

# Sorologia da hanseníase utilizando PGL-I: revisão sistemática

## Leprosy serology using PGL-I: a systematic review

Rodrigo Scaliante de Moura<sup>1</sup>, Karla Lucena Calado<sup>2</sup>,  
Maria Leide W. Oliveira<sup>2</sup> e Samira Bühler-Sékula<sup>1</sup>

### RESUMO

A sorologia utilizando o antígeno espécie-específico do *Mycobacterium leprae*, PGL-I, pode ser um marcador de carga bacteriana em pacientes com hanseníase. Estudos identificaram potencial de uso da sorologia na classificação de pacientes para fins de tratamento, monitoramento de terapia, risco de recidiva e na seleção dos contatos com maior risco de adoecer. Foi realizada uma revisão sistemática e 26 artigos foram incluídos na análise comparativa. Avaliamos os resultados do uso da sorologia PGL-I em diferentes situações, suas limitações e possíveis aplicações. Estudos mostraram eficácia da sorologia PGL-I na classificação de pacientes, monitoramento da terapia, e nas reações hansênicas como teste preditivo. Para diagnóstico precoce e seguimento de população de alto risco, as metodologias utilizadas ainda não demonstraram custo-benefício favorável, porém estudos indicam que a utilização do teste poderá influenciar positivamente nos programas de controle da hanseníase. Com técnicas simples e robustas, o uso da sorologia PGL-I é viável.

**Palavras-chaves:** Sorologia. PGL-I. Hanseníase. ELISA.

### ABSTRACT

Serology using a species-specific antigen for *Mycobacterium leprae*, PGL-I, could be a marker for the bacterial load of patients with leprosy. Various studies have identified the potential use of serology in the classification of patients for treatment purposes, case monitoring, identification of the risk of relapse and selection of household contacts with a higher risk of contracting the disease. A systematic review of the literature was conducted and 26 articles were included in this comparative analysis. The results of the use of PGL-I serology in different situations, its limitations and possible applications were evaluated. Studies show the efficacy of PGL-I serology in the classification of patients, treatment monitoring and as a predictive test for leprosy reactions. To improve early diagnosis and follow-up of the population at greatest risk of developing leprosy, the methodologies used in the past have yet to show a favorable cost-benefit ratio, although studies indicate that the use of the test might positively influence leprosy control programs. With simple and robust techniques, the use of PGL-I serology is viable.

**Key-words:** Serology. PGL-I. Leprosy. ELISA.

Desde 1991, a OMS busca atingir a meta de eliminação da hanseníase como problema de saúde pública, estipulada como a prevalência de um doente para cada 10.000 habitantes. Em 2007, a prevalência global de hanseníase registrada no início do ano foi de 224.717 casos, número 13,2% menor que o registrado em 2006<sup>83</sup>. A queda significativa da prevalência deu-se com a implementação da poliquimioterapia (PQT) como tratamento padronizado e alta por cura, em contraste com o tratamento com dapsona (DDS) por toda a vida do paciente como era feito até 1982.

A hanseníase ainda é uma das principais causas de deformidade física, o que contribui para a manutenção do estigma e desvantagem social de seus portadores e suas famílias<sup>55</sup>. A Organização Mundial de Saúde estima que 25% dos pacientes tem algum grau de incapacidade devido à hanseníase<sup>81</sup>, o que denota a existência de detecção tardia, relacionada a problemas operacionais de cobertura e baixa resolutividade dos serviços

de saúde, além de aspectos inerentes à evolução insidiosa da doença<sup>79</sup>.

Pouco se sabe sobre a distribuição e transmissão da infecção e os fatores que conduzem ao adoecimento, principalmente pela impossibilidade de cultivar o *Mycobacterium leprae*. A infecção com *Mycobacterium leprae* é mais prevalente que a doença. Porém, mais estudos são necessários, particularmente sobre a transmissão do bacilo, o papel da infecção subclínica, a progressão da infecção para a doença e as tendências da incidência da doença<sup>75</sup>. O conceito geralmente aceito é de que pacientes multibacilares compõem a principal fonte de infecção. Desta forma, uma estratégia de controle baseada em caso diagnosticado e tratado deveria reduzir a transmissão do organismo. Com o tempo a cadeia de transmissão seria quebrada e a hanseníase desapareceria naturalmente<sup>45</sup>.

A descoberta e elucidação da estrutura química do glicolípido específico do *Mycobacterium leprae* em 1981<sup>43</sup>, e o achado de que era antigênico em 1982<sup>58</sup>, foram grandes inovações na pesquisa em hanseníase. O PGL-I tem sido usado em muitos estudos mostrando que pacientes hansenianos no pólo lepromatoso do espectro formam grandes quantidades de imunoglobulinas do tipo IgM reagindo contra este antígeno (soropositividade de 80-100%) enquanto pacientes no pólo tuberculóide apresentam imunoglobulinas específicas em níveis baixos de detecção (soropositividade de 30-60%)<sup>9 14 22 44 46 57 59</sup>.

1. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil. 2. Serviço de Dermatologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

**Endereço para correspondência:** Dra. Samira Bühler-Sékula. Departamento de Imunologia, sala 335/Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/UFG. Rua 235, s/nº, Setor Universitário, 74605-050, Goiânia, GO, Brasil.

Tel: 55 62 3209-6111

e-mails: buhrersekula@iptsp.ufg.br; samira@buhler.net

O tipo de hanseníase bem como o grau de relacionamento e proximidade do contato com o caso índice são fatores que contribuem para o risco de adoecer. Os pacientes frequentemente desconhecem qualquer contato prévio com a doença e a maioria dos casos incidentes não relata ter estado em contato com outros pacientes<sup>38</sup>. Porém, evidências mostram que o fato de pessoas morarem no mesmo domicílio que os pacientes hansenianos aumenta o risco de desenvolver a doença<sup>31 54 76 77</sup>.

Estudo que acompanhou contatos por 6 anos apresentou um risco 7,2 vezes maior de desenvolvimento de hanseníase MB ou PB nos contatos que eram soropositivos para a presença de anticorpos contra o PGL-I quando comparados aos contatos soronegativos sendo que o risco foi 24 vezes maior de ocorrer hanseníase do tipo multibacilar<sup>32</sup>. O percentual de desenvolvimento de doença entre contatos soropositivos sugere que a sorologia com anti-PGL-I poderia ser útil como teste prognóstico<sup>18</sup>.

Apesar de detecção de anticorpos indicar infecção presente ou passada pelo *Mycobacterium leprae*, com ou sem sinais clínicos<sup>19 35 46</sup>, títulos de anticorpos parecem estar mais associados ao grau de exposição ao *Mycobacterium leprae* na comunidade, pois a distribuição da soropositividade em populações de contatos domiciliares de casos de hanseníase não se evidenciou mais alta do que em não contatos nas áreas altamente endêmicas, havendo diferenças significativas entre contatos e não contatos em áreas de baixa endemicidade.

A soropositividade na população geral tem uma distribuição unimodal. Isso quer dizer que não há um ponto de corte entre população saudável e pacientes para discernir entre infecção subclínica e doença. Desta forma, testes sorológicos baseados na detecção de anticorpos IgM contra PGL-I não podem ser usados como única ferramenta de diagnóstico para screening de população na detecção de casos de hanseníase<sup>37</sup>.

Portanto, o diagnóstico da hanseníase é clínico e conforme recomendação da OMS a classificação operacional é baseada no número de lesões de pele, onde pacientes com até 5 lesões são considerados paucibacilares (PB) e aqueles com 6 ou mais lesões, multibacilares (MB)<sup>53</sup>. Aproximadamente 70% dos pacientes de hanseníase podem ser diagnosticados pela presença de lesão de pele com perda de sensibilidade. Porém, 30% dos pacientes, incluindo muitos multibacilares (MB) não apresentam este sinal. A baciloscopia é um exame auxiliar importante mas nem sempre está disponível.

Episódios reacionais são as maiores complicações em hanseníase podendo ocorrer durante e/ou após tratamento e geralmente deixam seqüelas. Reação tipo I ou Reação Reversa é um episódio de inflamação aguda na pele e nervos periféricos resultado de uma hipersensibilidade tardia contra antígenos do bacilo que ocorre em até 30% dos pacientes<sup>62</sup>. O Eritema Nodoso Hanseniano ou reação tipo II pode ocorrer em pacientes do pólo lepromatoso e se apresenta como um quadro febril debilitante com o aparecimento de nódulos cutâneos acompanhado de inflamação nos nervos, olhos e testículos<sup>8</sup>.

Estudos têm buscado avaliar a sorologia PGL-I como ferramenta no monitoramento da eficácia da terapia baseados na forte correlação entre a baciloscopia e os níveis de anticorpos contra o PGL-I em amostras clínicas dos pacientes.

O presente estudo tem como objetivo revisar a sorologia para detecção de anticorpos IgM contra o PGL-I, sua aplicação como teste auxiliar no diagnóstico, classificação dos pacientes para fins de tratamento, evolução do tratamento, risco de recidiva e na seleção dos contatos com maior risco de adoecer.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Critérios de busca e seleção

Realizou-se uma pesquisa bibliográfica sistemática utilizando a sorologia com PGL-I para definir parâmetros de busca em bases bibliográficas da área da saúde como BIREME/OPAS/OMS, MEDLINE, Cochrane Library, Sociedade Brasileira de Dermatologia, relatórios de Comitês Internacionais, teses defendidas e experiências pessoais de autores publicadas em revistas indexadas e não indexadas. Os termos empregados na busca foram *PGL\**, *leprosy*, *Bacterial index* e *glycolipid phenolic* combinados com filtros para estudos diagnósticos como *diagnosis*, *sensitivity*, *specificity* e *epidemiology*.

### Critérios de seleção dos estudos

Os estudos selecionados foram incluídos, baseados numa avaliação objetiva da metodologia e qualidade de cada estudo, sendo adotados critérios de inclusão visando agrupar estudos semelhantes e excluir aqueles sem condições de comparação (**Tabela 1**).

#### Critérios de inclusão:

- Estudos que apresentaram metodologia descrita de modo a possibilitar a reprodução;
- Uso de glicolípides sintéticos (DBSA, ND-O-BSA, NT-P-BSA);
- Amostras de pacientes virgens de tratamento se o objetivo era determinar a sensibilidade;
- Pesquisa da presença de anticorpos IgM.

#### Critérios de exclusão:

- Uso de PGL-I nativo;
- ELISA utilizando cut-off inferior a 0.150 ou superior a 0.300;
- Estudos incluindo somente paciente de um dos grupos PB ou MB;
- Falta de informações sobre os critérios de inclusão/exclusão;
- Falta de informações sobre os critérios utilizados para classificação dos pacientes.

### Extração dos dados

De um total de 109 títulos, 57 artigos foram selecionados para inclusão e destes, 26 foram selecionados para análise comparativa, **Figura 1**.

TABELA 1

Lista dos artigos e resumos, excluídos e respectivo motivo de exclusão.

Ano	Autor	Antígeno	Diluição	Cut-off	Amostras	Motivo de exclusão
1983	Cho <sup>36</sup>	PGL-I nativo	ND	ND	87	PGL-I nativo
1983	Brett <sup>5</sup>	PGL-I nativo	-	-	70	PGL-I nativo
1986	Bach <sup>1</sup>	PGL-I nativo	1/250	-	88	PGL-I nativo
1986	Levis <sup>49</sup>	PGL-I nativo	1/300	-	192	PGL-I nativo
1987	Chanteau <sup>19</sup>	ND-O-BSA	1/250	0.100	724	Cut-off<0.150
1987	Menzel <sup>52</sup>	D-O-BSA	1/100	1.0	207	Cut-off>0.300
1988	Wu <sup>85</sup>	ND-O-BSA	1/200	0.04	213	Cut-off<0.150
1988	Chanteau <sup>21</sup>	NTP	1/250	0.589	19	Cut-off>0,300
1988	Lyons <sup>51</sup>	PGL-I nativo	1/300	-	77	PGL-I nativo
1988	Fine <sup>37</sup>	DBSA	1/020	-	6.002	PGL-I nativo
1990	Hussain <sup>44</sup>	DBSA	1/250	0.500	100	Cut-off>0,300
1990	Saad <sup>66</sup>	PGL-I nativo	-	0.27	357	PGL-I nativo
1990	Bagshawe <sup>2</sup>	PGL-I nativo	1/100	0.200	960	PGL-I nativo
1991	Cho <sup>24</sup>	ND-O-BSA	1/300	0.200	101	Pacientes tratados
1991	Soebono <sup>70</sup>	PGL-I nativo	-	0.180	2.430	PGL-I nativo
1991	Chujor <sup>27</sup>	PGL-I nativo	1/500	-	147	PGL-I nativo
1992	Sticht-Groh <sup>72</sup>	DBSA	1/200	0.200	245	Comparar buffer
1992	Chin-A-Lien <sup>50</sup>	DBSA	-	0.150	10	Pacientes tratados
1993	Prakash <sup>60</sup>	NT-P-BSA	-	1.16	65	Cut-off>0,300
1993	Yamashita <sup>86</sup>	PGL-I nativo	1/250	0.200	214	PGL-I nativo
1993	Foss <sup>39</sup>	PGL-I nativo	-	-	47	PGL-I nativo
1994	van Beers <sup>78</sup>	NT-P-BSA	-	0.380	1.302	Cut-off>0,300
1994	Soares <sup>69</sup>	ELISA	1 /050	0.199	562	Sem classificação
1998	Stefani <sup>71</sup>	DBSA	1/300	0.2	255	Pacientes tratados
1998	Kumar <sup>48</sup>	PGL-I nativo	-	0.23	698	PGL-I nativo
1998	Cunha <sup>28</sup>	PGL-I BSA	-	0.20	272	Pacientes tratados
2001	Cho <sup>25</sup>	ND-O-BSA	1/300	-	101	Pacientes tratados
2002	Wu <sup>84</sup>	ND-O-BSA	-	-	1.061	Pacientes tratados
2003	Bühner-Sékula <sup>44</sup>	NT-P-BSA	1/050	-	498	Tamanho da amostra
2005	Cardona-Castro <sup>16</sup>	PGL-I nativo	1/040	0.394	248	Cut-off>0.300
In Press	Schruring <sup>68</sup>	NT-P-BSA	-	0.200	864	Pacientes tratados
In Press	Brito <sup>7</sup>	NT-P-BSA	1/050	-	208	Pacientes tratados

ND: não disponível.

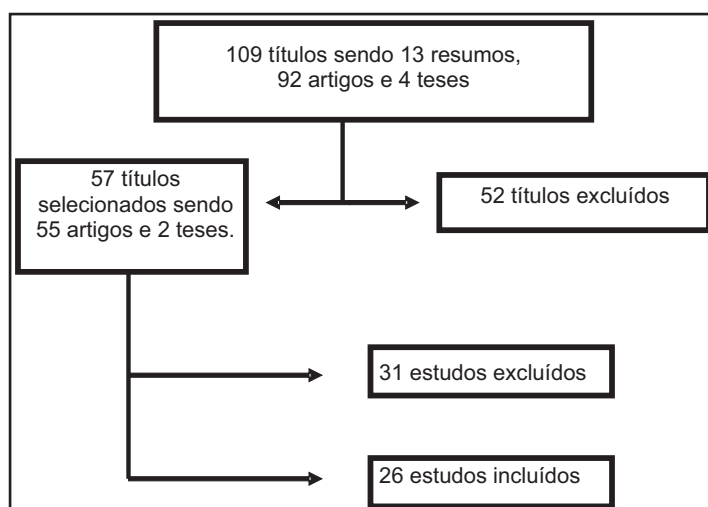


FIGURA 1

Total dos artigos e resumos revisados.

Mesmo entre os estudos selecionados a caracterização quanto ao desenho do estudo, os critérios definindo os grupos selecionados, o grau de exposição ao *Mycobacterium leprae*, a resposta imunológica dos infectados (de área endêmica ou não) difere. No grupo dos pacientes, o padrão ouro utilizado para definir PB e MB variou e influencia na sensibilidade encontrada. Os estudos que utilizam enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) diferem na técnica principalmente quanto ao tipo e concentração dos antígenos, diluições das amostras e conjugado e pontos de corte para positividade (*cut-off*). Estas diferenças interferem na sensibilidade e especificidade dos testes.

**Análise**

Não houve diferenças significativas entre os resultados apresentados por métodos ELISA e os métodos rápidos de detecção de anticorpos<sup>41 52 64 74</sup>.

Foi observada uma estreita correlação entre estudos utilizando amostras em papel filtro<sup>25 42 67 69</sup> e amostras de venopunção apesar de que os títulos sorológicos encontrados nas amostras eluídas de papel filtro são geralmente mais baixos<sup>74</sup>.

**PGL-I na classificação de pacientes**

Vários estudos encontraram uma correlação entre níveis de anticorpos detectados por ELISA e índices bacterianos (IB)<sup>9 11 12 13 14 15 18 22 25 27 42 57 61 67 73</sup>, justificando estudos utilizando a sorologia como ferramenta auxiliar na classificação dos pacientes.

Para facilitar a visualização e comparação dos resultados, os estudos foram agrupados de acordo com as populações estudadas. A **Tabela 2** apresenta os estudos de positividade em pacientes

MB e PB utilizando diversas técnicas, a saber, ELISA, dipstick, ML Flow e hemo-aglutinação passiva (PHA).

A média de soropositividade entre os estudos foi de 78% e 23% nos grupos MB e PB, respectivamente, tendo variado de 51,2% a 97,4% no grupo MB e de 6,9% a 57,3% no grupo PB. Variações nos critérios de classificação (PB e MB) utilizados não estão claras em muitos estudos, pois os critérios da OMS foram alterados ao longo dos anos e nem sempre seguidos na íntegra. Por exemplo, a classificação de pacientes entre MB e PB nos anos 80 incluía baciloscopia. No fim da década de 90 esta classificação passou a se basear no número de lesões de pele sem considerar o número de nervos acometidos<sup>82</sup>. De modo geral, a soropositividade nos PB apresentou percentuais mais baixos nos estudos que utilizaram a baciloscopia como padrão ouro. Em contraste, estudos que apresentaram soropositividade elevada utilizaram a classificação baseada no número de lesões ou esta combinada com baciloscopia. Esta variação nos percentuais de soropositividade esta relacionada às diferenças na resposta imunológica nas diferentes populações. Por exemplo, no estudo de implementação do ML Flow<sup>15</sup> o Nepal apresentou quase a metade da soropositividade (31,9%; 340/1066) daquela observada no Brasil (50,8%; 544/1071). A baixa produção de bacilos nos pacientes do Nepal foi confirmada pelos resultados de baciloscopia e ML Flow que foram negativos para 38,3% e 15,6% dos pacientes classificados como MB pela contagem do número de lesões no Nepal e Brasil, respectivamente.

Resultados indicam que a utilização da sorologia como ferramenta para classificação reduziria o número de pacientes tratados como MB. A contagem do número de lesões de pele é uma ferramenta operacional adequada não bem aceita pelos profissionais de saúde. Quando testes laboratoriais como a baciloscopia e histopatologia não estão disponíveis, existe uma forte tendência em classificarem pacientes como MB conforme

**TABELA 2**

Resultados sorologia PGL-I em pacientes multibacilar e paucibacilar.

Ano	Autor	País	Antígeno	Técnica	Diluição	Cut-off	Positivos/amostra (n°)		Soropositividade (%)	
							MB	PB	MB	PB
1988	Petchclai	Tailândia	ND-BSA	PHA	1/064	-	37/38	6/24	92,0	25,0
1989	Chanteau	Thaiti	NT-P-BSA	ELISA	1/250	0.200	26/27	12/35	96,0	34,0
1990	Groenem	Zaire	DBSA	ELISA	1/080	0.200	8/14	4/58	57,0	6,9
1993	Cellona	Filipinas	ND-O-BSA	ELISA	1/200	0.160	163/193	22/147	84,5	15,0
1998	Bührer-Sékula	Manaus - Brasil	DBSA	ELISA	1/300	0.200	80/108	14/103	74,1	13,6
				Dipstick	1/050	-	86/108	14/103	79,6	13,6
1998	Bührer-Sékula	Manaus - Brasil	DBSA	ELISA	1/300	0.250	63/123	8/55	51,2	12,0
2000	Bührer-Sékula	RJ - Brasil	ND-O-BSA	Dipstick	1/050	-	100/130	10/134	76,9	7,4
2001	Bührer-Sékula	Manaus - Brasil	DBSA	Dipstick	1/050	-	57/67	23/103	85,1	22,3
2003	Bührer-Sékula	Brasil, Indonésia, Filipinas	NT-P-BSA	ML Flow	1/050	-	111/114	34/85	97,4	40,0
2006	Schruring	Bangladesh	NT-P-BSA	ELISA	1/167	0.199	204/294	138/731	69,4	18,9
		Nigéria					31/36	84/150	86,1	57,3
2007	Bührer-Sékula	Brasil	NTP-BSA	ML Flow	1/050	-	352/423	192/648	83,2	29,6
		Nepal					222/379	118/687	58,6	17,2
2008	Parkash	Índia	NT-P-BSA	ML Flow	1/050	-	23/25	39/122	92,0	32,0

PHA: hemaglutinação passiva, MB: multibacilar, PB: paucibacilar.

demonstrado por estudo na Nigéria onde grande proporção dos pacientes recebeu esquema terapêutico MB desnecessariamente<sup>15</sup>. Parte deste receio talvez seja explicado pelo fato de que a classificação utilizando o número de lesões ignora o tamanho das mesmas e os profissionais de saúde observam a importante relação entre tamanho da lesão e a forma clínica da doença. Recentemente, o tamanho das lesões foi identificado como um aspecto importante na decisão terapêutica<sup>67</sup>.

### PGL-I no acompanhamento de pacientes

Os métodos sorológicos baseados no PGL-I podem ser úteis no monitoramento de terapia. Na maioria dos pacientes os níveis de anticorpos caem com o início do tratamento, sendo mais drástica no início do tratamento<sup>25</sup> e geralmente caem 25 a 50% anualmente<sup>23 24 33 47 63</sup>. Esta queda varia largamente entre os pacientes sendo que pode ser linear e negatar rapidamente ou levar anos após término da terapia<sup>40</sup>.

### PGL-I na predição de reações e recidiva

Poucos estudos avaliaram a utilidade da sorologia no diagnóstico e na predição de reações e recidiva, porém apontam os mesmos fatores de risco para episódios reacionais após alta e recidiva.

Como ferramenta auxiliar no diagnóstico de reação tipo I ou II durante o tratamento a sorologia não se mostrou eficiente, pois níveis semelhantes podem ser encontrados em pacientes sem reação e até mesmo na população normal<sup>71</sup>. Porém, pacientes com altas concentrações de IgM anti-PGL-I no início do tratamento apresentaram um risco maior de desenvolver reação do Tipo 1 identificando assim pacientes para monitoramento e tratamento precoce talvez reduzindo o dano neural e a incapacidade<sup>65</sup>. Na reação pós alta, pacientes com sorologia PGL-I positivo no momento da alta apresentaram chance 10,4 vezes maior de desenvolver reação quando comparados aos pacientes sorologia negativa<sup>7</sup>.

São necessários estudos utilizando a sorologia para identificação de pacientes com risco maior de desenvolver reações para determinar uma rotina de monitoramento dos pacientes.

A soropositividade pode ser um primeiro indicador de recidiva<sup>50 84</sup>. Porém, em pacientes imunossuprimidos esta soropositividade pode estar ausente<sup>50</sup>. Em um ensaio clínico para diminuir o tratamento da hanseníase, a soropositividade mostrou-se importante na predição do risco de recidiva, apenas 1 dos 9 pacientes diagnosticados como recidiva não tinha sorologia positiva no início do tratamento e era um caso de resistência a droga<sup>12</sup>. Estudo realizado no Brasil encontrou uma associação significativa entre o risco aumentado de recidiva com um grupo de características sendo elas, paciente no pólo leptomatoso, IB positivo e anti PGL-I<sup>56</sup>, mostrando que os bacilos podem permanecer relativamente protegidos da ação imunológica e da terapêutica, voltando a proliferar em condições propícias.

### Contatos

A alta prevalência de soropositivos entre contatos de pacientes de hanseníase evidencia que infecção subclínica com *Mycobacterium leprae* é comum<sup>30 52 66</sup> e está relacionada ao tipo de hanseníase do paciente envolvido<sup>20 30 70</sup>.

Estudos em contatos mostram soropositividade de até 18,4% (**Tabela 3**) sendo que os menores e maiores valores são encontrados entre os contatos de pacientes PB e MB, respectivamente. Acompanhamento de contatos apresentou um risco aumentado de desenvolvimento de hanseníase MB nos contatos que eram soropositivos quando comparados aos contatos soronegativos<sup>32</sup>. A vacina BCG parece ter um efeito protetor pois, a maioria dos contatos soropositivos vacinados desenvolve hanseníase PB<sup>36</sup>.

Estudo no Rio de Janeiro verificou uma influência positiva na descentralização do atendimento pelo incremento da detecção de novos casos, ampliando a precocidade do diagnóstico e

**TABELA 3**

Resultados sorologia PGL-I em contatos domiciliares.

Ano	Autor	País	Antígeno	Técnica	Diluição	Cut-off	Positivos/amostra (n°)	Soropositividade (%)
1989	Desforges	Nova Caledônia	NT-O-BSA	ELISA	1/250	0,257	44/309	14,2
			ND-O-BSA			0,174	30/309	9,70
1990	Sulçebe	Albânia	DBSA	ELISA	1/300	0,200	7/53	13,3
1991	Krishnamurthy	Índia	ND-O-BSA	ELISA	1/040	0,200	58/402	14,5
1993	Chanteau	Polinésia	NT-P-BSA	ELISA	1/250	0,200	204/1201	17
1993	Cellona	Filipinas	ND-O-BSA	ELISA	1/200	0,160	39/601CMB 5/71CPB	6,5CMB 7,0CPB
1998	Bührer-Sékula	Manaus - Brasil	DBSA	ELISA	1/300	0,250	2/42	4,0
1998	Bührer-Sékula	Manaus - Brasil	DBSA	ELISA	1/300	0,200	4/108	3,7
			Dipstick		1/050	-	2/108	1,90
1999	Roche	Nepal	DBSA	ELISA	1/300	0,200	8/47	17,0
2004	Sinha	Índia	ND-O-BSA	ELISA	1/300	0,200	81/2994	2,70
2005	Calado	RJ - Brasil	NT-P-BSA	ML Flow	1/050	-	158/860CMB 76/679CPB	18,4CMB 11,3CPB
2008	Duppre	RJ - Brasil	NT-P-BSA	ML Flow	1/050	-	265/1567CMB 76/560CPB	16,9CMB 13,6CPB

CMB: contato domiciliar de caso multibacilar, CPB: contato domiciliar de caso paucibacilar.



TABELA 4

Resultados sorologia PGL-I comparando populações endêmicas e não endêmicas.

Ano	Autor	País	Antígeno	Técnica	Diluição	Cut-off	Positivos/amostra (nº)		Soropositividade (%)	
							população endêmica	população não-endêmica	população endêmica	população não-endêmica
1990	Cartel	Polinésia Francesa	NT-P-BSA	ELISA	1/250	0.200	157/3567		4,3	
1990	Groenem	Zaire	DBSA	ELISA	1/080	0.200	29/1524		2,90	
1992	Douglas	Filipinas (end) USA (n end)	ND-O-BSA	ELISA	1/500	0.150	5/398	4/426	1,30	0,70
			NT-O-BSA				10/398	6/426	2,50	1,40
			ND-P-BSA				6/398	6/426	1,50	1,40
			NT-P-BSA				6/398	7/426	1,50	1,60
1993	Cellona	Filipinas	ND-O-BSA	ELISA	1/200	0.160	7/401		1,70	
1996	Gonzalez-Abreu	Cuba	ND-A-BSA	ELISA	1/200	0.199	938/24293		3,80	
1999	van Beers	Indonésia	PGL-I MLPA	MLPA	-	-	506/1876	67/959	27,00	7,00
2002	Bakker	Indonésia	NT-P-BSA	ELISA	1/500	0.200	96/4140		2,30	
2004	Bakker	Indonésia	NT-P-BSA	ELISA	1/500	0.200	98/3271		3,00	

end: população endêmica, n end: população não endêmica.

consequentemente reduzindo o número de pacientes incapacitados<sup>29</sup>. Portanto, a detecção de anticorpos contra o PGL-I identificando contatos infectados sem sinais clínicos aparentes, pode ser uma ferramenta auxiliar nos programas de controle.

### Populações

A Tabela 4 mostra que taxa de soropositividade nas populações varia e parece ser dependente da taxa de incidência de Hanseníase na comunidade<sup>3 4 17 18 34 41 42 80</sup>.

Embora diferentes taxas de soropositividade em áreas não endêmicas e endêmicas possam refletir infecção subclínica<sup>46</sup> não há evidência de correlação entre soroprevalência com PGL-I e a incidência da Hanseníase e estudos ainda não definiram como utilizar a sorologia na avaliação das medidas de controle da Hanseníase.

Em crianças de idade escolar, padrões diferentes de distribuição da soropositividade em países endêmicos como Indonésia e Brasil não permitiram confirmar a soropositividade ao PGL-I como indicador da magnitude da doença em uma área selecionada<sup>10 80</sup>. Na Indonésia foi demonstrada uma correlação que não pôde ser confirmada no Brasil. Apesar dos dois estudos incluírem populações semelhantes os métodos diferem, na Indonésia incluíram-se quase todas as crianças e no Brasil utilizaram-se clusters. O estudo de clusters pode não ser apropriado para representar o índice de infecção na população, porém, o custo benefício de incluir todas as crianças não justificaria a utilização da sorologia como ferramenta simples para avaliação da gravidade da Hanseníase em uma determinada região<sup>13 78</sup>.

### Conclusão

Testes sorológicos para detecção de imunoglobulinas IgM contra o PGL-I são úteis para auxiliar no diagnóstico quando os resultados são considerados juntos com as informações clínicas<sup>2 6 11 67</sup>. Podem ser utilizados para a classificação de pacientes entre multibacilar (MB) ou paucibacilar (PB) e no

monitoramento da eficácia de terapia que deve ser acompanhada por diminuição dos títulos de anticorpos circulantes<sup>1 22 26 25 85</sup>.

Nas reações hansênicas o PGL-I também se mostrou útil como teste preditivo<sup>7 65</sup>.

Para diagnóstico precoce e seguimento de população de alto risco, as metodologias utilizadas ainda não demonstraram custo-benefício favorável porém estudos indicam que a utilização do teste poderá influenciar positivamente nos programas de controle da Hanseníase.

Quase trinta anos após a identificação do PGL-I podemos demonstrar que a evolução dos estudos gerou metodologias simples e robustas, úteis na pesquisa epidemiológica e como ferramenta auxiliar na avaliação terapêutica e classificação da Hanseníase.

### REFERÊNCIAS

1. Bach MA, Wallach D, Flageul B, Hoffenbach A, Cottenot F. Antibodies to phenolic glycolipid-I and to whole *Mycobacterium leprae* in leprosy patients: evolution during therapy. International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases 54: 256-267, 1986.
2. 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. International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases 58: 25-30, 1990.
3. Bakker MI, Hatta M, Kwenang A, Faber WR, van Beers SM, Klatser PR, Oskam L. Population survey to determine risk factors for *Mycobacterium leprae* transmission and infection. International Journal of Epidemiology 33: 1329-1336, 2004.
4. Bakker MI, Hatta M, Kwenang A, Klatser PR, Oskam L. Epidemiology of leprosy on five isolated islands in the Flores Sea, Indonesia. Tropical Medicine and International Health 7: 780-787, 2002.
5. 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. Clinical and Experimental Immunology 52: 271-279, 1983.
6. 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. Clinical and Experimental Immunology 64: 476-483, 1986.
7. Brito MFM, Ximenes RAA, Gallo ME. Associação entre reação hansênica após alta e a carga bacilar avaliada utilizando sorologia anti PGL-I e baciloscopia. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), 2008.

8. Britton WJ, Lockwood DN. Leprosy. *Lancet* 363: 1209-1219, 2004.
9. 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*. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 58:133-136, 1998.
10. Bühner-Sékula S, van Beers S, Oskam L, Lecco R, Madeira ES, Dutra MAL, Luis MC, Faber W, and Klatser P. The relation between seroprevalence of antibodies to phenolic glycolipid-I among school children and leprosy endemicity in Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 41 (supl 2) 81-88, 2008.
11. Buhner-Sekula S, Cunha MG, Ferreira WA, Klatser PR. The use of whole blood in a dipstick assay for detection of antibodies to *Mycobacterium leprae*: a field evaluation. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 21: 197-201, 1998.
12. Buhner-Sekula S, Cunha MG, Foss NT, Oskam L, Faber WR, Klatser PR. Dipstick assay to identify leprosy patients who have an increased risk of relapse. *Tropical Medicine and International Health* 6: 317-323, 2001.
13. Buhner-Sekula S, Sarno EN, Oskam L, Koop S, Wichers I, Nery JA, Vieira LM, de Matos HJ, Faber WR, Klatser PR. Use of ML dipstick as a tool to classify leprosy patients. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 68: 456-463, 2000.
14. Buhner-Sekula S, Smits HL, Gussenhoven GC, van Leeuwen J, Amador S, Fujiwara T, Klatser PR, Oskam L. 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, 2003.
15. Buhner-Sekula S, Visschedijk J, Grossi MA, Dhakal KP, Namadi AU, Klatser PR, Oskam L. The ML flow test as a point of care test for leprosy control programmes: potential effects on classification of leprosy patients. *Leprosy Review* 78: 70-79, 2007.
16. Cardona-Castro NM, Restrepo-Jaramillo S, Gil de la Ossa M, Brennan PJ. Infection by *Mycobacterium leprae* of household contacts of lepromatous leprosy patients from a post-elimination leprosy region of Colombia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 100: 703-707, 2005.
17. Cartel JL, Chanteau S, Boutin JP, Plichart R, Richez P, Roux JF, Grosset JH. Assessment of anti-phenolic glycolipid-I IgM levels using an ELISA for detection of *M. leprae* infection in populations of the South Pacific Islands. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 58: 512-517, 1990.
18. Cellona RV, Walsh GP, Fajardo T T Jr, Abalos RM, la Cruz EC, Guido-Villahermosa L, Felicio-Balagon MV, Steenbergen GJ, Douglas JT. 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 Mycobacteriology Diseases* 61: 192-198, 1993.
19. Chanteau S, Cartel JL, Guidi C, Plichart R, Bach MA. Seroepidemiological study on 724 household contacts of leprosy patients in French Polynesia using disaccharide-octyl-BSA as antigen. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 55: 626-632, 1987.
20. Chanteau S, Cartel JL, Roux J. [Leprosy serology: current status and perspectives]. *Acta Leprologica* 8: 65-70, 1992.
21. 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. *Journal of Infectious Diseases* 157: 770-776, 1988.
22. Chanteau S, Plichart R, Boutin JP, Roux J, Cartel JL. Finger-prick blood collection and computer-assisted enzyme-linked immunosorbent assay for large-scale serological studies on leprosy. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 83: 414-416, 1989.
23. Chaturvedi V, Sinha S, Girdhar BK, Katoch K, Bhatia AS, Sengupta U. Association of mycobacterial-specific and *Mycobacterium leprae* specific antibody levels with clinical activity in tuberculoid leprosy: a comparative study of three serological enzyme-immunoassays. *Leprosy Review* 62: 122-133, 1991.
24. Cho SN, Cellona RV, Fajardo TT Jr, Abalos RM, la Cruz EC, Walsh GP, Kim JD, Brennan PJ. Detection of phenolic glycolipid-I antigen and antibody in sera from new and relapsed lepromatous patients treated with various drug regimens. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 59: 25-31, 1991.
25. Cho SN, Cellona RV, Villahermosa LG, Fajardo TT Jr, Balagon MV, Abalos RM, Tan EV, Walsh GP, Kim JD, Brennan PJ. Detection of phenolic glycolipid I of *Mycobacterium leprae* in sera from leprosy patients before and after start of multidrug therapy. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 8: 138-142, 2001.
26. Cho SN, Yanagihara DL, Hunter SW, Gelber RH, Brennan PJ. Serological specificity of phenolic glycolipid I from *Mycobacterium leprae* and use in serodiagnosis of leprosy. *Infection and Immunity* 41:1077-1083, 1983.
27. Chujor CS, Bernheimer H, Levis WR, Schwerer B. Serum IgA1 and IgM antibodies against *Mycobacterium leprae*-derived phenolic glycolipid-I: a comparative study in leprosy patients and their contacts. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 59: 441-449, 1991.
28. Cunha MGS, Foss NT. Níveis de anti-PGL1 no soro de pacientes com hanseníase tratados com quinolona e poliquimioterapia. Dissertação de mestrado. Universidade de Ribeirão Preto, UNAERP, Brasil. 1998.
29. Cunha MD, Cavaliere FA, Hercules FM, Duraes SM, de Oliveira ML, de Matos HJ. The impact of leprosy elimination strategy on an endemic municipality in Rio de Janeiro State, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública* 23: 1187-1197, 2007.
30. Desforges S. Specific Anti-*M. leprae* PGL-1 Antibodies and Mitsuda Reactions in the Management of Household Contacts in New Caledonia. *International Journal of Leprosy* 57: 794-800, 1989.
31. Douglas J. Prospective study on the early detection of leprosy in household contacts in Cebu. Abstracts, 96<sup>th</sup> General Meeting of the American Society for Microbiology. 129, 1996.
32. 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. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 11: 897-900, 2004.
33. Douglas JT, Steven LM, Fajardo T, Cellona RV, Madarang MG, Abalos RM, Steenbergen GJ. The effects of chemotherapy on antibody levels in lepromatous patients. *Leprosy Review* 59: 127-135, 1988.
34. Douglas JT, Steven LM, Hirsch DS, Fujiwara T, Nelson KE, Madarang MG, Cellona RV. Evaluation of four semi-synthetic *Mycobacterium leprae* antigens with sera from healthy populations in endemic and non-endemic areas. *Leprosy Review* 63: 199-210, 1992.
35. Douglas JT, Worth RM. Field evaluation of an ELISA to detect antibody in leprosy patients and their contacts. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 52: 26-33, 1984.
36. Duppre NC, Camacho LAB, Buhner-Sekula S. Risco de desenvolver hanseníase em contatos de pacientes, segundo positividade ao teste anti PGL-I e situação vacinal (BCG) Fundação Oswaldo Cruz, 2008.
37. 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. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 56: 243-254, 1988.
38. Fine PE, Sterne JA, Ponnighaus JM, Bliss L, Sauji J, Chihana A, Munthali M, Warndorff DK. Household and dwelling contact as risk factors for leprosy in northern Malawi. *American Journal of Epidemiology* 146: 91-102, 1997.
39. Foss NT, Callera F, Alberto FL. Anti-PGL1 levels in leprosy patients and their contacts. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 26: 43-51, 1993.
40. Gelber RH, Li F, Cho SN, Byrd S, Rajagopalan K, Brennan PJ. Serum antibodies to defined carbohydrate antigens during the course of treated leprosy. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 57: 744-751, 1989.
41. Gonzalez-Abreu E, Pon JA, Hernadez P, Rodriguez J, Mendoza E, Hernandez M, Cuevas E, Gonzalez AB. Serological reactivity to a synthetic analog of phenolic glycolipid I and early detection of leprosy in an area of low endemicity. *Leprosy Review* 67: 4-12, 1996.
42. 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. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 58: 641-650, 1990.
43. Hunter SW, Brennan PJ. A novel phenolic glycolipid from *Mycobacterium leprae* possibly involved in immunogenicity and pathogenicity. *Journal of Bacteriology* 147:728-735, 1981.
44. Hussain R, Jamil S, Kifayet A, Firdausi F, Dockrell HM, 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 Mycobacteriology Diseases* 58: 491-502, 1990.
45. International Leprosy Association. *Epidemiology and Control*. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 70( (suppl I): S46-S52, 2002.

46. Klatser PR, Cho SN, Brennan PJ. The contribution of serological tests to leprosy control. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 64 (suppl 4): S63-S66, 1996.
47. Klatser PR, de Wit MY, Fajardo TT, Cellona RV, Abalos RM, de la Cruz EC, Madarang MG, Hirsch DS, Douglas JT. Evaluation of *Mycobacterium leprae* antigens in the monitoring of a dapsone-based chemotherapy of previously untreated lepromatous patients in Cebu, Philippines. *Leprosy Review* 60: 178-186, 1989.
48. Kumar B, Sinha R, Sehgal S. High incidence of IgG antibodies to phenolic glycolipid in non-leprosy patients in India. *Journal of Dermatology* 25: 238-241, 1998.
49. Levis WR, Meeker HC., Schuller-Levis G, Sersen E, Schwerer B. IgM and IgG antibodies to phenolic glycolipid I from *Mycobacterium leprae* in leprosy: insight into patient monitoring, erythema nodosum leprosum, and bacillary persistence. *Journal of Investigative Dermatology* 86: 529-534, 1986.
50. Lien RA, Faber WR, van Rens MM, Leiker DL, Naafs B, Klatser PR. 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* 63: 21-27, 1992.
51. Lyons NF, Shannon EJ, Ellis BP, Naafs B. Association of IgG and IgM antibodies to phenolic glycolipid-I antigen of *Mycobacterium leprae* with disease parameters in multibacillary leprosy patients. *Leprosy Review* 59: 45-52, 1988.
52. 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. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 55: 617-625, 1987.
53. Ministério da Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica. 6ª edição. Secretaria de Vigilância em Saúde, 2005.
54. Moet FJ, Meima A, Oskam L, Richardus JH. Risk factors for the development of clinical leprosy among contacts, and their relevance for targeted interventions. *Leprosy Review* 75: 310-326, 2004.
55. Nicholls PG, Bakirtzief Z, Van Brakel WH, Das-Pattanaya RK, Raju MS, Norman G, Mutatkar RK. Risk factors for participation restriction in leprosy and development of a screening tool to identify individuals at risk. *Leprosy Review* 76: 305-315, 2005.
56. Oliveira MLW. Cura da Hanseníase: Magnitude das recidivas no Brasil, estudo de coortes de diferentes esquemas terapêuticos e fatores de risco. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1996.
57. Parkash O, Kumar A, Pandey R, Nigam A, Girdhar BK. Performance of a lateral flow test for the detection of leprosy patients in India. *Journal of Medical Microbiology* 57: 130-132, 2008.
58. Payne SN, Draper P, Rees RJ. Serological activity of purified glycolipid from *Mycobacterium leprae*. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 50: 220-221, 1982.
59. Petchclai B, Khupulsup K, Hiranras S, Sampatavanich S, Sampoonachot P, Leelarusamee A. A passive hemagglutination test for leprosy using a synthetic disaccharide antigen. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 56: 255-258, 1988.
60. Prakash K, Sehgal VN, Aggarwal R. Evaluation of phenolic glycolipid-I (PGL-I) antibody as a multidrug therapy (MDT) monitor. *Journal of Dermatology* 20: 16-20, 1993.
61. Ravindran R, Anam K, Bairagi BC, Saha B, Pramanik N, Guha SK, Goswami RP, Banerjee D, Ali N. Characterization of immunoglobulin G and its subclass response to Indian kala-azar infection before and after chemotherapy. *Infection and Immunity* 72: 863-870, 2004.
62. Rego VP, Machado PR, Martins I, Trindade R, Parana R. [Type I reaction in leprosy: characteristics and association with hepatitis B and C viruses]. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 40: 546-549, 2007.
63. Roche PW, Britton WJ, Failbus SS, Neupane KD, Theuvenet WJ. Serological monitoring of the response to chemotherapy in leprosy patients. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 61: 35-43, 1993.
64. Roche PW, Failbus SS, Britton WJ, Cole R. Rapid method for diagnosis of leprosy by measurements of antibodies to the *M. leprae* 35-kDa protein: comparison with PGL-I antibodies detected by ELISA and "dipstick" methods. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 67: 279-286, 1999.
65. Roche PW, Theuvenet WJ, Britton WJ. Risk factors for type-I reactions in borderline leprosy patients. *Lancet* 338: 654-657, 1991.
66. Saad MH, Medeiros MA, Gallo ME, Gontijo PP, Fonseca LS. IgM immunoglobulins reacting with the phenolic glycolipid-I antigen from *Mycobacterium leprae* in sera of leprosy patients and their contacts. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 85:191-194, 1990.
67. Schuring RP, Moet FJ, Pahan D, Richardus JH, Oskam L. Association between anti-pGL-I IgM and clinical and demographic parameters in leprosy. *Leprosy Review* 77: 343-355, 2006.
68. Schuring RP, Richardus JH, Steyerberg EW, Pahan D, Faber W, Oskam L. Preventing nerve function impairment in leprosy: validation and updating of a prediction rule. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2008 2: e283, 2008.
69. Soares DJ, Failbus S, Chalise Y, Kathet B. The role of IgM antiphenolic glycolipid-I antibodies in assessing household contacts of leprosy patients in a low endemic area. *Leprosy Review* 65: 300-304, 1994.
70. Soebono H, Klatser PR. A seroepidemiological study of leprosy in high- and low-endemic Indonesian villages. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 59: 416-425, 1991.
71. Stefani MM, Martelli CM, Morais-Neto OL, Martelli P, Costa MB, de Andrade AL. Assessment of anti-PGL-I as a prognostic marker of leprosy reaction. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 66: 356-364, 1998.
72. Sticht-Groh V, Alvarenga AE, Vettom L, von Ballestrem W. Use of a different buffer system in the phenolic glycolipid-I ELISA. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 60: 570-574, 1992.
73. Sulcebe G, Nakuci M. Anti-phenolic glycolipid I IgM antibodies in leprosy patients and in their household contacts. *Leprosy Review* 61: 341-346, 1990.
74. Tomimori-Yamashita J, Nguyen TH, Maeda SM, Flageul B, Rotta O, Cruaud P. Anti-phenolic glycolipid-I (PGL-I) determination using blood collection on filter paper in leprosy patients. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 41: 239-242, 1999.
75. Ulrich M, Smith PG, Sampson C, Zuniga M, Centeno M, Garcia V, Manrique X, Salgado A, Convit J. 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. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 59: 405-415, 1991.
76. van Beers SM, de Wit MY, Klatser PR. The epidemiology of *Mycobacterium leprae*: recent insight. *FEMS Microbiology Letter* 136: 221-230, 1996.
77. van Beers SM, Hatta M, Klatser PR. Patient contact is the major determinant in incident leprosy: implications for future control. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 67: 119-128, 1999.
78. 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. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 62: 1-9, 1994.
79. Van Brakel WH. Disability and leprosy: the way forward. *Annals Academy of Medicine Singapore* 36: 86-87, 2007.
80. van Beers S, Hatta M, Klatser PR. Seroprevalence rates of antibodies to phenolic glycolipid-I among school children as an indicator of leprosy endemicity. *Annals Academy of Medicine Singapore* 67: 243-249, 1999.
81. World Health Organization. Expert Committee on Leprosy, Fourth Report. Report No.: 459, 1970.
82. World Health Organization. Expert Committee on Leprosy, Seventh Report. Geneva: World Health Organization, Report No.: 874, 1998.
83. World Health Organization. Global leprosy situation, 2007. *Weekly Epidemiological Record* 82: 225-232, 2007.
84. Wu Q, Yin Y, Zhang L, Chen X, Yu Y, Li Z, Yu H, Lu C, Feng S, Li X, Huo W, Ye G. A study on a possibility of predicting early relapse in leprosy using a ND-O-BSA based ELISA. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 70: 1-8, 2002.
85. Wu QX, Ye GY, Li XY. Serological activity of natural disaccharide octyl bovine serum albumin (ND-O-BSA) in sera from patients with leprosy, tuberculosis, and normal controls. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 56: 50-55, 1988.
86. Yamashita JT, Cruaud P, Papa F, Rotta O, David HL. Circulating immune complexes in leprosy sera: demonstration of antibodies against mycobacterial glycolipidic antigens in isolated immune complexes. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 61: 44-50, 1993.