

APLICAÇÃO DO TESTE ELISA ANTI-PGL-1 EM LOCALIDADE COM ALTA ENDEMICIDADE DE HANSENÍASE, NA REGIÃO NORTE DO ESTADO DE SÃO PAULO

Mitie Tada L.R.F. Brasil¹
Luiz Roberto de Oliveira²
Carmen Silvia de Melo³
Paulo Mutuko Nakamura⁴
Nelly S. Rimoli⁵
Sérgio Cavalari F.⁶
Márcia B. Oliveira⁷
Vera L. Gattás⁸
Otília S. J. Gonçalves⁹
Osmar Rotta¹⁰

RESUMO - Testes sorológicos para diagnóstico de hanseníase utilizando o antígeno glicolípido fenólico-1 (PGL-1) abriram várias possibilidades para o estudo do comportamento epidemiológico dessa doença. O objetivo do trabalho foi avaliar os resultados da aplicação do teste Elisa anti-PGL-1 em uma comunidade urbana com alta endemicidade de hanseníase no estado de São Paulo. Nela se conseguiu, na época do estudo, coeficientes de detecção e prevalência de 27,1 e 167,2 casos por 10.000 habitantes, respectivamente. Foram recenseados 8.491 residentes na área urbana e destes 6.666 foram avaliados com o teste Elisa IgM anti-PGL1. A sorologia se revelou positiva em 9,0% da população geral, sendo que, para as mulheres, a taxa de positividade encontrada foi de 10,1 % e para os homens de 7,6%. A soropositividade observada entre as mulheres foi maior em quase todas as faixas de idade, exceto na de 50 anos e mais. Entre os doentes registrados a taxa de soropositividade foi de 22,6%. A alta proporção de pessoas clinicamente sadias com sorologia positiva pode indicar infecção subclínica. Algumas questões não puderam ser respondidas neste estudo: quais destes indivíduos poderão vir a manifestar a doença e em quanto tempo. Falta avaliar a sorologia em situação de média e baixa endemia. A baixa sensibilidade do teste prejudica sua adoção indiscriminada para diagnóstico na rotina dos programas de controle. Concluiu-se, entretanto, por não descartá-lo como objeto de pesquisa, aprimorando sua sensibilidade, especificidade e tornando-o de baixo custo. Desse modo, poder-se-ia dispor de mais um instrumento nas atividades do controle e eliminação da hanseníase.

Palavras-chave: Hanseníase. Epidemiologia. Endemias. Glicolípido fenólico-1 (PGL-1). Elisa.

Parte da Tese de Mestrado (área de Dermatologia) "Estudo soroepidemiológico de hanseníase em área de alta endemicidade no Estado de São Paulo" apresentada à Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo, em 1995.

¹Centro de vigilância Epidemiológica Prof. A. Vranjac - SES - SP; Dep. Saúde Pública - FMUNESP Botucatu - SP; ²Instituto Adolfo Lutz - SES - SP; ³CS Severínia; CADAIS - SES - SP; ⁴Dep. Dermatologia - Esc. Paulista de Medicina - UNIFESP.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo país do mundo em número absoluto de casos de hanseníase, perdendo apenas para a Índia. Em prevalência e detecção lidera os países endêmicos das Américas.

A endemia hanseniana no estado de São Paulo apresentou importante queda na prevalência entre 1993 e 1996, devido a plena implementação da poliquimioterapia (PQT/OMS). No entanto as taxas de detecção vem se mantendo. Apresenta algumas regiões em seu interior com coeficientes bastante altos, semelhantes aos da Amazônia, considerada área de alta endemicidade. Alguns municípios das regiões de Ribeirão Preto, Barretos e Presidente Prudente mostram indicadores de alta transmissão, ao contrário da região da Grande São Paulo^{29,30}. A hanseníase, portanto, não tem distribuição uniforme em todo o estado e as explicações para este comportamento ainda não são muito claras. As diferenças sócio-econômicas, de saneamento básico, étnicas e outras poderiam estar influenciando este comportamento, mas apesar do razoável volume de pesquisa epidemiológica na hanseníase, ainda não se conhece a real importância de cada um desses fatores.

Outro aspecto relacionado com a transmissão, que vem sendo estudado por meio de medidas indiretas, é a infecção subclínica e a relação entre taxa de infectados e taxa de doentes. Quantas pessoas se infectam e quantas manifestam a doença e quais os mecanismos que levam alguns indivíduos a adoecer e outros não, são questões colocadas sempre que se propõe estudar o comportamento da endemia hanseniana. A falta de instrumentos adequados para o diagnóstico da infecção, traz sérias limitações ao estudo da compreensão do fenômeno hanseniano, pois o que se conhece se encontra principalmente acima do horizonte clínico.

A descrição do antígeno específico do *M. leprae*, o glicolípido fenólico 1 (PGL-1)

por Hunter & Brenna¹⁹ e a obtenção de quantidades suficientes, trouxe novas perspectivas para o estudo epidemiológico da hanseníase.

Os testes cutâneos, como o teste de Mitsuda¹³, antígeno solúvel³, teste de Rubino⁴ apresentam problemas de especificidade ou de sensibilidade, tendo, conseqüentemente, pequeno uso em estudos soroepidemiológicos.

Foram relatados o encontro de bacilos em exames de esfregaços de pele, realizados em contatos de doentes de hanseníase^{11,32}, persistindo a dúvida se estes bacilos poderiam se constituir em infecção assintomática. Outros estudos usando transformação linfo-blástica são de difícil execução em larga escala¹⁷. A mensuração da infectividade poderia trazer maiores subsídios à compreensão dos mecanismos de transmissão e de passagem do estado de latência para o de doença manifesta e também para outros estudos epidemiológicos de interesse para o controle.

O teste de Elisa usando o antígeno PGL1, desenvolvido em vários centros de pesquisa e a possibilidade de se realizar grande número de testes proporcionou a oportunidade de se avaliar esse instrumento diagnóstico em grupos populacionais. Vários estudos mostraram que existem diferentes taxas de soropositividade nas comunidades endêmicas de hanseníase^{2,7,10,11,12,16,26}.

Outro estudo mostrou que entre contatos de hanseníase também existe um grupo que apresenta resposta positiva ao teste com PGL-1^{19,22}. Não distinguir entre contato e não-contato, assim como não ter utilidade para o diagnóstico pré-clínico e o prognóstico sobre qual forma clínica surgirá se a infecção evoluir para doença são algumas questões que a sorologia ainda não conseguiu responder³¹.

Diante dos resultados observados na época e as oportunidades que a sorologia anti-PGL-1 poderia acrescentar às atividades de controle da doença, foi elaborado este estudo para avaliar o comportamento desta técnica em uma localidade considerada de alta endemicidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização da área de estudo:

1. Município de Severínia

O município de Severínia, localizado na região norte do estado de São Paulo, pertence a Regional de Saúde de Barretos, originalmente era um distrito do município de Olímpia, do qual dista 10 km. É ligado por estradas asfaltadas aos principais centros comerciais da região, como Barretos, Ribeirão Preto e São José do Rio Preto. A economia do município se baseia em atividades agroindustriais, principalmente da cana-de-açúcar e laranja. O município tem 132 Km², fica a 602 metros de altitude e dista 483 Km da capital do estado.

A projeção populacional de 1988 estimava 9.048 habitantes, sendo 4.681 homens, 4.367 mulheres e o número de eleitores era de 6.282. O índice de natalidade era de 26,86 por 1.000; a mortalidade geral de 7 por 1.000; e a mortalidade infantil, de 28,81 por 1.000 nascidos vivos²⁸.

A grande maioria da população reside em área urbana, que pode ser estimada em mais de 73% do total do município. Apesar disso, a mão-de-obra economicamente ativa estava quase totalmente empregada no trabalho rural.

A principal atividade econômica da maior parte da população está vinculada às colheitas da cana ou laranja. O período de grande atividade de trabalho situa-se entre os meses de junho a março. Nos últimos 10 anos, a cidade recebeu razoável contingente de trabalhadores de outros estados e outras regiões do próprio estado.

Quanto aos serviços de saúde e de assistência social, em 1989, no início dos estudos soropidemiológicos, o município dispunha de um centro de saúde e um pronto-socorro municipal. Havia uma creche e um asilo para idosos. Havia 4 escolas públicas de 1º e 2º graus, com um total de 2.000 alunos matriculados. A área urbana da cidade dispõe

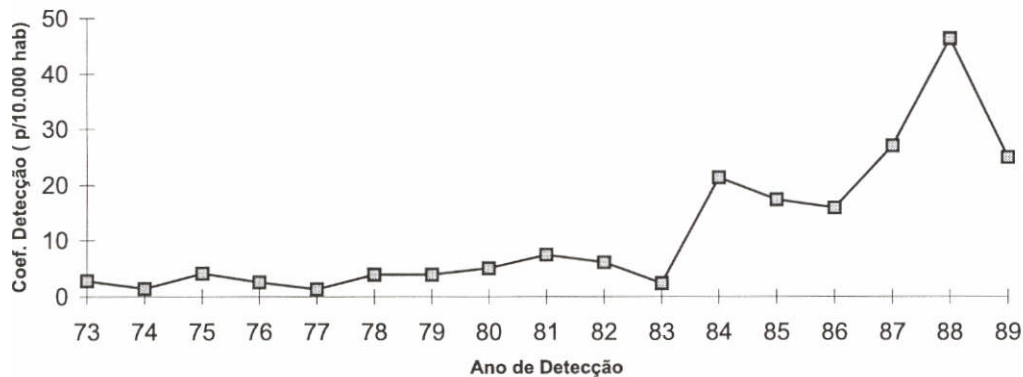
de 1.550 ligações residenciais de água encanada e 1.540 ligações residenciais de esgoto²⁸. Apresenta ruas largas, praticamente todas asfaltadas, de traçado regular, arborizadas e a limpeza urbana pode ser considerada de boa qualidade.

Quanto à qualidade das moradias dos setores mais antigos da cidade, que são construídas em alvenaria e encontram-se em bom estado de conservação, são amplas e com grandes áreas livres. Outra importante parcela da cidade é constituída por conjuntos habitacionais populares. O comércio da cidade atende às necessidades básicas da população. Conta-se com algumas agências bancárias. As atividades sociais estão ligadas às igrejas e ao clube da cidade.

2. Endemia hanseníase no município de Severínia

Os indicadores epidemiológicos de Severínia a colocavam entre os municípios com os mais altos coeficientes de detecção e prevalência de hanseníase do estado de São Paulo, comparável aos indicadores das regiões norte e centro-oeste do país. A endemia hanseníase no município de Severínia, até 1984, apresentava coeficientes de detecção com valores em torno de 3,0 casos por 10.000 habitantes; a partir desse ano, aparentemente por melhora operacional, observou-se abrupto aumento dos diagnósticos, elevando esse coeficiente para 20,0 por 10.000, nível que se vem mantendo (gráfico I).

Comparando-se os anos entre 1984 a 1989, houve um aumento substancial de casos novos detectados em relação ao período de 1973 a 1983, ou seja, quatro vezes maior. O aumento verificou-se em todas as formas clínicas. O aumento na detecção, a partir de 1984, decorreu provavelmente da melhora operacional, com o atendimento do programa feito de forma mais sistemática e por especialista. Também houve implementação da vigilância de contatos e aumento na demanda da dermatologia geral.

Gráfico I. Coeficiente de detecção de hanseníase, município de Severínia, São Paulo, 1973 - 89.

Fonte :CIS - SES (FOR)

CVE - DIV. HANSENÍASE (CASOS)

Como a área urbana do município foi a escolhida para o estudo de sorologia, foram excluídos todos os casos detectados na área rural e aqueles que faleceram antes da pesquisa, num total de 15.

Em 1989, todos os 23 casos novos diagnosticados residiam em área urbana. Com os dados disponíveis de população urbana, foi possível calcular os coeficientes de detecção dos anos de 1980, 1985, 1988 e 1989, a saber: 4,5; 21,8; 53,1 e 27,1/10.000, respectivamente. Fica claro um aumento substancial desses coeficientes, desde de 1984.

A razão homem/mulher (H/M) encontrada entre os casos novos detectados no período de 1973 a 1989 foi de 1,4, sendo que a razão entre os sexos para a forma virchowiana (H/M) foi de 2,3. Em relação à idade dos casos no momento do diagnóstico, o maior coeficiente observado foi acima de 60 anos. As mulheres apresentaram 58,3% dos casos tuberculóides e os homens 72,1% dos casos virchowianos.

No grupo de contatos intradomiciliares, desde janeiro de 1973 até dezembro de 1989, adoeceram 24 pessoas, sendo que 15 entre contatos de paucibacilares e 9 entre os de multibacilares. Do total de 153 casos diagnosticados até então, 129 não eram contatos intradomiciliares no momento do diagnóstico.

Em 31.12.89, do registro ativo da Unidade de Saúde constavam 155 doentes, sendo que, destes, 39 estavam em abandono de tratamento há mais de um ano (25,2%). Do total de casos, 142 residiam na área urbana. A taxa de prevalência resultou 167,2 casos/10.000 habitantes. Estes dados confirmam a situação de alta endemicidade do município de Severínia, com importante componente urbano.

Fases do projeto:

1. Censo

Foi realizado inicialmente um censo populacional entre os meses de outubro a novembro de 1989, na área urbana de Severínia, com o objetivo de identificar moradias e o número de habitantes, segundo idade e sexo. Isto era importante, pois o último censo realizado tinha sido em 1980 e os dados estimados podiam estar distante da realidade. Foi definido no início das atividades, que a cidade seria dividida em 6 setores, arbitrariamente estipulados para facilitar o trabalho do censo.

A identificação dos habitantes e sua localização era importante para a fase de coleta das amostras de sangue.

Os dados coletados no censo foram armazenados em um arquivo informatizado. Em seguida a esta fase, foram emitidas as etiquetas com a identificação do morador acima de 5 anos e o endereço do domicílio. A definição da idade de 5 anos como limite inferior foi no intuito de facilitar a coleta de amostras de sangue no campo e baseava-se, também, no conhecimento clínico-epidemiológico da hanseníase referente ao longo período de incubação e a não-ocorrência usual de casos abaixo dessa idade.

A área urbana do município foi delimitada como área de estudo devido a facilidades operacionais e considerando também, o fato de que a maior proporção de casos ocorria nesta área, como mostrado anteriormente na análise da situação da epidemia.

2. Laboratório

A segunda fase do trabalho de campo, seguindo-se ao censo demográfico, constituiu-se na obtenção das amostras de soro para realização do teste de Elisa, que dosa imunoglobulina M anti-PGL-1. Foi realizado novo trabalho educativo junto à comunidade, explicando-se novamente os objetivos e solicitando a cooperação da população para a coleta de amostras de sangue. As amostras coletadas eram enviadas ao laboratório local para centrifugação e acondicionamento em frascos próprios e armazenados e mantidos à temperatura de -20° C até a realização dos testes no Laboratório Central do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo.

A terceira fase correspondeu à análise laboratorial das amostras de soro coletado, usando técnica de Elisa desenvolvida pelo Instituto de Medicina Tropical, Cuba, denominada sistema de ultramicroanálise (SUMA), de acordo com a metodologia descrita por Laferte *et al*²⁴ Este teste detecta a presença de anticorpos da classe IgM usando um dissacárido semi-sintético, acoplado a uma proteína.

Nas tabelas onde se usa a terminologia soropositivo ou soronegativo, o limiar de reatividade adotado é igual ou maior do que 0,300. A definição do limiar de reatividade de 0,300 para soropositivos está descrito por Brasil *et al.*^o Este limiar de reatividade definiu a sensibilidade em 45,2% para todas as formas clínicas, sendo 64,3% para os casos virchowianos, 18,2% para os tuberculóides, 40,0% para os dimorfos e 57,1% para os indeterminados.

3. Dados

Os dados referentes aos casos de hanseníase foram obtidos no arquivo da Unidade de Saúde e na Divisão de Vigilância da hanseníase do Centro de Vigilância Epidemiológica Prof. A. Vranjac da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (CVE). Os dados de população usados para caracterização de epidemia no período de 1973 a 1989, foram obtidos junto ao Centro de Informações em Saúde da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (CIS), que usa a base fornecida pela Fundação Sistema Estadual de Análises de Dados (SEADE). O censo realizado por este estudo forneceu os dados de população da área urbana do município.

Os dados, tanto do censo como da análise laboratorial, foram processados em microcomputador, usando banco de dados padrão Dbase e analisados utilizando os programas Epi-Info e o Dbscan. Foram calculados os coeficientes específicos de soropositividade por idade e sexo. Não foram feitos testes estatísticos, por se considerá-los desnecessários a abrangências universais. Os coeficientes de detecção e prevalência foram calculados para 10.000 habitantes para facilitar comparações, especialmente com o parâmetro proposto pela Organização Mundial da Saúde (OMS), menor que 1 caso por 10.000 habitantes, para a meta de eliminação da hanseníase.

RESULTADOS

Censo populacional:

A população da área urbana de Severínia encontrava-se distribuída por 1.897 domicílios, 101 quadras e 6 setores arbitrariamente definidos. Contaram-se 8.491 habitantes, sendo 4.123 (48,6%) mulheres e 4.368 (51,4%) homens. Cento e cinquenta e três habitantes eram portadores de hanseníase, o que resultou numa prevalência instantânea de 1,8% ou 180 casos por 10.000 habitantes.

Censo sorológico:

Dos 8.491 habitantes da área urbana de Severínia, 922 não foram incluídos no estudo por terem idade inferior a cinco anos. Dos 7.569 remanescentes, entraram no estudo 6.666 habitantes, uma vez que 903 pessoas não fizeram o teste sorológico, o que resultou numa perda média de 11,9%, sendo de 14,1% entre os homens e de 9,6% entre as mulheres (tabela I). Dos 153 doentes pertencentes à população estudada, fez-se sorologia em 146, o que corresponde a uma perda de 4,6%.

Tabela I. População com idade igual ou superior a cinco anos, distribuída segundo o sexo e a realização do exame sorológico. Severínia-SP, 1990.

EXAME SOROLÓGICO	HOMENS N (%)	MULHERES N (%)	TOTAL * N (%)
REALIZADO	3.373 (85,9)	3.293 (90,4)	6.666 (88,1)
PERDA	553(14,1)	350(9,6)	903(11,9)
TOTAL (%)	3.926 (100) (51,9)	3.643 (100) (48,1)	7.569 (100) (100)

Nota: (*) inclui 153 doentes, dos quais 146 fizeram sorologia

O perfil sorológico da população foi traçado por distribuições de freqüências de seus componentes doentes, não doentes e geral, pelas diferentes faixas de reatividade do teste (tabelaII, gráfico II). Doentes são os casos que foram registrados na Unidade de Saúde entre os anos de 1973 e 1989. Do total de 153 casos da área urbana registrados até então, 7 doentes não fizeram o teste sorológico, resultando em 146 sorotestados. Considerando-se as faixas de reatividade do teste e

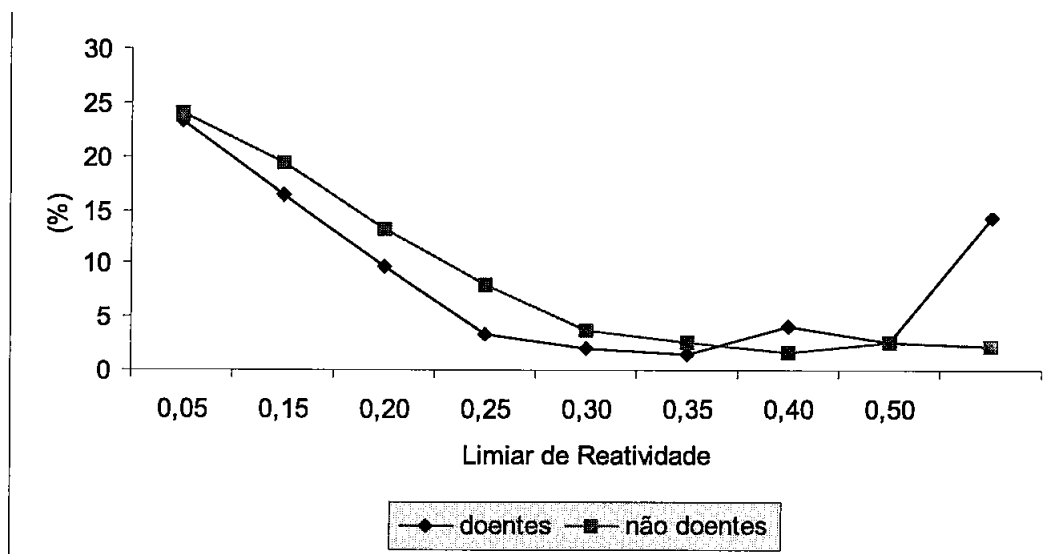
excluindo-se os casos conhecidos na época do censo, os sádios que fizeram sorologia totalizaram 6.520.

Observa-se, na tabela II e gráfico II, que até a faixa de reatividade de 0,300 a 0,350 doentes e não-doentes apresentam perfil sorológico semelhante, embora os não doentes encontrem-se em proporções maiores; acima deste limiar de reatividade a sorologia dos doentes "descola-se" da dos não-doentes e passa a apresentar, proporcionalmente, maiores freqüências.

Tabela II. Distribuição das respostas sorológicas nos doentes em registro ativo em 31/12/89 e na população geral com cinco ou mais anos de idade. Severínia - SP, 1990.

FAIXA DE REATIVIDADE	DOENTES		NÃO-DOENTES		POPULAÇÃO GERAL	
	f	%	f	%	f	%
<0,050	33	22,6	1470	22,5	1503	22,5
0,050 I- 0,100	34	23,3	1562	24,0	1596	23,9
0,100 I- 0,150	24	16,4	1261	19,3	1285	19,3
0,150 I- 0,200	14	9,6	865	13,3	879	13,2
0,200 I- 0,250	5	3,4	528	8,1	533	8,0
0,250 I- 0,300	3	2,1	244	3,7	247	3,7
0,300 I- 0,350	2	1,4	167	2,6	169	2,5
0,350 I- 0,400	6	4,1	104	1,6	110	1,7
0,400 I- 0,500	4	2,7	170	2,6	174	2,6
>= 0,500	211	4,4	149	2,2	170	2,6
Total	146	100,0	6520	100,0	6666	100,0

F= freqüência

Gráfico II. Distribuição percentual de doentes e não-doentes, segundo faixas de reatividade de serologia anti-PGL-1, na população geral com 5 ou mais anos de idade. Severínia - SR 1990.

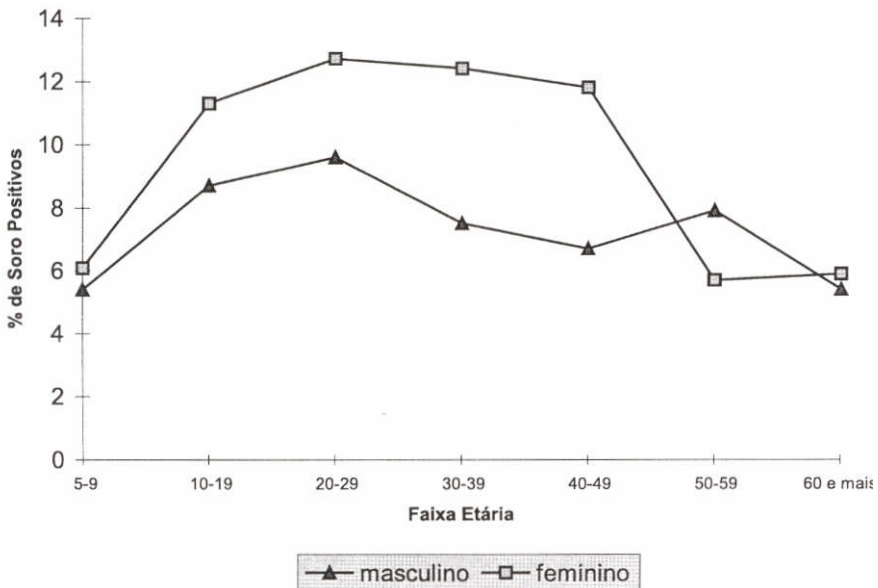
Considerou-se positiva, ou reagente, toda sorologia situada na faixa de reatividade igual ou maior que 0,300, o que resultou em 9,4% de soropositividade na população geral, em 7,6% nos homens e 10,1% nas mulheres.

As maiores freqüências de soropositividade observaram-se nas faixas etárias situadas entre 1() e 50 anos, sendo esta distribuição mais visível nas mulheres (tabela III, gráfico III).

Tabela III. Distribuição dos resultados sorológicos anti-PGL-1, positivos segundo sexo-e faixa etária, Severínia-SP,1 990.

IDADE (anos)	HOMENS			MULHERES		
	n total	f soro+	% soro +	n total	f soro +	% soro +
05 — 10	448	24	5,4	460	28	6,1
10 — 20	779	67	8,6	807	91	11,3
20 — 30	805	76	9,4	732	92	12,6
30 — 40	542	39	7,2	473	57	12,1
40 — 50	307	20	6,5	334	38	11,4
50 — 60	250	19	7,6	237	13	5,5
60 e +	242	12	4,9	250	14	5,6
Total	3.373	257	7,6	3.293	333	10,1

Gráfico III. Positividade da sorologia anti-PGL-1 na população geral, com idade igual ou superior a cinco anos, segundo sexo e faixa etária. Severínia-SP,1990.



BRASIL, M.T.L.R.F., et al. Aplicação do teste Elisa anti-PGL-1 em localidade com alta endemicidade de hanseníase na região norte do estado de São Paulo. (A.O.)

Quando se considerou a população segundo a presença da hanseníase, observou-

se uma soropositividade de 9,0% nos não doentes e de 22,6% nos doentes (tabela IV).

Tabela IV. Distribuição percentual da população com 5 anos de idade segundo a soropositividade e a presença de hanseníase. Severínia-SP, área urbana, 1990.

SOROLOGIA	DOENTES (%)	NÃO-DOENTES (%)	TOTAL (%)
POSITIVA	22,6	9,0	9,4
NEGATIVA	77,4	91,0	90,6
TOTAL (n)	100,0 (146)	100,0 (6.520)	100,0 (6.666)

Dos 146 doentes que foram submetidos à sorologia, 50% eram da forma indeterminada. O maior percentual de

soropositividade observado, em relação às formas clínicas, foi da ordem de 43% no grupo de dimorfos (tabela V).

Tabela V. Distribuição de doentes de hanseníase pertencentes à população de 5 anos de idade (n=146), segundo forma clínica e sorologia anti-PGL1. Severínia-SP, área urbana, 1990.

FORMA CLINICA N (%)	SOROPOSITIVOS N (%)	SORONEGATIVOS N (%)	TOTAL N (%)
Indeterminada	11 (15,1)	62 (84,9)	73 (100)
Virchowiana	15 (35,7)	27 (64,3)	42 (100)
Tuberculóide	4 (16,7)	20 (83,3)	24 (100)
Dimorfa	3 (42,9)	4 (57,1)	7 (100)
TOTAL	33 (22,6)	113 (77,4)	146 (100)

Considerando-se, no entanto, o diminuto tamanho do grupo de doentes dimorfos, o que não nos permite tirar conclusões seguras, deve-se

ressaltar que o grupo virchowiano foi o que apresentou o maior percentual de soropositividade (36%) e o tubercubide, o menor [17%).

DISCUSSÃO

Estudos populacionais, mesmo em um município de pequeno porte como Severínia, apresentam grandes dificuldades para sua operacionalização. No entanto, as dificuldades podem ser superadas quando existe interesse e ativa participação da comunidade

e, neste caso, pode ser demonstrada pela pequena perda ocorrida na coleta de amostras.

A realização de algumas etapas como o censo da população, se justificava, pois o último realizado pelo IBGE datava de 1980 e as estimativas da população, para 1989 poderiam estar defasadas, interferindo no

planejamento e prejudicando a fase de execução. Esta atividade se constituiu na primeira fase do projeto e serviu, também, para a correta identificação dos habitantes e domicílios, necessária à estratégia adotada para coleta de amostras de sangue para sorologia.

O censo apontou pequeno predomínio do sexo masculino em relação ao feminino entre 20 a 40 anos, talvez indicando que a região atraía mão-de-obra principalmente desta faixa etária, para o trabalho rural e a agroindústria. Não observou grandes diferenças com a estimativa populacional do SEADE, que também mostrava discreto predomínio do sexo masculino. A importância do censo foi a correta identificação dos domicílios e dos habitantes para a fase de coleta. A densidade intradomiciliar, observada por este censo, foi de 4,5 habitantes por residência, maior do que a média do estado (Anuário Estatístico do Estado de São Paulo, 1988), que era de 3,9 para as áreas urbanas.

Segundo o censo do IBGE de 1980, 43,0% da população do município residia em área rural e, em 1985 esta proporção caiu para 33,0% e, em 1991 era de 21,2%, indicando o êxodo rural que ocorreu nesta última década. Talvez isto explique também o aumento súbito de casos diagnosticados a partir de 1984, já que o deslocamento para a cidade facilitou o acesso aos serviços de saúde, dos casos que, até então, residiam no campo. Como a hanseníase é doença crônica de longo período de incubação, provavelmente os casos se infectaram no campo e vieram a manifestar os sinais clínicos ou foram diagnosticados quando já residiam na cidade. Para substanciar estas suposições há necessidade de outros estudos com enfoque para procedência, naturalidade, mobilidade de cada caso diagnosticado, etc.

Ao analisar o gráfico I, nota-se que o grande aumento dos casos se deu de 1984 em diante e continuou em patamares altos até 1989. À semelhança de outros estudos, o sexo feminino apresentou maior proporção de formas tuberculóides, enquanto o sexo masculino de formas virchowianas²⁷.

O maior coeficiente específico por idade foi observado no grupo maior de 60 anos. Comparando com estudo realizado entre 1936 e 1944, que encontrou o maior coeficiente específico no grupo etário de 30 a 40 anos, pode-se supor que houve deslocamento dos coeficientes para faixas etárias mais altas. Estas observações são geralmente encontradas em áreas com a endemia em declínio²⁰ o que não parece ser o caso do município em estudo. Talvez a explicação esteja relacionada com o perfil demográfico do estado de São Paulo, que sofreu mudanças importantes nas últimas décadas ou com as alterações ocorridas na estrutura epidemiológica da hanseníase.

A introdução do antígeno PGL-1, específico do *M. leprae*, acenou com possibilidades interessantes para as pesquisas epidemiológicas. Como a maioria dos estudos em hanseníase demanda longo tempo de observação, os primeiros experimentos começaram a apresentar resultados no final da década de 80 e início de 90.

Os trabalhos em geral mostraram que os testes usando este antígeno apresentavam baixa sensibilidade e alta especificidade, o mesmo tendo sido observado neste estudo. A sensibilidade do teste de Elisa utilizado neste trabalho no limiar de reatividade de 0,300, foi menor do que na maioria de outros estudos". Mostrou, no entanto, alta especificidade, ou seja, restringiu bastante os falsos positivos, o que para estudos de infecção subclínica e a sua relação com o aparecimento da doença se considera uma característica bastante desejável^{14,23}.

Os variados métodos laboratoriais e de análise dos dados usados pelos vários autores podem ter influenciado nas diferenças observadas na sensibilidade e especificidade descritos por estes estudos^{6,9,16,18,22,31}.

O PGL-1, por se tratar de antígeno que estimula basicamente IgM1s pode ser dosado após 20 anos de doença, nos doentes que apresentam estímulo contínuo. No caso de indivíduos sadios expostos ao *M. leprae*, que apresentam sorologia positiva anti-PGL-1 pode - se supor que estejam infectados²⁶.

podendo ou não desenvolver a doença, dependendo de como seu organismo reage a esta infecção. Caso a soropositividade possa ser traduzida como infecção subclínica, quais os fatores que estariam associados a esta condição para se definir a probabilidade de adoecer de uma pessoa infectada?

Neste estudo, as perdas ocorridas na coleta e realização da sorologia é bem próxima corrida no estudo de Soebono *et al.*³¹, com 9% e no de Groenen *et al.*¹⁸, no Zaire com 13,8%. As perdas ocorreram no sexo masculino, nas faixas etárias de 20 a 50 anos, e pode ser explicada pelo fato de que a coleta precisava ser realizada em jejum e os horários de coleta tiveram que ser antecipados para a madrugada, o que se constituiu em importante obstáculo para as equipes de campo. Deve-se considerar que as perdas diferenciadas podem ter influído nos resultados observados como, por exemplo, na maior proporção de soropositivos entre as mulheres do entre os homens.

A baixa proporção de soropositivos entre os doentes (22,6%), observado em Severínia, pode ser explicada pelo fato de estarem em tratamento e, alguns deles, há vários anos. Segundo alguns trabalhos, existe tendência de reversão sorológica com o tratamento^{5,15,21}. A motivação maior entre os doentes pode explicar em parte a pequena perda que ocorreu neste grupo.

Os resultados foram avaliados usando também, vários limiares de reatividade. Estas maneiras distintas de analisar os resultados, segundo cada autor, podem estar influindo nas diferenças observadas entre os estudos.

Em Severínia, encontrou-se 9,0% de soropositivos na população considerada sadia.

Esta proporção de soropositivos é bem maior do que a de casos prevalentes e casos detectados no ano de maior pico de diagnóstico. Este resultado está dentro da faixa de soropositividade encontrada em estudos semelhantes, que variou de 32,0%⁷ a 2,3 % no Zaire¹⁸. Outros estudos como de Fine *et al.*¹⁶, analisaram os resultados em função e diferentes limiares de reatividade do teste,

obtendo soropositividade entre 10 a 30% dos sadios. Na Indonésia³¹ foi realizado estudo comparando áreas de alta, média e baixa endemia de hanseníase e encontrou-se que a taxa de soropositivos era maior na área com a menor prevalência.

Quanto as taxas de soropositividade segundo sexo, as mulheres apresentaram maior percentual (10,5%) do que os homens (7,8%), principalmente nas faixas etárias entre 20 a 50 anos, com inversão apenas na faixa de 60 anos e mais (gráfico III). Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Fine *et al.*¹⁶, e por Krishnamurthy *et al.*²² outros estudos não evidenciaram diferença de soropositividade entre os sexos^{6,31}.

Esta proporção maior de soropositividade entre as mulheres observada em alguns estudos poderia estar relacionada com resposta humoral aumentada nas mulheres em relação aos homens. Ainda se poderia supor que as mulheres se infectariam mais e adoeceriam menos, considerando-se que, na maioria dos estudos, a ocorrência de formas tuberculóides é no sexo feminino.

Apesar das diferenças observadas entre os estudos, em quase todos, com exceção do Zaire, foi encontrado um contingente de indivíduos sem sinais clínicos da hanseníase, que apresentaram resposta sorológica positiva, variando de 9,0% a 32%. A sensibilidade definida para o estudo de Severínia (em torno de 50% para todas as formas clínicas) faz supor que a prevalência de soros positivos poderia ser o dobro da encontrada, ou seja, 18% em vez de 9%.

Os resultados dos estudos realizados em várias regiões do mundo devem ser analisados considerando as diferenças metodológicas, étnicas, geográficas, sócio-culturais e outras.

Resumindo, estudos que poderiam ser comparados devido a amplitude da população analisada, como a do Zaire, Índia, Malawi e Papua-Nova Guiné, têm realidades bastante díspares, explicando, em parte, as diferenças observadas nos resultados e não conseguindo acrescentar instrumentos práticos às atividades diagnósticas de rotina.

Mesmo considerando a alta especifici-

dade apresentada pelos testes, alguns autores, como Soebono *et al.*³¹ questionam se os testes usando PGL-1 refletiriam ou não infecção subclínica.

O estudo realizado em Severínia mostra que, na situação epidemiológica do município, existe um percentual razoável da população considerada sadia que tem sorologia positiva. O significado da soropositividade é inconclusivo, sem um acompanhamento clínico e sorológico de longo prazo.

Outro ponto importante a ser considerado, é conhecer como se comportaria a sorologia em áreas de média e baixa endemicidade no nosso estado para, desse modo, avaliar de forma mais consistente a utilidade que poderia ser dada a este tipo de teste. Dependendo dos resultados, poderia ter utilidade para monitorar áreas em fase de eliminação da hanseníase como problema de saúde pública.

Os resultados analisados neste estudo apontam, também, para a necessidade de se aprimorar os testes, tomando-os mais sensíveis e específicos. No entanto, não se deve perder de vista que se trata de um teste que quantifica anticorpos IgM, o qual nem sempre está presente em todos os casos de hanseníase, em quantidades facilmente dosáveis, o que se constitui em importante obstáculo, no momento, para uso rotineiro nas atividades de detecção de casos dos programas oficiais de controle. Esta observação se impõe, pois muitos casos paucibacilares não seriam detectados por este método.

Os resultados observados por este estudo são semelhantes em muitos aspectos com outros já realizados e da mesma forma também coloca os mesmos questionamentos sobre a real aplicação deste método diagnóstico.

SUMMARY - *Serum tests for the diagnosis of leprosy using the phenol-glycolipid-1 antigen (PGL-1) had opened several possibilities to the study of the epidemiological behavior of this disease. This research aimed on the evaluation of the results of using ELISA anti PGL-1 on an urban community with high leprosy endemicity in the State of São Paulo, Brazil. It presented, at the research time, detection and prevalence rates (27.1 and 167.2 cases per 10,000 inhabitants, respectively). A census revealed 8,491 persons living in the urban area and 6,666 of them were tested with the ELISA anti PGL-1. The serology was positive in 9.0% of the general population, 10.1% for the female population and 7.6% for the male population. Positive serology observed among women was higher in almost all age levels, except for those 50 years old or more. Among the registered patients the serum positive rate reached 22.6%. The high rate of clinically normal persons testing positive may be indicative of sub-clinical infection. Some unsolved questions remain, such as: which of these persons will present the disease and when. It also remains to be evaluated how this serology will perform in communities in medium to low endemic areas. Low sensibility of the test does not commend its general adoption as a diagnosis method in routine control programs activities. Nevertheless, it is considered important not to discard it as a research object to improve its sensibility, specificity and lower its cost. Thus, another instrument for the control and elimination of leprosy could be established.*

Key-words: *Leprosy. Endemy. Epidemiology. Phenolic-glyco lipid (PGL-1). Elisa.*

AGRADECIMENTOS - Zenaide Lázara Lessa, Mary Lise C. Marzliak, Tanya E. Lafratta, Wagner Nogueira, Clóvis Lombardi, Diltor V. A. Opromolla, à equipe de saúde do CS Severinia,

à Prefeitura de Severinia, à Regional de Saúde Barretos, postumamente a Cesar A. Rocha e a simpática e compreensiva comunidade de Severinia pelo interesse e apoio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABREU-CASTELLS, E.G., SEGREDO, A.C., ALBERNAS, J. M. et al. Comprobacion serologica de la actividad de um antígeno del *M. leprae* obtenido por síntesis química. **Rev. cubana Med. Trop.**, v.41, p.10-7,1989.
2. AGIS F., SCHILICH, P., CARTEL, J.L., et al. Use of anti- *M. leprae* phenolic glycolipid-1 antibody detection for early diagnosis of prognosis of leprosy. **Int. J. Leprosy.**, v.56, p.527-36, 1988.
3. ANDRADE, V.L.G. **Características epidemiológicas da hanseníase em área urbana:** Município de São Gonçalo - Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 1990. Dissertação (Mestre).
4. ARRUDA, M.S.P., ASTOLFI, C.S. Algumas considerações a respeito da reação de Rubino. *Hansen.* **Int.**, v.10, p.5-9, 1985.
5. BACH, M. A., WALLACH, D., FLAGEUL, B. et al. Antibodies to phenolic glycolipid-1 and to whole *M. leprae* in leprosy patient: evolution during therapy. **Int. J. Leprosy**, v.54, p.256-76, 1986.
6. BAGSHAW, A .F., GARSIA, R.J., BAUMGART, K. et al. IgM serum antibodies to phenolic glycolipid1 and clinical leprosy: two years observation in a community with hyperendemic leprosy. **Int. J. Leprosy.**, v.58, p.25-30, 1990.
7. BAUMGART, K., BRITTON, W., BASTEN, A. et al. Use of phenol ic glycolipid-1 for serodiagnosis of leprosy in a high prevalence village in Papua- New Guinea. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v.81, p. 1030-2, 1987.
8. BRASIL, M.L.R.F., OLIVEIRA, L.R., MELO, C.S. et al. Estudo da sensibilidade e especificidade do teste ELISA anti PGL-1 no Estado de São Paulo. **Hansen. Int.**, v.22, p.35-43, 1997.
9. BRETT, S.I., DRAPER, P., PAYNE, S.N. et al. Serological activity of a characteristic phenolic glycolipid from *M. leprae* in sera from patients with leprosy and tuberculosis. **Clin. Exp. Immunol.**, v.52, p.271-9, 1983.
10. BURGESS, P.J., FINE, P.E.M., PONNINGHAUS, J.M. et al. Serological tests in leprosy. The sensitivity, specificity and predictive value of ELISA tests based on phenol ic glycolipid antigens and the implications for their use in epidemiological studies. **Epidem. Inf.**, v.101, p.159-71, 1988.
11. CHATERJEE, B.R., TAYLOR, C.E., THOMAS, J. et al. Acid-fast bacillary positiviting in asymptomatic individuals in leprosy endemic villages around JHALDA in West Bengal. **Leprosy. Rev.**, v.48, p.119-31, 1976.
12. CHO, S., YANAGIHARA, D.L., HUNTER, S.W. Serological specificity of phenolic glycolipid-1 from *Mycobacterium leprae* and use in serodiagnosis of leprosy. **Infectious and Immunity**, v.41, p.1077-83, 1983.
13. CONVIT, J., PINARDI, M.E., ROJAS, F.A. et al. Tests with three antigens in leprosy - endemic and non endemic areas. **Bull. World health Organ.**, v.52, p.193-8, 1975.
14. COPELAND, K.T., CHECKOWAY, H., McMICHAEL, A.J. et al. Bias due to misclassification in the estimation of relative risk. **Am. J. Epidem.**, v.105, p. 88-95, 1977.
15. DOUGLAS, J.T., STEVENS, L.M., FAJARDO, T. et al. The effects of chemotherapy on antibody levels in lepromatous patients. **Leprosy Rev.**, v.59, p.127-35, 1988.
16. FINE, P.E.M., PONNINGHAUS, V.M., BURGESS, P. et al. Seroepidemiological studies of leprosy in Northern Malawii, based on an enzyme-linked immunosorbent assay using synthetic glyco-conjugate antigen. **Int. J. Leprosy**, v.6, p. 243-54, 1988.
17. GODAL, T., NEGASSI, K. Subclinical infection in leprosy. **Br. Med. J.**, v.3, p.557-9, 1973.

18. GROENEN,G., PATTYN,S.R., GHYS,P. et al. A longitudinal study of incidence of leprosy in a hyperendemic area in Zaire with special reference to PGL-1 antibody results. *Int. J. Leprosy*, v.58, p. 641-50, 1990.
19. HUNTER,S.W., BRENNAN,P.J. A novel phenolic glycolipid from *mycobacterium leprae*. Possible involved in immunogenicity and pathogenicity. *J. Bacteriol.*, v.147, p.728-35, 1981.
20. IRGENS,L.M. Secular trends in leprosy: Increase in age at onset associated with declining rates and long incubation periods. *Int. J. Leprosy*, v.53, p.610-7,1985. (Editorial).
21. KLATSER,P.R., WIT,M.D., FAJARDO,T.T. et al. Evaluation of *Mycobacterium leprae* antigens in the monitoring of dapsona - based chemotherapy of previously untreated lepromatous patients in Cebu, Phillipines. *Leprosy Rev.*, v.60, p.178-86, 1989.
22. KRISHNAMURTHY,P., RAO,P.S., REDDY,B.N. et al. Seroepidemiological study of leprosy in a highly endemic population of South India based on Elisa using synthetic PGL-1. *Int. J. Leprosy*, v.59, p.426-31. 1991.
23. KRONVALL,G. The potential of immunological tests as a tool in the epidemiology of leprosy. *Leprosy Rev.*, v.52 (suppl 1), p.207-19. 1981.
24. LAFERTE, J., ABREU,E.G., ROBAINA,R. et al. Ultramicroelisa para la detección de anticuerpos Igm anti *M. leprae*. *Rev. Inst. Med. Trop.*, v.33, p.491-5, 1991.
25. MADDISON,S.E., STEWART,C.C., FARSHY,C.E. et al. The relationship of race, sex and age to concentration of serum immunoglobulins expressed in International units in healthy adults in the U.S.A . *Bull. World Healthy Organ.*, v.52, p.179-85, 1975.
26. MENZEL,S., HARBOE,M., BERGSVIK,H. et al. Antibodies to a synthetic analog of phenolic glycolipid-1 of *M. leprae* in the healthy household contacts of patients with leprosy. *Int. J. Leprosy*, v.55, p.617-25, 1987.
27. PONNINGHAUS, J.M., BOERRITGER, G. Ten years Leprosy control work in Malawi (Central Africa) II: Patterns of endemicity since 1973. *Leprosy Rev.*, v. 57, p.221-36, 1986.
28. SEADE. Fundação Sistema Estadual de Análise de Dados. *Anuário estatístico*: 1988. p.108, 235.
29. SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DE SÃO PAULO. Divisão de Vigilância da Hanseníase - CVE. *Relatório da situação da endemia Hansênica no Estado de São Paulo*: 1992. 18p.
30. SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DE SÃO PAULO. Divisão de Vigilância da Hanseníase - CVE. *Relatório da endemia Hansênica no Estado de São Paulo*: 1996. 19p.
31. SOEBONO,H., KLATSER,P.R. A seroepidemiological study of leprosy in high and low endemic Indonesian villages. *Int. J. Leprosy*, v.59, p.416-25, 1991.
32. TAYLOR,C.E., ELLISTON, E.P., GIDEON,H. Assintomatic infection in leprosy. *Int. J. Leprosy*, v.33, p.716-27, 1965.