinuation of treatment indicate relapse? *Leprosy Review*. v. 63, n. 1, p. 21 - 27, 1992.

DOUGLAS, J. T.; WORTH, R. M. Field evaluation of an ELISA to detect antibody in leprosy patients and their contacts. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases*. United States, v. 52, n. 1, p. 26 - 33, 1984.

FOSS, N. T.; SOUZA, C. S.; GOULART, I. M. B.; GONÇALVES, H. S.; VIRMOND, M. Hanseníase: episódios reacionais. *Projeto Diretrizes*. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, 2003. 19p.

GOULART, I. M.; PENNA, G. O.; CUNHA, G. Imunopatologia da hanseníase: a complexidade dos mecanismos da resposta imune do hospedeiro ao *Mycobacterium leprae*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. Uberada, v. 35, n. 4, p. 365 - 375, 2002.

HUSSAIN, R.; JAMIL, S.; KIFAYET, A.; FIRDAUSI, F.; DOCKRELL, H. M.; LUCAS, S.; HASAN, R. Quantitation of IgM antibodies to the *M. leprae* synthetic disaccharide can predict early bacterial multiplication in leprosy. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases*. United States, v. 58, n. 3, p. 491 - 502, 1990.

JANAGATH, C.; SANGUPTA, D. N. Serology of leprosy. I Indirect hemagglutination test with stabilized sensitized red cells. *Leprosy in India*. v. 53, n. 4, p. 507 - 512, 1981.

KLATSER, P. R.; CHO, S. N.; BRENNAN, P. J. The contribution of serological tests to leprosy control. *International Journal of Leprosy in Other Mycobacterial Diseases*. United States, v. 64, supl. 4, p. 63 - 66, 1996.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria Nacional de Programas Especiais de Saúde. Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária. *Controle da hanseníase: uma proposta de integração ensino-serviço*. Rio de Janeiro: DNDS/NUTES, 1998.

MITIE, T. R. F.; OLIVEIRA, L. R.; MELO, C. S.; NAKAMURA, P. M.; RIMOLO, N. S.; CAVALARI, S. F.; OLIVEIRA, M. B.; GATTÁS, V. L.; GONÇALVES, O. S. J.; ROTTA, O. Aplicação do teste ELISA Anti-PGL-I em localidade com alta endemicidade de hanseníase na Região Norte do Estado de São Paulo. *Hansmologia Internationalis*. São Paulo, v. 23, n. 2, p. 35 - 48, 1998.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE - OMS. *Working paper: current status in reactions and nerve damage in leprosy - What next?* Report of the Scientific Working Group on Leprosy. Geneva, Switzerland, p. 47 - 56, 2005.

ROCHE, P. W.; BRITTON, W. J.; FAILBUS, S. S.; WILLIAMS, D.; PRADHAN, H. M.; THEUVENET, W. J. Operational value of serological measurements in multibacillary leprosy patients : clinical and bacteriological correlates of antibody responses. *International Journal of Leprosy in Other Mycobacterial Diseases*. United States, v. 58, n. 3, p. 480 - 490, 1990.

ROCHE, P. W.; BRITTON, W. J.; FAILBUS, S. S.; NEUPANE, K. D.; THEUVENET, W. J. Serological monitoring of the response to chemotherapy in leprosy patients. *International Journal of Leprosy in Other Mycobacterial Diseases*. United States, v. 61, n. 1, p. 35 - 43, 1993.

SCOLLARD, D. M.; JOYCE, M. P.; GILLIS, T. P. Development of leprosy and type 1 leprosy reactions after treatment with infliximab: a report of 2 cases. *Clinical Infections Research*. v. 43, n. 2, p. 19 - 22, 2006.