

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

MARIANA VITORINO CANDEIRO NICCHIO

**VIGILÂNCIA DA INFECÇÃO PELO *MYCOBACTERIUM LEPRAE* POR MEIO DE SISTEMA DE
INFORMAÇÃO GEOGRÁFICA E DE FERRAMENTAS MOLECULARES E IMUNOLÓGICAS
EM MUNICÍPIO DE ALTA ENDEMIA DE HANSENÍASE NO ESTADO DE MINAS GERAIS**

Uberlândia

2016

MARIANA VITORINO CANDEIRO NICCHIO

**VIGILÂNCIA DA INFECÇÃO PELO *MYCOBACTERIUM LEPRAE* POR MEIO DE SISTEMA DE
INFORMAÇÃO GEOGRÁFICA E DE FERRAMENTAS MOLECULARES E IMUNOLÓGICAS
EM MUNICÍPIO DE ALTA ENDEMIA DE HANSENÍASE NO ESTADO DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências da Saúde da
Universidade Federal de Uberlândia, como
requisito para obtenção do título de mestre
em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Isabela Maria
Bernardes Goulart

Uberlândia

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

- N584v Nicchio, Mariana Vitorino Candeiro, 1991
2016 Vigilância da infecção pelo *Mycobacterium leprae* por meio de sistema de informação geográfica e de ferramentas moleculares e imunológicas em município de alta endemia de hanseníase no estado de Minas Gerais / Mariana Vitorino Candeiro Nicchio. - 2016.
101 p. : il.
- Orientadora: Isabela Maria Bernardes Goulart.
Coorientador: Josafá Gonçalves Barreto.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.
Inclui bibliografia.
1. Ciências médicas - Teses. 2. Hanseníase - Teses. 3. Sistemas de informação geográfica - Teses. I. Goulart, Isabela Maria Bernardes. II. Barreto, Josafá Gonçalves. III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. IV. Título.

MARIANA VITORINO CANDEIRO NICCHIO

VIGILÂNCIA DA INFECÇÃO PELO *MYCOBACTERIUM LEPRAE* POR MEIO DE SISTEMA DE INFORMAÇÃO GEOGRÁFICA E DE FERRAMENTAS MOLECULARES E IMUNOLÓGICAS EM MUNICÍPIO DE ALTA ENDEMIA DE HANSENÍASE NO ESTADO DE MINAS GERAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Isabela Maria Bernardes Goulart

Coorientador: Prof. Dr. Josafá Gonçalves Barreto

APROVADA em 25 de FEVEREIRO de 2016.

Prof. Dr. Samuel do Carmo Lima

UFU

Prof. Dr. Ricardo Vicente Ferreira

UFTM

Profa. Dra. Isabela Maria Bernardes Goulart
PGCS-UFU
(Orientadora)

Uberlândia

2016

*A maior tragédia de um homem não é fracassar,
é viver sem um propósito.*

Adaptado de Myles Monroe

Á Deus, meu tudo, inspiração e força em todos os momentos difíceis. Aos meus avós, meus amados pais, que me forjaram como uma flecha afiada, e me lançaram para que eu pudesse ir mais longe.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo privilégio da vida, e me dar um propósito de viver. Por ser presente e refúgio, me ajudando a enfrentar as diversas situações. Por me sustentar e ajudar a concluir este trabalho, certa de sua graça permaneço confiando.

Ao meu marido Bruno, por ser tão especial. Obrigada por todo carinho, atenção, amor, companheirismo, sempre.

Aos meus mentores Apóstolos Paulo e Rosângela, pelos conselhos, carinho, orações, direcionamento e imensurável incentivo à minha formação profissional e acadêmica.

À minha orientadora Dra. Isabela Maria Bernardes Goulart, por ter acreditado e investido na minha formação profissional e acadêmica. Por todos os ensinamentos apoio, carinho e exemplo de profissional.

Ao professor Dr. Josafá Gonçalves Barreto, meu coorientador pela paciência ao ensinar, e disponibilidade para me apoiar, e pelo enriquecimento esta pesquisa através dos seus conhecimentos com SIG.

À minha Mãe Maria Rita, uma mulher singular, pela educação, valores, princípios e incentivo. Suas palavras me impulsionam à prosseguir com meus propósitos. Ao meu pai Carlos Alberto, pela torcida e apoio em mais uma etapa em minha vida.

À minha irmã Carolina e toda família Candeiro, em especial aos meus tios Roberto e Cláudia.

À toda equipe da Unidade Mista de Saúde I- Carlos Modesto em Ituiutaba, pela inestimável contribuição na coleta de dados e respeito aos participantes da pesquisa.

Aos amigos do grupo de pesquisa do CREDESH em especial Liliane, Sérgio, Douglas e Rafaela, pela amizade e companheirismo. À amiga Lorraine, pelo auxílio na confecção dos mapas.

À toda equipe do CREDESH, pelo carinho e ajuda que tiveram comigo durante o desenvolvimento deste trabalho, não citando nomes para que não me esqueça de nenhum destes, obrigada pela disponibilidade em atender as minhas solicitações.

À secretaria, e coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde pela atenção e oportunidade, em especial a Gisele pela disposição me atender sempre.

À todas as pessoas que direta ou indiretamente participaram da concretização deste sonho.

Muito Obrigada!

RESUMO

Hanseníase é um problema de saúde pública em países de baixa renda e em desenvolvimento. Contatos domiciliares de pacientes com hanseníase estão em risco para o desenvolvimento da doença e podem estar envolvidos na cadeia de transmissão do *Mycobacterium leprae*. Caracterizar a endemia hansônica do município de Ituiutaba no período de 2004 a 2014, por meio de ferramentas de georreferenciamento, a partir dos casos novos notificados no SINAN neste período e realizar epidemiologia molecular entre os contatos de hanseníase. Sistemas de Informação Geográfica (SIG) e análise espacial são ferramentas eficientes para determinar as regiões de risco e fornecer suporte na detecção precoce de novos casos. O SIG foi aplicado para explorar a distribuição dos casos de hanseníase ($N = 303$) entre 2004 a 2014, e de contatos ($N = 53$) entre 2013 e 2014, em uma área altamente endêmica da região sudeste do Brasil, foram analisados de acordo com a distribuição dos casos de hanseníase e a infecção subclínica determinados por sorologia entre contatos, para avaliar transmissão e o risco para o aparecimento da doença, bem como apoiar estratégias de prevenção. No período analisado 57,4% (213/371) dos pacientes apresentaram hanseníase multibacilar e 42,6% (158/371) foram considerados como casos paucibacilares. Em relação ao gênero, a maioria dos casos foi do sexo feminino, com 52,6% (195/371) dos casos ($p < 0,05$). Quanto à faixa etária, mais da metade dos casos 47,7% (177/371) estava entre 35 a 59 anos, com diferença estatisticamente significante das outras ($p < 0,05$). Em relação à classificação clínica dos casos novos (classificação Madrid), a manifestação dimorfa foi o mais prevalente, compreendendo 47,2% (175/371) dos pacientes neste estudo. A detecção de casos apresentou um declínio de 43% no período de 10 anos do estudo ($P < 0,05$), permanecendo no parâmetro de detecção altamente endêmico (20 a 39,99 casos/ 100.000 habitantes). Enquanto a detecção em < de 15 anos saiu do parâmetro hiperendêmico, com 18,54 casos por 100.000 hab. para zero alcançando o parâmetro baixo. A análise espacial demonstrou áreas com maior número de casos, que coincidem com as áreas com maiores densidades populacionais. Os aglomerados espaciais, por meio da estimativa de Kernel, sugerem três principais *clusters* de doentes. A positividade entre os contatos com infecção subclínica foi 17% para o ELISA anti PGL-I e 42% para teste LID-NDO e 9,43% para qPCR de sangue. Encontramos mais de 70% (38/60) de contatos de casos índices classificados como multibacilares. A espacialização dos 56% de contatos com infecção subclínica mostrou proximidade com aglomerados de doentes, além disto, identificou três possíveis de doentes. A distribuição espacial dos casos de hanseníase foi heterogênea em todo o perímetro urbano. Foram identificados quatro principais *clusters* de pacientes e três *clusters* principais de infecção subclínica, que coincidiram, confirmando uma relação com entre os doentes e contatos espacialmente próximos. A epidemiologia espacial e temporal associada à análise sorológica pode aumentar a eficácia das estratégias de controle através da identificação de áreas de carga da doença e da transmissão de *M. leprae*, fornecendo informações

importantes para apoiar o planejamento das intervenções de saúde ação em regiões de interesse.

Palavras-chave: Hanseníase, casos e contatos domiciliares, ELISA anti-PGL-I, Teste rápido (LID-NDO), PCR de detecção de DNA de *M. leprae*, Sistema de Informação Geográfica (SIG).

ABSTRACT

Leprosy is a public health problem in developing and low income countries. Household contacts of leprosy patients (HHCs) are at risk for the development of disease and may be involved in *Mycobacterium leprae* chain of transmission. To characterize the leprosy endemic of the municipality of Ituiutaba in the period from 2004 to 2014, using georeferencing tools, from new cases reported not SINAN in this period and carry out molecular epidemiology among leprosy contacts. Geographic Information Systems (GIS) and spatial analysis are efficient tools to determine regions of risk and support early detection of new cases. Applied GIS to explore the distribution of leprosy cases (N=303), reported during 2004 to 2014, and of HHCs (N=53), in a highly endemic area of southeast Brazil, were analyzed according to leprosy classification of the cases and the subclinical infection determined by serology among HHCs, to evaluate risk for disease onset and transmission, as well support prevention strategies. In the analyzed period 57.4% (213/371) of patients had multibacillary and 42.6% (158/371) were considered paucibacillary cases. For genres, most of the cases were female, with 52.6% (195/371) of cases ($p < 0.05$). As for the age group, more than half of the cases 47.7% (177/371) was between 35 and 59 years, with a statistically significant difference from the other ($p < 0.05$) for the clinical classification of new cases (classification Madrid), the manifestation borderline was the most prevalent, comprising 47.2% (175/371) of patients in this study. While the detection of <15 years left the hyperendemic parameter, with 18.54 cases per 100,000 hab. for reaching the low parameter. Positivity among the HHCs with subclinical infection: 17% for anti-PGL-I ELISA and 42% for anti-LID-NDO rapid lateral-flow test. The detection of cases showed a 43% decline in 10 years of the study ($P < 0.05$), remaining in highly endemic detection parameter (20 to 39.99 cases / 100,000hab.) Seventy percent (38/60) was observed among contacts of index cases manifesting multibacillary (MB) leprosy. Spatial distribution of leprosy cases was highly heterogeneous throughout the urban perimeter. Four main clusters of patients and three main clusters of subclinical infection were identified. Spatio-temporal epidemiology associated to serologic analysis can increase the effectiveness of the control strategies through the identification of areas of disease burden and of *M. leprae* transmission, providing critical information to support the action planning of health interventions in regions of interest.

Keywords: Epidemiology, Leprosy, *Mycobacterium leprae*, Serologic Tests, Spatial Analysis

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Municípios prioritários para hanseníase no Brasil	18
Figura 2 -	Agregados espaciais da hanseníase no Brasil (<i>clusters</i>)	23
Figura 3 -	Localização geográfica do município de Ituiutaba/MG	31
Figura 4-	Teste sorológico rápido (LID-NDO), Orange Life®, aplicativo utilizado para leitura do teste.	35
Figura 5 -	Localização espacial dos casos de hanseníase segundo classificação operacional em Ituiutaba, Brasil. 2004-2014.	40
Figura 6 -	Localização espacial dos casos de hanseníase, segundo forma clínica. Ituiutaba, 2004-2014.	41
Figura 7 -	Localização espacial dos casos de hanseníase, segundo faixa etária menor e maior de 15 anos. Ituiutaba, 2004-2014.	43
Figura 8 -	Localização espacial dos casos de hanseníase, segundo sexo. Ituiutaba, 2004-2014.	45
Figura 9 -	Disposição dos casos segundo grau de incapacidade avaliados no momento do diagnóstico. Ituiutaba/MG, 2004-2014.	46
Figura 10 -	Densidade populacional segundo setores censitários por Km ² , censo urbano, 2010. Ituiutaba/MG, 2010.	47
Figura 11 -	Localização espacial do número de casos de hanseníase por setor censitário. Ituiutaba, 2004-2014.	48
Figura 12 -	Localização espacial dos casos de hanseníase, segundo estimativa de densidade de casos por Km ² . Ituiutaba/MG, 2004-2014.	49
Figura 13 -	Coeficiente de detecção geral por 100.00 hab. por setor censitário de acordo com o parâmetro de endemicidade, de baixo para hiperendêmico, com base no censo urbano 2010. Ituiutaba/MG 2004-2014.	50
Figura 14 -	Estimativa de densidade de casos por Km ² (Kernel). Ituiutaba/MG, 2004-2014.	51
Figura 15 -	Distribuição de contatos com infecção subclínica, soropositivos a pelo menos um dos exames laboratoriais, ELISA anti-PGL-1, Teste rápido (NDO-LID) e/ou qPCR de sangue. Ituiutaba/MG, 2013-2014.	53

Figura 16 - Distribuição de contatos que testaram negativo a todos os exames 54
laboratoriais, ELISAanti-PGL-1, Teste rápido (NDO-LID) e/ou qPCR de
sangue. Ituiutaba/MG, 2013-2014.

Figura 17 - Densidade de contatos por Km² (Kernel) com infecção subclínica 55
soropositivos (Teste rápido NDO-LID, ELISA anti PGL-1 e qPCR de sangue)
por setores censitários, 2013-2014.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Distribuição dos casos novos de hanseníase, segundo classificação operacional, forma clínica, sexo, faixa etária, e grau de incapacidade 2004-2014. Ituiutaba/MG, Brasil.
- Tabela 2 - Distribuição dos contatos com infecção subclínica, isto é, soropositivos pelo ELISA anti-PGL1 e/ou teste rápido (NDO-LID)e/ou positivo para detecção do DNA em sangue periférico, segundo exames, sexo, classificação operacional e forma clínica do caso índice. 2004-2014. Ituiutaba/MG

LISTA DE QUADRO E GRÁFICOS

- Quadro 1- Indicadores epidemiológicos de controle da hanseníase, Ministério da Saúde.(BRASIL/MS, 2010) 32
- Gráfico 1- Número de Casos de hanseníase registrados e notificados no SINAN, Ituiutaba/MG no período de 2004 a 2014. 38
- Gráfico 2 - Coeficiente de detecção anual de casos notificados de hanseníase por 100.000 habitantes. Ituiutaba/MG, 2004-2014. 42
- Gráfico 3 - Coeficiente de detecção anual de casos em <15 anos notificados por 100.000 habitantes. Ituiutaba/MG, 2004-2014. 42
- Gráfico 4 - Proporção de casos com grau 2 de incapacidade física entre os casos novos notificados. Ituiutaba/MG, 2004-2014. 44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BCG-ID -	Bacilo de Calmette e Guérin-intradêrmica
CEP -	Comitê de Ética em Pesquisa
CO -	Classificação operacional
CREDESH -	Centro de Referência Nacional em Hanseníase e Dermatologia Sanitária
D -	DIMORFA
DNA -	Ácido desoxirribonucléico
ELISA -	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FC	Forma clínica
GPS -	Global Positional Systems
GRS-UDI -	Gerência Regional de Saúde de Uberlândia
HC -	Hospital de Clínicas
I -	Indeterminada
IG -	Instituto de geografia
<i>M. leprae</i> -	<i>Mycobacterium leprae</i>
MB -	Multibacilares
OMS -	Organização Mundial de Saúde
PB -	Paucibacilares
qPCR -	Reação em cadeia da polimerase em tempo real
PGL-I -	Glicolipideo fenólico-1
PNCH	Programa Nacional de Controle da Hanseníase
PQT -	Poliquimioterapia
PSF -	Programa de saúde da família
SES-MG -	Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais
SIG -	Sistema de Informações Geográfico
SINAN -	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
qPCR -	Reação em Cadeia Da Polimerase em tempo real
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
SUS -	Sistema Único de Saúde
T -	Tuberculóide
UBS -	Unidades básicas de saúde

UBSF -	Unidades básicas de saúde da família
UFU -	Universidade Federal de Uberlândia
V -	Virchowiana
PNCH	Programa Nacional de Controle da Hanseníase
PQT -	Poliquimioterapia
PSF -	Programa de saúde da família
SES-MG -	Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais
SIG -	Sistema de Informações Geográfico
SINAN -	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SMS-UDI -	Secretaria Municipal de Saúde de Uberlândia
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
SUS -	Sistema Único de Saúde
T -	Tuberculóide
UFU -	Universidade Federal de Uberlândia
V -	Virchowiana

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	14
1.1	Hanseníase como problema de saúde pública.....	14
1.2	Características Gerais.....	16
1.3	Transmissão, Infecção Subclínica e Vigilância de contatos.....	20
1.4	Indicadores Epidemiológicos.....	21
1.5	Sistema de Informações Geográficas (SIG).....	22
1.6	Teste sorológico rápido (NDO-LID).....	24
1.7	Sorologia para ELISA anti PGL-1.....	24
1.8	Reação em Cadeia Da Polimerase em tempo real (qPCR) para a detecção do DNA de <i>M. leprae</i>	25
2.	OBJETIVOS.....	26
2.1.	Objetivos Gerais.....	26
2.2.	Objetivos Específicos.....	26
3.	HIPÓTESES.....	27
4.	JUSTIFICATIVA.....	28
5.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
5.1.	Local e Tipo de estudo.....	30
5.2.	Coleta de Dados.....	33
5.3.	Manuseio de dados espaciais.....	36
5.4.	Análise estatística.....	36
5.5.	Aspectos Éticos.....	37
6.	RESULTADOS.....	38
6.1.	Casos de hanseníase notificados.....	38
6.2.	Análise espacial da endemia no município.....	47
6.3	Contatos de hanseníase.....	51
7.	DISCUSSÃO.....	55
8.	CONCLUSÃO.....	62
9.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
10.	REFERÊNCIAS.....	64
11.	ANEXOS.....	74

1. Introdução

1.1. Hanseníase como problema de saúde pública

Hanseníase é uma doença infecciosa crônica causada por *Mycobacterium leprae*, que apresenta alta infectividade, baixa patogenicidade e evolução lenta. Este bacilo é intracelular obrigatório e apresenta evolução lenta, sua divisão binária se dá cada 12 a 21 dias (GOULART et al., 2002). As manifestações clínicas são dependentes da resposta imune do hospedeiro, podendo a infecção subclínica evoluir na maioria das pessoas para a cura (GOULART et al., 2002). A transmissão e contato com o *M. leprae* se faz principalmente pelas vias aéreas superiores, através dos doentes sem tratamento, uma vez que é conhecido que os contatos domiciliares recebem em média uma descarga nasal de 6.84^{10} de *M. leprae* dentro do domicílio, definindo assim o principal grupo de risco de adoecimento (GOULART et al., 2007). Sendo o trato respiratório superior considerado a principal porta de entrada (MARTINEZ et al., 2011; PATROCÍNIO et al., 2005).

A hanseníase é uma doença passível de tratamento e cura, mas a demora no diagnóstico da doença pode causar sequelas irreversíveis, contribuindo para o estigma da doença e ainda trazer prejuízos psicológicos sociais e econômicos. O controle da hanseníase só será possível através de uma identificação rápida de todos os casos infecciosos, o que possibilitará o tratamento destes pacientes impedindo que eles sejam potenciais transmissores da doença (ABRITA et al., 2014; WHO, 2010).

Diversos achados científicos mostram que contatos de pacientes MB possuem duas vezes mais chances de adoecer, com ênfase nos contatos da forma clínica V, que possuem cinco a seis vezes maior risco de desenvolver a doença (GOULART et al., 2002; ARAÚJO et al., 2015). Testes sorológicos podem ser importantes ferramentas para auxiliar no diagnóstico de hanseníase e podem contribuir para o diagnóstico precoce em contatos (GOULART & GOULART, 2008). A resposta de anticorpos específicos contra PGL-1 (glicolipídeo fenólico-I), antígeno específico de *M. leprae*, pode ser avaliada pela sorologia ELISA anti-PGL1 nativo (anti-PGL-1), que detecta anticorpos IgM demonstrando uma positividade em contatos de 13% a 25%, indicando um risco relativo cinco a seis vezes maior de adoecer (LOBATO et al., 2011; ARAÚJO et al., 2012;

REIS *et al.*, 2014; GOULART *et al.*, 2015), bem como em população sadia de área endêmica (GOULART *et al.*, 2015). O teste sorológico rápido, que utiliza uma combinação de antígeno PGL-1 sintético, denominado NDO (dissacarídeo-octyl natural), associado ao antígeno LID-1 (Leprosy IDRI Diagnostic-1), que detecta uma resposta IgM e IgG, respectivamente, tem sido utilizado para identificação de contatos infectados e aqueles que podem estar doentes sem diagnóstico (QUIONG-HUA *et al.*, 2013; DUTHIE *et al.*, 2014), bem como na população de área endêmica (FABRI *et al.*, 2015). A infecção subclínica também tem sido demonstrada com a detecção de DNA de *M. leprae* por reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) em população de área endêmica (FABRI *et al.*, 2015) e em contatos de hanseníase, conferindo um risco quase 15 vezes maior de adoecer entre aqueles qPCR positivos (REIS *et al.*, 2014). Há evidência que todos esses contatos de hanseníase com infecção subclínica podem estar envolvidos na cadeia de transmissão do *M. leprae* e, por isso, uma vigilância epidemiológica deve ser efetiva em monitorar os mesmos para diagnóstico precoce (ARAÚJO *et al.*, 2012).

Os indicadores epidemiológicos são pilares das ações de controle e vigilância epidemiológica da hanseníase, e os principais indicadores utilizados para medir a força de morbidade, magnitude e tendência da endemia são: coeficiente geral de detecção de casos novos; coeficiente de detecção de casos novos em menores de 15 anos (< de 15); proporção de casos novos com grau 2 de incapacidade física (BRASIL/MS, 2014). Além da educação em saúde, o exame dermató-neurológico de contatos e a vacinação com BCG-ID são atividades essenciais para a vigilância epidemiológica na hanseníase, recomendados pelo Ministério da Saúde do Brasil (BRASIL/MS, 2014).

O monitoramento de áreas com maior detecção da doença por meio de delimitação de *clusters*, que concentram municípios de acordo com o critério epidemiológico, tem sido aplicado como estratégia de controle da hanseníase no Brasil (REES, 1985). Trabalhos anteriores têm demonstrado a utilização do Sistema de Informação Geográfica (SIG) para delimitar *clusters* de casos notificados (DE SOUZA DIAS *et al.*, 2007) e também contatos e escolares (BARRETO *et al.*, 2014).

O Sistema de Informação Geográfica (SIG) tem se apresentado como uma valiosa ferramenta que, somada aos indicadores epidemiológicos, pode ampliar a vigilância a nível local, municipal, estadual e nacional (BRASIL/MS, 2008). Esta é uma

ferramenta funcional no programa de controle da hanseníase, sendo recomendada sua utilização em todos os países endêmicos (BRASIL/MS, 2008; WHO, 20014). Pelo geoprocessamento é possível descrever e ampliar a visualização da distribuição espacial do evento, identificando áreas com maior frequência de casos, referenciadas com o receptor do Sistema de Posicionamento Global (GPS) (SAMPAIO et al., 2013).

Os mapas temáticos são considerados instrumentos poderosos na análise espacial do risco de determinada doença, apresentando finalidades exploratórias, sugerindo as variáveis locais do evento e fatores etiológicos desconhecidos que possam ser formuladores em termos de hipóteses e direcionem associações entre um evento e seus determinantes (SAMPAIO et al., 2013; BAKKER et al., 2004). Deste modo, o presente estudo, aplicou técnicas espaciais de análise para identificar a distribuição da hanseníase em município endêmico, partindo da construção de indicadores epidemiológicos atualizados para analisar a tendência da endemia. Para descrever a distribuição espaço-temporal de casos notificados e sua relação com a ocorrência de novos casos e infectados subclínicos entre contatos espera-se demonstrar uma prevalência oculta não detectada, que pode estar influenciando na manutenção da cadeia de transmissão e nos altos índices de detecção da doença.

1.2. Características gerais da hanseníase

A situação da hanseníase nas Américas em 2010 mostrou um decréscimo do número de casos novos detectados de hanseníase de 52 662 em 2004 para 37 740 em 2010. No ano 2010, o Brasil teve 34.894 novos casos detectados (WHO, 2011).

Apesar da diminuição nos coeficientes de prevalência no mundo em 2011, a hanseníase no Brasil ainda é considerada um importante problema de saúde, em razão de sua endemicidade, ocupando o 2º lugar no mundo em número de casos novos, sendo que a Índia, em 1º lugar, respondeu pela maior parte dos casos novos mundiais em 2009 (WHO, 2010). No Brasil, há tendência de redução da endemia, mas ainda com alta concentração nas regiões Norte e Centro-Oeste. No ano 2011, o coeficiente de prevalência pontual de hanseníase foi de 1,54 casos por 10 mil habitantes, o que corresponde a 29.690 casos em tratamento. Nesse ano, o coeficiente de detecção de

casos novos da doença foi de 17,65 a cada 100 mil habitantes, correspondendo a 33.955 casos novos. A doença constitui um sério problema de saúde pública no País, sobretudo pela sua magnitude e o alto potencial incapacitante. (BRASIL/MS; 2010;2011).

A Estratégia Global para Redução Adicional da Carga da Hanseníase para o quinquênio de 2011 a 2015, da Organização Mundial da Saúde, definiu os indicadores prioritários para o monitoramento da doença, entre outros de indicadores, ressaltam-se o coeficiente geral de detecção por 100 mil habitantes, a proporção de cura entre os casos diagnosticados e o coeficiente de detecção de casos com grau de incapacidade II no momento do diagnóstico. Os indicadores epidemiológicos tem a utilidade de medir a força de transmissão de uma doença, avaliar a efetividade das atividades de detecção de casos, e ainda demonstrar força de morbidade e tendências da endemia. (BRASIL/MS; 2010;2011). O enfrentamento da hanseníase como problema de saúde pública no Brasil vem melhorando a partir das políticas e ações de saúde desenvolvidas na atenção básica, dentro dos níveis de complexidade. Embora o país tenha alcançado diminuição da relevância da doença, não foi possível sua eliminação.

Para Miranzi *et al* (2010), o histórico da hanseníase no Brasil mostra que a prevalência da doença teve redução importante, apesar da taxa de detecção não ter diminuído efetivamente. Segundo o Ministério da Saúde (Brasil/MS, 2012), a oferta de serviços de atendimento à demanda espontânea para endemias como a hanseníase não se mostrou suficiente para a sua eliminação. Apesar da importante redução do coeficiente de prevalência desta patologia no Brasil, algumas regiões demandam intensificação das ações para a eliminação desta infecção, justificadas por um padrão de alta endemicidade (IGNOTTI & DE PAULA, 2010).

Segundo a Coordenação Geral de Hanseníase e Doenças em Eliminação (CGHDE), 253 municípios são considerados prioritários incluindo as 27 capitais (Figura1) (BRASIL/MS, 2012).

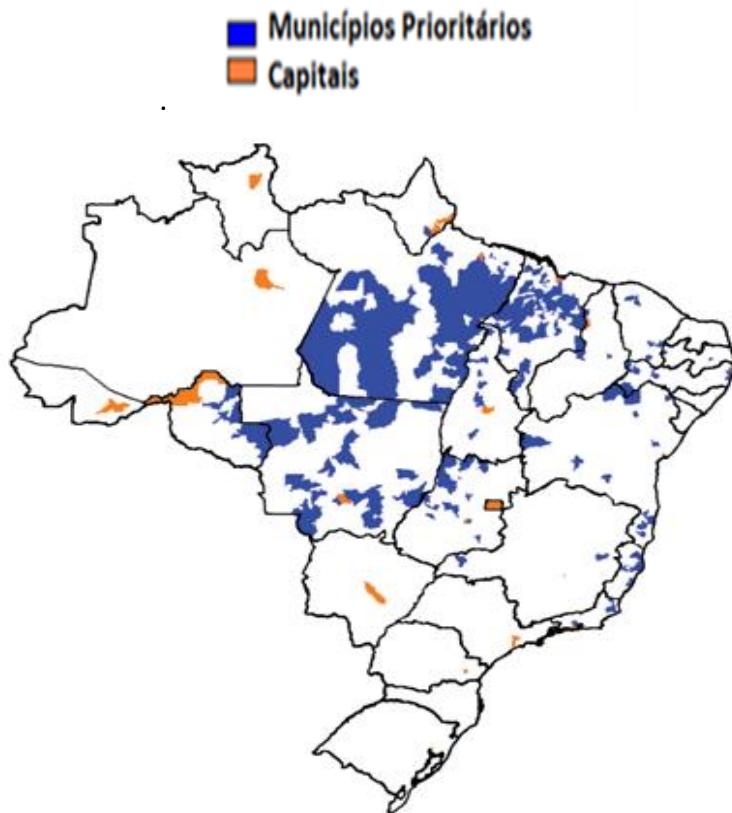


Figura 1: Municípios prioritários para vigilância em hanseníase (BRASIL/MS, 2012).

No Brasil a classificação de Madri (1953) para hanseníase, adotada para notificação dos casos de hanseníase no Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN), esta classificação está baseada nos critérios, clínico: aspectos das lesões cutâneas, variando em número, extensão, definição de margens e simetria de distribuição. Bacteriológico: presença ou ausência do *M. leprae*, e seus aspectos morfológicos, variando de numerosos, íntegros e agrupados, formando globias, a raros, fragmentados e ausentes. Imunológico: reação de Mitsuda, com leitura após 21 a 28 dias. Atualmente, considera-se positiva a intradermorreação. Histológico: aspectos histopatológicos das lesões, variando de granulomas bem definidos a infiltrado difuso linfo-histiocitário. Definido assim os grupos polares, tuberculóide (T) e virchoviano (V) ou lepromatoso (L); o grupo transitório e inicial da doença, a forma indeterminada (I); e o instável e intermediário, a forma borderline (B) ou dimorfa (D).

A classificação de Ridley e Jopling (1996) define que a hanseníase é uma doença de manifestação clínica espectral, em que a carga bacilar é medida por exames

baciloscópicos de biópsias cutâneas e esfregaços dérmicos, esta é inversamente proporcional à carga bacilar, medida pelo índice baciloscópico (IB), proporcional à intensidade da resposta imunológica celular, avaliada pelo resultado do teste intradérmico de Mitsuda. Com isso, foram definidas duas formas clínicas estáveis e polares - T, com forte resposta imune celular e baixa carga bacilar; do outro lado, a forma V, com importante resposta humorai e alta proliferação bacilar. O grupo intermediário, denominado dimorfo é subdividido em formas dimorfa-tuberculóide (DT), dimorfa- dimorfa (DD) e dimorfa-virchowiana (DV). Para a forma clínica inicial e inespecífica, antes de polarizar para as formas clínicas estabelecidas no espectro, foi denominada indeterminada (I).

Seguindo o padrão de uma doença espectral, a hanseníase pode variar de uma doença paucibacilar (PB), na qual poucos bacilos estão presentes, até uma doença multibacilar (MB), na qual há uma grande carga bacilar. As formas menos graves, casos com até cinco lesões de pele são classificados como PB, enquanto as formas mais graves, com mais de cinco lesões de pele e/ou esfregaço dérmico positivo, são classificados como MB. Esta classificação operacional é estabelecida para fins de tratamento (BRASIL/MS, 2010).

O diagnóstico da doença ainda é principalmente clínico, entretanto alguns exames laboratoriais são imprescindíveis para o diagnóstico da hanseníase. O exame clínico dermatológico e a baciloscoopia são considerados o padrão ouro de diagnóstico em hanseníase. E a baciloscoopia é importante para identificar os pacientes de maior carga bacilar e com maior risco de recidivas. E atualmente tem sido utilizado o teste sorológico anti-PGL-1 para detecção de anticorpos contra o *Mycobacterium leprae*, para analisar a possível associação entre a reação hansônica após alta e a carga bacilar (BRITO et al., 2008). Devem-se analisar as lesões da pele, realizar a palpação dos troncos nervosos acessíveis e avaliação funcional (sensitiva, motora e autonômica) dos nervos freqüentemente comprometidos pela doença (ARAÚJO, 2003; BRASIL, 2010).

1.3. Transmissão, Infecção Subclínica e Vigilância de contatos

A transmissão do *M. leprae* ocorre por meio do contato interpessoal íntimo e prolongado no convívio de pessoas suscetíveis à doença, estudos indicam que a transmissão ocorre principalmente pela inalação do bacilo e a cavidade nasal é porta de entrada e saída bacilo (GOMES *et al.*, 2005; PATROCÍNIO *et al.*, 2005).

Considera-se como contato intradomiciliar toda e qualquer pessoa que resida ou tenha residido com o doente, nos últimos cinco anos. A vigilância de contatos consiste na busca sistemática de novos casos de hanseníase entre as pessoas que convivem com o doente, favorecendo ações de prevenção e o diagnóstico e o tratamento precoce. Os contatos do portador de hanseníase devem ser submetidos ao exame dermatoneurológico. Uma vez que diagnóstico de hanseníase seja confirmado, devem receber o tratamento específico. (BRASIL/MS, 2002)

Sobre o aspecto epidemiológico o exame e acompanhamento dos contatos de hanseníase, é uma das principais oportunidades para melhorar prevenção diagnóstico e cura de hanseníase, tendo em vista que, quanto maior o período de exposição e a demora na instituição de tratamento adequado podem retardar o processo de cura e controle da doença (DUPPRE, 2008; DESSUNTI, 2008). A vigilância de contatos e identificação da infecção subclínica, ou seja, dos portadores sadio do bacilo sem sinais clínicos ou sintomas, pode contar atualmente com ferramentas como exames imunológicos e moleculares para identificação de anticorpos e DNA do bacilo por meio de qPCR de sangue, e estes são considerados potenciais marcadores para o acompanhamento de contatos com infecção subclínica. (FABRI *et al.*, 2015; ARAÚJO *et al.*, 2015; REIS *et al.*, 2014). Os contatos de pacientes MB possuem duas vezes mais chances de adoecer, com ênfase nos contatos da forma clínica V, que possuem cinco a seis vezes maior risco de desenvolver a doença (GOULART *et al.*, 2007; ARAÚJO *et al.*, 2007).

Estudos anteriores têm demonstrado que os contatos domiciliares são o principal grupo de risco de desenvolver hanseníase quando comparados à população em geral (DUPPRE, 2008; VAN BEERS *et al.*, 1999; WALLACE *et al.*, 2003). Um estudo realizado na Indonésia mostrou que, apesar de 28% dos pacientes com hanseníase serem

contatos domésticos, os outros pacientes com hanseníase, 80% dos casos novos poderiam estar relacionados a outros doentes, ampliando a definição de contato para incluir os vizinhos e contatos sociais (VAN BEERS *et al.*, 1999). Estima-se que contatos domiciliares de pacientes MB apresentam de 5 a 10 vezes maior risco de desenvolver a hanseníase do que a população em geral (GOULART *et al.*, 2008).

No Brasil, em média são examinados 74,5% dos contatos registrados, ou seja, daqueles que deveriam ter sido examinados (BRASIL/MS, 2012). O Ministério da Saúde recomenda apenas o exame dermatoneurológico dos contatos domiciliares dos pacientes e a aplicação da vacina BCG como medidas preventivas. E as variáveis sócio-demográficas: idade, sexo, escolaridade, raça/cor, ocupação, estado civil e renda; número de casos de hanseníase de contatos registrados e de contatos examinados no período; o grau de parentesco com o caso índice e o tempo de contato, são de fundamental importância (Brasil/MS, 2002). As medidas de vigilância devem estar voltadas ao aumento do percentual de exame de contatos (BRASIL/MS, 2010; 2012). Considera-se o exame dos contatos como um dos pilares para o controle da hanseníase (BRASIL/MS, 2010; DESSUNTI *et al.*, 2008).

1.4. Indicadores Epidemiológicos

A Estratégia Global para Redução Adicional da Carga da Hanseníase para o quinquênio de 2011 a 2015, da Organização Mundial da Saúde, definiu os indicadores prioritários para o monitoramento da doença, entre outros de indicadores, ressaltam-se o coeficiente geral de detecção por 100 mil habitantes, a proporção de cura entre os casos diagnosticados e o coeficiente de detecção de casos com grau II de incapacidade no momento do diagnóstico. Os indicadores epidemiológicos tem a utilidade de medir a força de transmissão de uma doença, avaliar a efetividade das atividades de detecção de casos, e ainda demonstrar força de morbidade e tendências da endemia. (BRASIL/MS; 2010; 2011). No Brasil a taxa de prevalência é de 1,51 casos por 10 mil hab., portanto não alcançamos a meta de eliminação da doença que seria < 1/10.000 hab. Coeficiente geral de detecção é 17,17/100 mil hab., ainda de parâmetro alto porque é acima de 10/100mil hab. com 33.303 casos novos; Coeficiente de

detecção em <15 anos é 5,22/100 mil hab., também de parâmetro alto porque é acima de 4,99/100mil hab. (BRASIL/MS, 2012).

Os estados do Rio Grande do Norte, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina apresentam média endemicidade e o Rio Grande do Sul, baixa endemicidade (menos de dois casos novos por 100 mil habitantes). A região Sudeste, onde está inserido o estado de Minas Gerais, apresentou coeficiente de detecção de casos novos ascendente de 14,06/100.000 habitantes, em 2001, para 15,32/100.000, em 2002, e decresceu até 9,75/100.000, em 2007.

1.5. Sistema de Informações Geográficas (SIG)

O Sistema de Informações Geográficas (SIG) é capaz de auxiliar a descrever a o comportamento epidemiológico da hanseníase, através do georreferenciamento, para a Organização Mundial da Saúde (OMS) o SIG é uma ferramenta valiosa de gestão para fortalecer habilidades de vigilância nacionais, estaduais e municipais. Ressaltando que a vigilância a nível local pode ser mais bem analisada e ilustrada pelo SIG do que pelas informações apresentadas em mapas temáticos e tabelas (BRIGGS, 1992; CAMARA et al, 2002; WHO, 2011).

Para Fausto *et al* (2010) o geoprocessamento permite descrever e possibilita a visualização da distribuição espacial do evento. Os mapas temáticos são instrumentos poderosos na análise espacial do risco de determinada doença, apresentando finalidade exploratórias, sugerindo as variáveis locais do evento e fatores etiológicos desconhecidos que possam ser formuladores em termos de hipóteses e direcionem associações entre um evento e seus determinantes.

Segundo Dias *et al* (2005), o emprego do geoprocessamento nos estudos de hanseníase, são característicos pela coleta de casos por setores e distritos sanitários, enquanto à coleta ponto a ponto possibilita uma visualização real e fidedigna da distribuição da doença, permitindo ainda identificar ocorrência de aglomerados de casos. Garantindo ainda análise de hipóteses de fatores ambientais influentes e risco de adoecimento.

Definidos pelo Ministério da Saúde, os 10 maiores *clusters* do Brasil incluem 1173 municípios com 17,5% da população do país e concentram 53,5% dos casos novos diagnosticados de 2005 a 2007. Estas são áreas de maior risco, e por meio da delimitação de *clusters* é definida pela concentração de municípios prioritários de acordo com o critério epidemiológico das ações estratégicas de controle da hanseníase (BRASIL, 2012). O município de Ituiutaba do estado de Minas Gerais, com população estimada de 103.333 hab. para 2015, e uma área de mais de 2.598 km². Sua área urbana corresponde a 135 km², sendo a 16º maior do Brasil em área urbana. Localiza-se no oeste do estado, na região do Triângulo Mineiro (IBGE, 2009). Inserido no *cluster* 9 da hanseníase no Brasil, Ituiutaba apresenta em torno de 35 casos novos em atendimento por ano (Figura 2) (BRASIL, 2012).

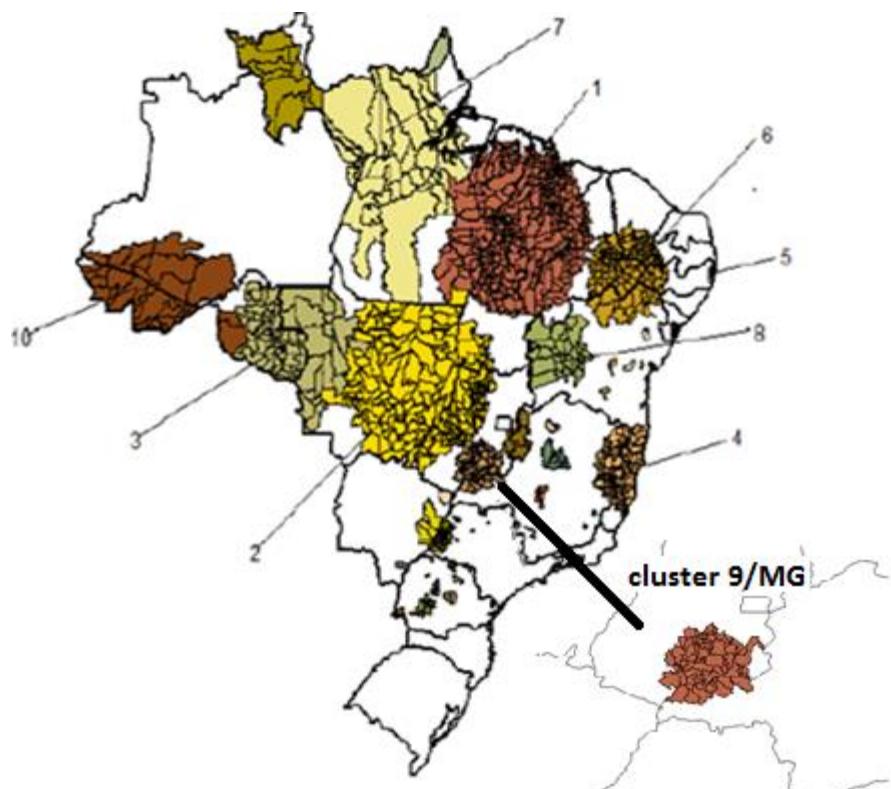


Figura 2: Agregados espaciais da hanseníase no Brasil.

1.6. Teste sorológico rápido (NDO-LID)

O LID-1 é uma proteína de fusão, que é derivada das proteínas recombinantes ML0405 e ML2331, que são específicas do *M. leprae*, por meio da amplificação do DNA por qPCR, purificação em gel de agarose e após ser digerido, o DNA de ML0405 e ML2331 é ligado individualmente em locais diferentes da *Escherichia coli* e os clones são induzidos a produzir o LID-1 (DUTHIE *et al.*, 2007; DUTHIE *et al.*, 2008). As análises da reatividade das imunoglobulinas contra o antígeno LID-1 demonstram que são principalmente da classe G (DUTHIE *et al.*, 2007; DUTHIE *et al.*, 2011) ao passo que contra o antígeno NDO-LID, que é um conjugado do sintético mimético ao PGL-1 e a proteína LID-1, foram observadas reatividade das classes IgM e IgG (CARDOSO *et al.*, 2013; DUTHIE *et al.*, 2014).

A especificidade da reação antígeno-anticorpo em casos de hanseníase no polo multibacilar para o PGL-1 é de 98% e a sensibilidade varia de 80% a 100%, sendo a reatividade a este antígeno principalmente de IgM, diferentemente de casos no polo paucibacilar, que apresentam níveis de imunoglobulinas específicas em níveis baixos de detecção, sensibilidade - 15 a 40% (OSKAM; SLIM; BÜHRER-SÉKULA, 2003). Estudo realizado em área hiperendêmica do Brasil indicou uma sensibilidade do LID-1 para o diagnóstico da hanseníase de 89% e especificidade de 42%. A baixa especificidade provavelmente está relacionada à presença de um grande número de indivíduos assintomáticos infectados com o *M. leprae* (SOUZA *et al.*, 2014). Por outro lado, o NDO-LID apresenta especificidade de 93,3% para MB.

1.7. Sorologia para ELISA anti PGL-1

O PGL-1 é um antígeno específico do *M. leprae* (HUNTER; BRENNAN, 1981; KOSTER *et al.*, 1987) e apresenta uma porção terminal, di-O-metil-glucose que é a chave para a alta especificidade da resposta humoral (MADEIRA, 2000). Estudos

prévios demonstraram que a soro reatividade anti-PGL-1 é observada em casos de hanseníase, mas não em pacientes com tuberculose ou outras infecções micobacterias (BRETT *et al.*, 1983; BÜHRER-SÉKULA *et al.*, 2003; CHO *et al.*, 1983; SPENCER; BRENNAN, 2011), indicando que não há reatividade cruzada com os glicolipídeos de outras micobactérias como a da tuberculose por exemplo (BÜHRER-SÉKULA *et al.*, 2003).

O teste *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) anti-PGL-I, é um ensaio imunoenzimático que permite a detecção de anticorpos IgM específicos contra o antígeno nativo PGL- 1, presente no *M. leprae*, principalmente nos pacientes multibacilares (CRUZ *et al.*, 2009). A sorologia pode desempenhar um papel importante na correta classificação dos pacientes com hanseníase, principalmente para os recém-diagnosticados com base nos sintomas clínicos (OSKAM *et al.*, 2003).

Diversos trabalhos demonstraram que o teste ELISA anti-PGL-I é o método mais prático para investigação soro-imunológica, infecção subclínica, detecção precoce da hanseníase (CRUZ *et al.*, 2009; CALADO *et al.*, 2005; MOURA *et al.*, 2008). Contatos que são soropositivos para anticorpos anti-PGL-I têm um significante fator de risco aumentado de desenvolver clinicamente a hanseníase (MOET *et al.*, 2004; DOUGLAS *et al.*, 2004).

1.8. Reação em Cadeia Da Polimerase em tempo real (qPCR) para a detecção do DNA de *M. leprae*

A técnica da qPCR (reação em cadeia da polimerase em tempo real) que detecta o DNA (ácido desoxirribonucléico) do *M. leprae* tem sido aplicada para a detecção do DNA das amostras de esfregaço dérmico, biópsia de pele e sangue periférico. Para a detecção do DNA de *M. leprae* serão utilizados iniciadores já validados em estudos anteriores a partir de sequências específicas do genoma do *M. leprae*. (ARAUJO *et al.* 2012; REIS *et al.* 2013). A sensibilidade e especificidade da qPCR é superior comparada ao método convencional PCR (ALMEIDA *et al.*, 2004; TRUMAN *et al.*, 2004). Contudo, quantitativa PCR em tempo real (qPCR) tem apresentado ainda maior sensibilidade e especificidade no diagnóstico de vários parasitas, e tem sido aplicada com êxito para

detectar DNA de *M. leprae*, principalmente em esfregaços de amostras de biópsia da pele (MARTINEZ *et al.*, 2006; LINI *et al.*, 2009; DA SILVA MARTINEZ *et al.*, 2011). Ainda não está claro se a detecção de *M. leprae* além de indicar infecção subclínica, a qPCR pode inferir risco de desenvolver a doença em contatos soropositivos.

É necessário definir se além de indicar subclínica infecção, *M. leprae* DNA no sangue pode representar um fator de risco para o desenvolvimento da hanseníase nesses indivíduos. O objetivo deste estudo para avaliar a presença de DNA de *M. leprae* em amostras de sangue de pacientes com hanseníase e sua família contatos (REIS *et al.*, 2014).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

Caracterizar a endemia hansônica do município de Ituiutaba no período de 2004 a 2014, por meio de ferramentas de georreferenciamento, a partir dos casos novos notificados no SINAN neste período. Levantar os contatos dos casos de hanseníase notificados, dos últimos dois anos (2013-2014), e acompanhá-los por meio de exames clínicos, imunológicos e moleculares (sorologia ELISA anti-PGL-1, qPCR de sangue e teste rápido (NDO-LID). Para monitoramento da vigilância da infecção pelo *M. leprae* em contatos com infecção subclínica, mostrando esta distribuição geográfica no município de Ituiutaba/MG.

2.2. Objetivos Específicos

1. Descrever a endemia hansônica dos casos confirmados de hanseníase no período de 2004 a 2014, e dos contatos relacionados a estes casos dos dois últimos anos 2013 e 2014, a partir do SINAN e SIG para mostrar à distribuição espacial da endemia hansônica no município;

2. Caracterizar os aspectos epidemiológicos da hanseníase utilizando o SIG para produção de mapas de densidade dos casos, associado aos indicadores de magnitude, tendência e transcendência da endemia no município;
3. Fazer levantamento dos contatos de hanseníase que foram acompanhados por exames clínicos, imunológicos (sorologia ELISA anti-PGL-I e teste rápido (NDO-LID) e moleculares (qPCR para detecção do DNA do *M. leprae*);
4. Identificar áreas de maior risco de adoecimento da população, com o objetivo de subsidiar as equipes do programa de saúde da família (PSF) para a busca ativa de casos, utilizando os indicadores epidemiológicos e os mapas temáticos produzidos por geoprocessamento;
5. Mapear a variabilidade espacial dos casos de hanseníase, e suas relações com a disseminação espacial dos contatos infectados subclínicamente no município de Ituiutaba;

3. Hipótese

Na área de estudo existe dependência espacial entre os casos da doença, o que influencia na formação de *clusters* de casos.

Os casos de hanseníase estariam agrupados, formando focos de contato e disseminação com o *M.leprae*.

Os infectados subclínicamente positivos aos exames moleculares e imunológicos estão espacialmente próximos aos *clusters* de doentes.

4. Justificativa

A transmissão do *M. leprae* ocorre por meio do contato interpessoal e no convívio de pessoas suscetíveis à doença com os doentes não tratados. Portanto é de grande importância o estudo do comportamento clínico da doença do ponto clínico epidemiológico e geográfico, dessa forma pode se esclarecer meios de transmissão e direcionar as ações de controle e eliminação da doença.

Estudos tem mostrado que os contatos domiciliares são o principal grupo de risco de desenvolver a doença, comparado à população geral. Alguns autores demonstraram que dentre os contatos soropositivos o risco de desenvolverem formas multibacilares é muito maior (VAN BEERS *et al.*, 1999; WALLACE *et al.*, 2003; GOULART *et al.*, 2008). Demais autores indicam a importância de os contatos testarem sorologia para exames moleculares e imunológicos, para permitir detectar a infecção subclínica e identificar possíveis portadores de bacilos que podem transmitir e disseminar doenças em regiões endêmicas, e que estes podem auxiliar no acompanhamento destes contatos com infecção subclínica para investigar o risco de adoecimento entre estes (REIS *et al.*, 2014; PATROCÍNIO *et al.*, 2005, ARAUJO *et al.*, 2012;)

Há ainda uma relação, mostrada em estudos que os pacientes multibacilares (MB) não tratados, são provavelmente a maior fonte de transmissão do *M. leprae*. E além disso o número de pacientes MB não parece não ser suficiente para justificar a única fonte de infecção do bacilo (ILA, 2002; PATROCÍNIO *et al.*, 2005). Exames complementares que parecem auxiliar no objetivo de interromper esta cadeia de transmissão, por meio da detecção de anticorpos contra o PGL-I do *M. leprae*, para identificar indivíduos infectados e sem sinais clínicos da doença. Assim como o ELISA anti PGL-1, exame já disponível na maioria dos serviços de referência, para detecção da infecção subclínica (LOBATO *et al.*, 2007; CALADO *et al.*, 2005).

Desse modo, o levantamento do perfil epidemiológico da hanseníase e o mapeamento e distribuição da doença na região, com associação de ferramentas de diagnóstico como: sorologia ELISA anti-PGL-I, teste rápido (NDO-LID) e qPCR de sangue para detecção do DNA do *M. leprae*. Deverão fornecer subsídios para políticas públicas de

intervenção e monitoramento da infecção pelo *M.Leprae* e endemia hansônica nesta região. (VAN BEERS *et al.*, 1999; GOULART *et al.*, 2010)

O estudo da distribuição espacial da hanseníase, com auxílio de ferramentas de georreferenciamento pode favorecer a análise de indicadores epidemiológicos, a distribuição dos casos, indicar áreas de maior risco de transmissão, ajudar na detecção de casos novos e demonstrar o comportamento espacial da doença dentro das comunidades, bairros, distritos censitários, cidades, estados e países, assim fornecendo aos gestores públicos uma ferramenta útil para implantar ações adequadas para controle e combate à doenças (ARAUJO, *et al.*, 2014; TELES *et al.*, 2010; FISCHER *et al.*, 2008; BARRETO *et al.*, 2014).

O SIG confere grande apoio à eliminação da hanseníase auxiliando a indicar áreas de circulação do bacilo e *clusters* de prevalência oculta. O município de Ituiutaba/MG foi escolhido para esta abordagem, pois caracteriza área de muito alta endemia para hanseníase, com coeficiente de detecção de 22,35/100.000 hab. Considerado município prioritário para ações de eliminação da hanseníase do *cluster* 9 da hanseníase no Brasil, segundo Ministério da Saúde, e está dentro da área de abrangência do Centro de Referência Nacional em Dermatologia Sanitária e Hanseníase (CREDESH, HC-UFG).

Esta situação demonstra uma necessidade de avaliar uma prevalência oculta não detectada, que pode estar influenciando na manutenção da cadeia de transmissão da doença e levando a complicações permanentes ao doente nesse município.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Local e tipo de estudo

Tratou-se de um estudo transversal realizado na área urbana do município de Ituiutaba (Figuras 2 e 3) *cluster 9* da hanseníase no Brasil (BRASIL/MS,2008), com população estimada em 103.330 habitantes, total de 35 casos novos (2011) e Coeficiente de detecção geral de 25,32/100.00 hab., tido como município prioritário para as ações de eliminação da hanseníase para o Ministério da Saúde, 2012, de acordo com parâmetro oficial de muito alta endemia de hanseníase, 20,00 a 39,99 casos por 100.000 hab. Considerado município prioritário para ações de eliminação da hanseníase do *cluster 9* de hanseníase do Brasil. (BRASIL/MS, 2012). Para abordagem dos pacientes e contatos, realizar as coletas de amostras de sangue, exames dos participantes, contamos com o apoio da Secretaria Municipal de Saúde de Ituiutaba/MG. Todas as etapas do projeto foram realizadas na Unidade Mista de Saúde I- Carlos Modesto, toda equipe participante envolvida no projeto, passou por treinamento prévio, com o objetivo de eliminar possíveis diferenças na abordagem e coleta das informações clínicas, epidemiológicas e amostras de sangue coletados.

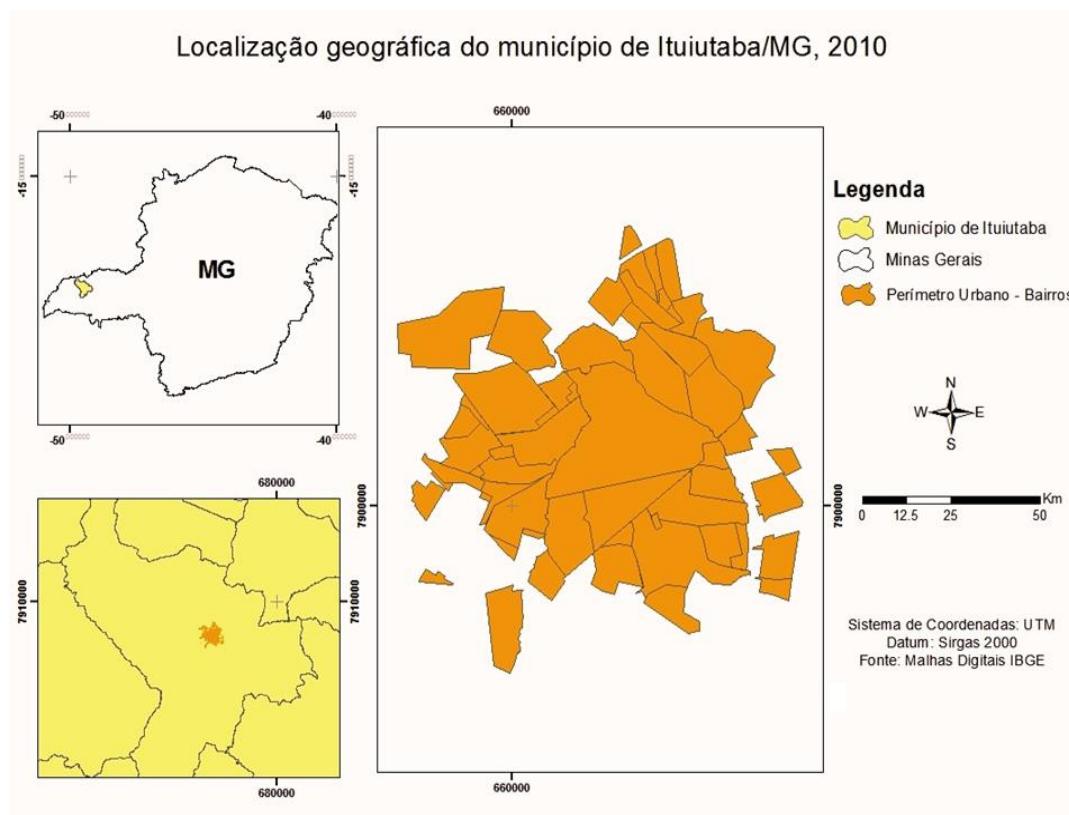


Figura 3. Localização geográfica do município de Ituiutaba/MG, 2010. (IBGE, 2010)

No período de 2004 a 2014, foram levantados 371 casos de hanseníase notificados no SINAN e total de 53 contatos, dos casos de hanseníase notificados nos anos de 2013 e 2014. Por meio das fichas de notificação do SINAN (Anexo 1) e prontuário fornecidos pela Secretaria Municipal de Saúde e Superintendência Regional de Saúde de Ituiutaba que faz parte da Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais, conforme previsto na declaração de instituição coparticipante.

A partir dos dados completos dos casos foi realizada a construção dos indicadores epidemiológicos atualizados do município entre 2004-2014, para mostrar a força de transmissão, magnitude e tendência da endemia foram calculados os coeficientes de detecção anual de casos, para medir a força de transmissão recente coeficiente de detecção em < de 15 anos e proporção de grau 2 de incapacidade física no momento do diagnóstico com a finalidade de analisar a efetividade das atividades de detecção oportuna e/ou precoce de casos. Os gráficos de tendência foram elaborados para cada indicador epidemiológico, com o objetivo de avaliar a dinâmica da endemia no município no período avaliado.

Conforme o MS estes são os parâmetros para definir as taxas de detecção usadas, para categorizar os níveis de endemicidade da doença (Quadro 1).

Indicador	Construção	Utilidade	Parâmetros
Coeficiente de detecção anual de casos novos de hanseníase por 100.000 habitantes	Numerador: casos novos residentes em determinado local e diagnosticados no ano de avaliação. Denominador: população total residente no mesmo local e período. Fator de multiplicação: 100.000	Medir força de morbidade, magnitude e tendência da endemia.	Hiperendêmico: $\geq 40,00/100.000$ hab. Muito Alto: 20,00 a 39,99/100.000 hab. Alto: 10,00 a 19,99/100.000 hab. Médio: 2,00 a 9,99/100.000 hab. Baixo: < 2,00/100.000 hab
Coeficiente de detecção anual de casos novos na população de 0 a 14 anos por 100.000 habitantes	Numerador: casos novos em menores de 15 anos de idade residentes em determinado local e diagnosticados no ano de avaliação. Denominador: população total residente no mesmo local e período. Fator de multiplicação: 100.000	Medir força de transmissão recente a endemia e sua tendência.	Hiperendêmico: $\geq 10,00/100.000$ hab. Muito Alto: 5,00 a 9,99/100.000 hab. Alto: 2,50 a 4,99/100.000 hab. Médio: 0,50 a 2,49/100.000 hab. Baixo: < 0,50/100.000
Proporção de casos de hanseníase com grau 2 de incapacidade física no momento do diagnóstico, entre os casos novos detectados e avaliados no ano	Numerador: casos novos com grau 2 de incapacidade física no diagnóstico, residentes em determinado local e detectados no ano de avaliação. Denominador: casos novos com grau de incapacidade física avaliado, residentes	Avaliar a efetividade das atividades de detecção oportuna e/ou precoce de casos	Alto: $\geq 10\%$ Médio 5 a 9,9% Baixo <5 %

	no mesmo local e período. Fator de multiplicação: 100		
--	--	--	--

Quadro 1 - Indicadores epidemiológicos de controle da hanseníase, Ministério da Saúde.(BRASIL/MS, 2010)

5.2. Coleta de dados

Para o georreferenciamento, do total de 371 casos notificados entre os anos 2004 e 2014, foram incluídos 81,7% (303/371) dos casos confirmados de hanseníase com informações clínicas e endereços completos, foram excluídos nove casos porque eram de área rural e 59 porque tinham endereço incompleto e/ou faltavam informações sobre a doença. As variáveis analisadas foram: identificação de cada caso pelo endereço completo, distribuído por bairro e distrito censitário de Ituiutaba; sexo, idade, classificação operacional (PB e MB), e forma clínica do caso índice, de acordo com a classificação de Madri (1953), que é adotada pelo MS do Brasil, para fins de notificação do caso de hanseníase: Indeterminado (I), Tuberculóide (T), Dimorfo (D) e Virchowiano (V) (BRASIL/MS, 2010).

De posse das fichas de notificação (Anexo 1), os casos de hanseníase, e contatos registrados do município de Ituiutaba receberam explicação sobre a pesquisa, e foram convidados à participar da pesquisa e assinatura de autorização previa para realização de exame clínico por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), (Anexo 2) em seguida na realização dos exames de rotina na unidade de saúde, foi realizada a abordagem dos contatos domiciliares, para assinatura e esclarecimento da pesquisa e assinatura do TCLE. Para esta pesquisa foram incluídos como contatos, aqueles que convivem ou conviveram com o doente no mesmo domicílio nos últimos cinco anos, conforme critério do MS (BRASIL/MS, 2010) e ainda um conceito ampliado, admitindo aqueles que foram expostos à carga do *M. leprae* do doente sem tratamento, ainda que não residentes no mesmo domicílio, por exemplo: cuidadores, babás, namorados, vizinhos, dentre outras relações que produzissem o relacionamento íntimo prolongado com o doente. Considerando que para o Ministério da Saúde a investigação epidemiológica se faz dentre os contatos domiciliares e suas

possíveis fontes de infecção. Assim os contatos foram convidados a participar da pesquisa os contatos de pacientes notificados os anos 2013 e 2014, e uma ficha de contatos foi preenchida para acompanhamento dos contatos e registro dos resultados dos exames (Anexo 4).

Todos estes contatos receberam esclarecimento sobre hanseníase e explicação sobre o principal grupo de risco de adoecer e então foi realizado o exame dermatoneurológico, e todos realizaram este exame totalmente despidos em seguida foram examinados através da palpação de nervos periféricos, para confirmar se os contatos não estavam doentes ou apresentavam algum sinal ou sintoma da doença. Feito isto, uma amostra de sangue periférico foi coletado para exames laboratoriais visando a detecção de contatos com infecção subclínica pelos seguintes exames: sorologia ELISA anti-PGL-I, para detecção de anticorpos IgM, conforme previamente descrito (LOBATO *et al.*, 2011; ARAÚJO *et al.*, 2012; REIS *et al.*, 2014) e teste sorológico rápido (LID-NDO), adquiridos da empresa Orange Life®, para detecção de anticorpos IgG e IgM específicos para *M. leprae* (DUTHIE *et al.*, 2014; 2007) e exame molecular qPCR para detecção de DNA do *M. leprae* em sangue periférico (GOULART *et al.*, 2015).

Amostras de sangue periférico foram colhidas por meio de punção venosa, a fim de realizar os ensaios sorológicos. O ensaio ELISA para detectar anticorpos IgM anti PGL-I foi realizada como previamente descrito (LOBATO *et al.*, 2011). Para moderar as variações inter e intra entre anti-PGL-I ensaios, os resultados de absorbância medidos a 492 nm foram convertidos em um índice de ELISA (IE), em que a densidade óptica (OD) da amostra foi dividido pela DO do corte- off ($EI = OD_{sample} / OD_{cut-off}$), com 1,1 como limite de positividade.

Para detectar anticorpos para os isótipos IgG e IgM específicos para a hanseníase em amostras de soro, foi utilizado o teste rápido de acordo com orientações do fabricante. O teste consiste na adição de soro não diluído (10 mL) e solução tampão (1 a 2 gotas) para um poço de amostra, seguido da leitura da linha de imuno-cromatográfica na janela de detecção após 10 min (Figura 4). A validação dos resultados necessária à visualização através da linha de controlo. O resultado positivo foi definido pela coloração da linha de controlo e a linha de teste. Para a leitura foi utilizado aparelho smartphone adaptado com um aplicativo desenvolvido pelo fabricante (Orange Life ®) (Figura 4), considerando os resultados positivos ($> 0,8$) e

negativos (<0,8), sendo que as leituras visuais foram realizadas por no mínimo dois profissionais.



Figura 4. Teste sorológico rápido (LID-NDO), Orange Life®, aplicativo utilizado para leitura do teste.

Ensaio de Sondas como previamente descrito conforme instruções do fabricante do reagente TaqMan® utilizando as sondas (Gene: ML0024-Acesso GenBank não AL583917) Universal PCR Master Mix (2X) (AppliedBiosystems). Todas as reações serão processadas no equipamento ABI7300 (AppliedBiosystems). Os resultados serão obtidos de acordo com o primeiro ciclo de amplificação que produzir um sinal de fluorescência detectável (cyclethreshold – Ct). Os valores desconhecidos serão interpolados automaticamente em uma curva padrão formados por pontos de valores previamente conhecidos, obtidos por meio de clonagem de fragmentos da sequência específica do *M. leprae* escolhida, com posterior purificação e quantificação em espectrofotômetro (REIS et al., 2014; MARTINEZ et al., 2011).

No momento da avaliação da cicatriz vacinal por Bacilo de Calmette-Guérin-Intradérmica (BCG-ID) a conduta adotada seguiu as recomendações do Ministério da Saúde, quando apresentavam zero de cicatriz vacinal ou uma cicatriz vacinal foi indicado o reforço com uma dose BCG-ID com encaminhamento e agendamento prévio com a equipe de saúde responsável. Independentemente de serem contatos de casos PB ou MB, visando intensificar a vigilância epidemiológica dos contatos.

5.3. Manuseio de dados espaciais

O geoprocessamento dos casos de hanseníase detectados no período de 2004 a 2014 e contatos entre 2013 e 2014, na área urbana do município foi realizado por meio de equipamento de Sistema de Posicionamento Global (GPS) GARMIN 62s® e a ferramenta Google Earth, para definição da latitude e longitude, gerando um ponto em cada mapa digitalizado do município.

Com o (SIG), por meio do ArcGis 9.3.1 e QGis 2.12 foram elaborados os mapas temáticos partindo das seguintes variáveis: faixa etária, gênero, raça e sexo; epidemiológicos (indicadores de magnitude e tendência) e clínicos (forma clínica, classificação operacional e grau de incapacidade), dos casos de hanseníase notificados. Para gerar os mapas e as informações espaciais contamos com o apoio do Laboratório de Epidemiologia Espacial da Universidade Federal do Pará (LabEE-UFPA).

O SIG foi empregado para análise dos dados, resultando na geração de mapas temáticos, das malhas digitais, contendo os perímetros urbanos com os setores censitários inseridos nos bairros do município em estudo. As malhas digitais foram fornecidas pelo IBGE e as informações adicionais através da Secretaria de Planejamento Urbano de Ituiutaba/MG.

5.4. Análise estatística

Para análise de tendência da endemia hanseníaca no período foram elaborados gráficos de dispersão de séries temporais e traçado a linha de regressão linear. Para análise da correlação dos coeficientes ao longo dos anos (Correlação de Pearson), considerando $p<0,05$. O teste de comparação múltipla entre proporções foi utilizado para comparar se ocorreram diferenças estatísticas entre as variáveis clínicas e epidemiológicas (BIASE, 2009). Para compreender a probabilidade de adoecer de hanseníase entre os contatos foi aplicado Likelihood ratio inferindo possível doença (teste positivo) ou doença improvável (teste negativo) entre os contatos testados. O software BioEstat 5.0 foi utilizado para analisar a estatística deste trabalho (AYRES et al., 2007). Para análise da estatística espacial utilizamos dois métodos estatísticos

espaciais, incluindo Kulldorff estatísticas de varredura espacial e Índice Moran I, global e local de autocorrelação espacial (KULLDORFF & NAGARWALLA, 1995; MORAN, 1950).

5.5. Aspectos Éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia/MG, em 2015, sob o parecer 1.127.833 (Anexo 4).

6. RESULTADOS

6.1. Casos notificados de hanseníase

Entre os anos 2004 a 2014 foram diagnosticados 371 casos novos de hanseníase no sendo este grupo o objeto da construção de indicadores epidemiológicos atualizados para o município de Ituiutaba/MG. Os casos de hanseníase 2,42% (9/371) provenientes da zona rural não foram georreferenciados. Dos casos novos da zona urbana foi 18,91% (59/312) foram excluídos do georreferenciamento porque tinham endereço incompleto e/ou faltavam informações sobre a doença. Por tanto foi possível localizar e georreferenciar 81,7% (303/371) dos casos confirmados de hanseníase com informações clínicas e endereços completos.

Diante da distribuição dos casos novos no decorrer do período de estudo, observa-se que o ano de 2006 foi o que apresentou o maior número de casos novos de hanseníase registrados com 14,56%; (54/371), ficando os anos de 2005 e 2008 bem próximos a este ano (14,02%; 52/371) e 10,78 (40/371) respectivamente e 2013 4,04% (15/371) apresentando o menor número de casos entre os anos analisados (Gráfico1).

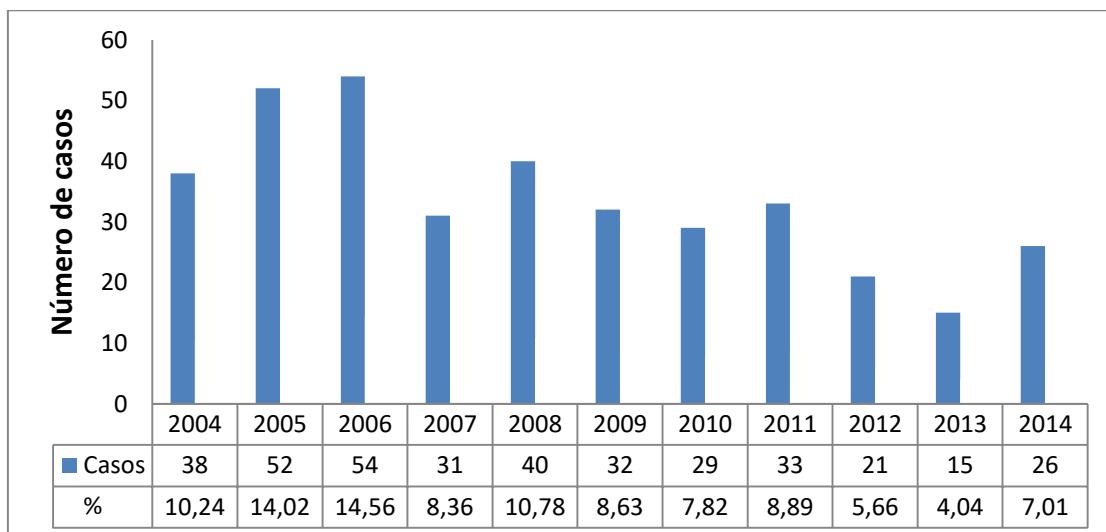


Gráfico 1: Número de Casos de hanseníase registrados e notificados no SINAN, Ituiutaba/MG no período de 2004 a 2014.

A classificação operacional que mais predominou foi a MB 57,4% (213/371) correspondendo a mais da metade dos casos PB (42,6%; 158/371) ($p<0,05$). (Figura 5 e Tabela 1).

Tabela 1: Distribuição dos casos novos de hanseníase, segundo classificação operacional, forma clínica, sexo, faixa etária, e grau de incapacidade. 2004-2014. Ituiutaba/MG, Brasil.

Variáveis	N	%	p valor
Classificação Operacional			
PB	213	42,6	b
MB	158	57,4	a
Forma Clínica			
Indeterminada ^(a)	53	14,2	c
Tuberculóide ^(b)	111	30	a,b
Dimorfa ^(c)	169	45,5	a
Virchowiana ^(d)	38	10,2	d
Sexo			
Feminino	195	52,5	a
Masculino	176	47,4	a
Faixa Etária			
0-14 anos	11	3	d
15-34 anos	67	18	c
35-59 anos	177	47,7	a
60 e mais	116	31,2	b
Grau de Incapacidade			
0	254	68,4	a
1	98	26,4	b
2	19	5	c
Total	371	100	

*médias seguidas por letras distintas em cada variável, diferem entre si pelo teste de comparação múltipla (Comparação entre proporções e Tukey, P<0,05).

Esta ocorrência de casos MB e PB foi observada em todos os setores censitários do município, com ênfase no maior número de casos MB nos setores onde estão inseridos os seguintes bairros (Alcides Junqueira, Jardim Rosário e Bela Vista).

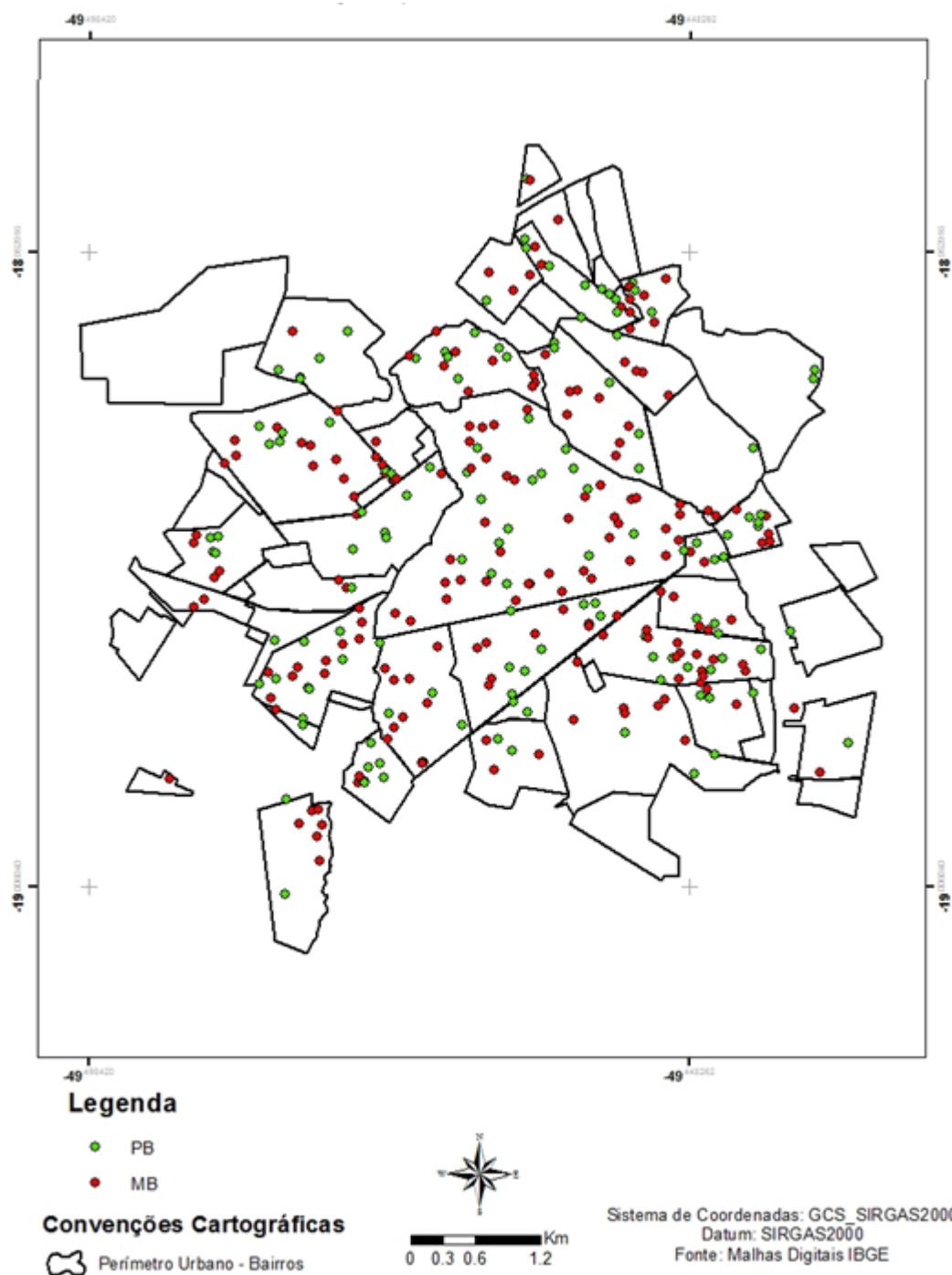


Figura 5: Localização espacial dos casos de hanseníase segundo classificação operacional em Ituiutaba, Brasil. 2004-2014.

Em referência às formas clínicas, a D foi a mais prevalente com 45,3% (168/371) dos casos, seguida pela T com 30,5% (113/371) e a forma I 14% (52/371) ($p<0,05$). Pacientes com forma V responderam por 10,2% (38/371) dos casos novos no período ($p<0,05$) (Figura 6 e Tabela 1).

Figura 6: Localização espacial dos casos de hanseníase, segundo forma clínica. Ituiutaba, 2004-2014.

Quanto aos indicadores epidemiológicos, o coeficiente de detecção anual de casos novos de hanseníase por 100.000 hab. variou de 39,11 a 25,32 casos por 100.000 habitantes, permanecendo dentro do parâmetro de muito alta endemia (20 a 39,99 casos /100.000hab.), com uma média de coeficiente de detecção de casos novos de 29,30/100.000hab. Confirmado pelo gráfico de tendência e correlação de Person ($p=0.0025$) (Gráfico 2).

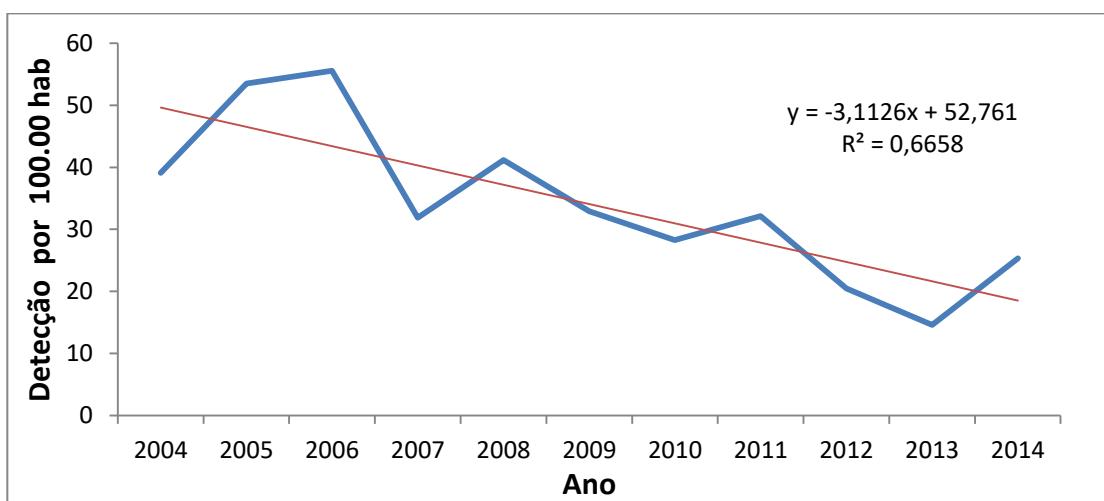


Gráfico 2: Coeficiente de detecção anual de casos notificados de hanseníase por 100.000 habitantes. Ituiutaba/MG, 2004-2014.

O coeficiente de detecção anual de casos novos na população de 0 a 14 anos/100.000 hab. apresentou variação de 18,54 casos por 100.000 hab. a zero, entre os anos do período, saindo de hiperendêmico para o parâmetro baixo, fechando o período em zero. Foi notificado somente 3% (11/371) (Tabela 1 e Figura 7) a linha de tendência foi decrescente e estatisticamente significativa ($p=0.0014$) (Gráfico 3).

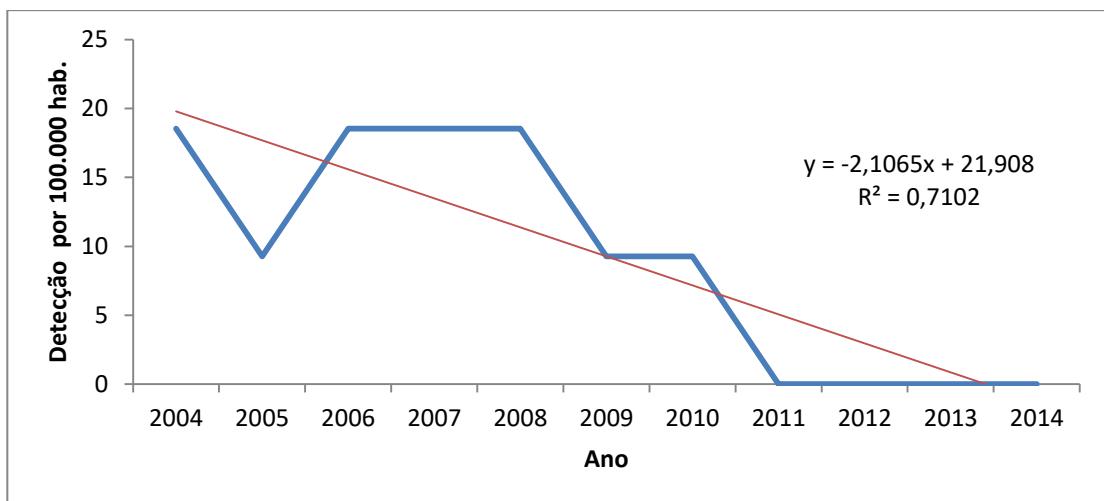
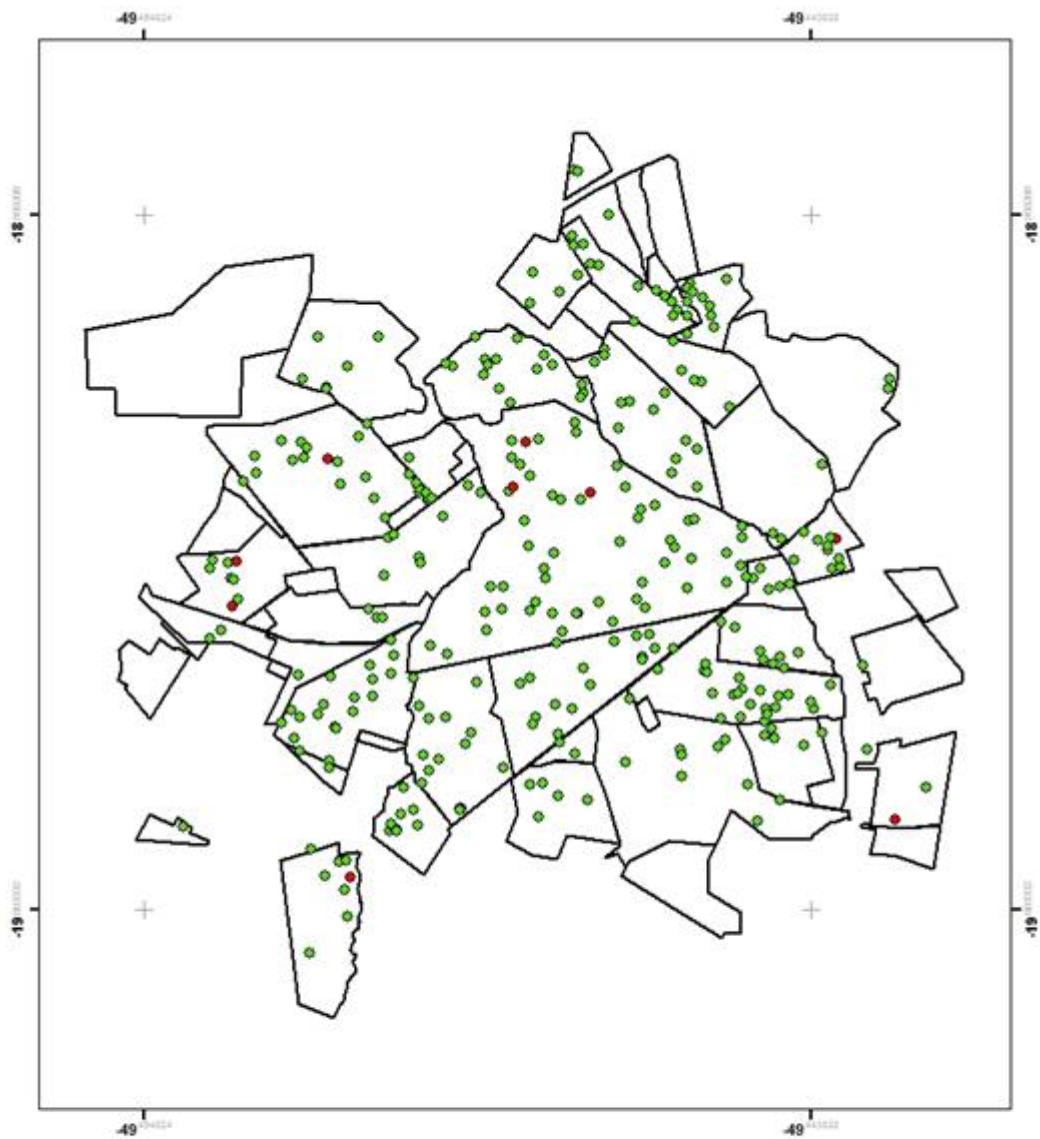


Gráfico 3: Coeficiente de detecção anual de casos em <15 anos notificados por 100.000 habitantes. Ituiutaba/MG, 2004-2014.

Quanto à distribuição de casos em menores de 15 anos, os distritos censitários inseridos na região central do município apresentavam maior quantidade de casos, sendo os três casos observados, muito próximos um dos outros.



Legenda

- < 15
- > 15



Sistema de Coordenadas: GCS_SIRGAS2000
 Datum: SIRGAS2000
 Fonte: Malhas Digitais IBGE

Convenções Cartográficas

 Perímetro Urbano - Bairros

0 0.35 0.7 1.4 Km

Figura 7: Localização espacial dos casos de hanseníase, segundo faixa etária menor e maior de 15 anos. Ituiutaba, 2004-2014.

Quanto a avaliação do grau de incapacidade física, a proporção de grau 2 apresentou variação de 5% a 8% dos casos de 2004 a 2014, respectivamente

alcançando 9,8% no ano 2005. Também apresentou linha de tendência decrescente, apesar de não significativa ($p=0,1122$) (Gráfico 4).

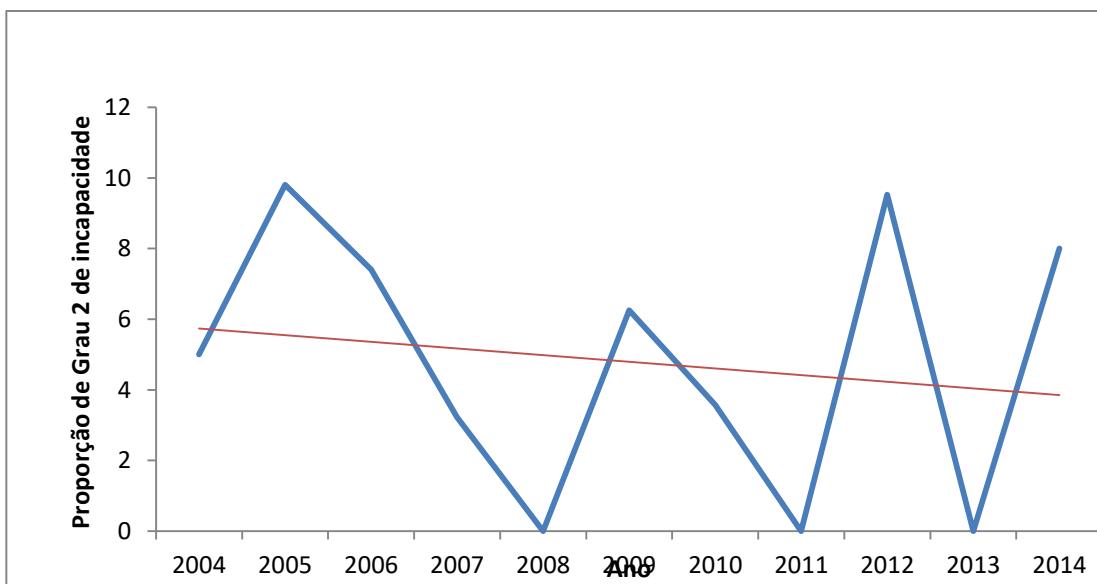
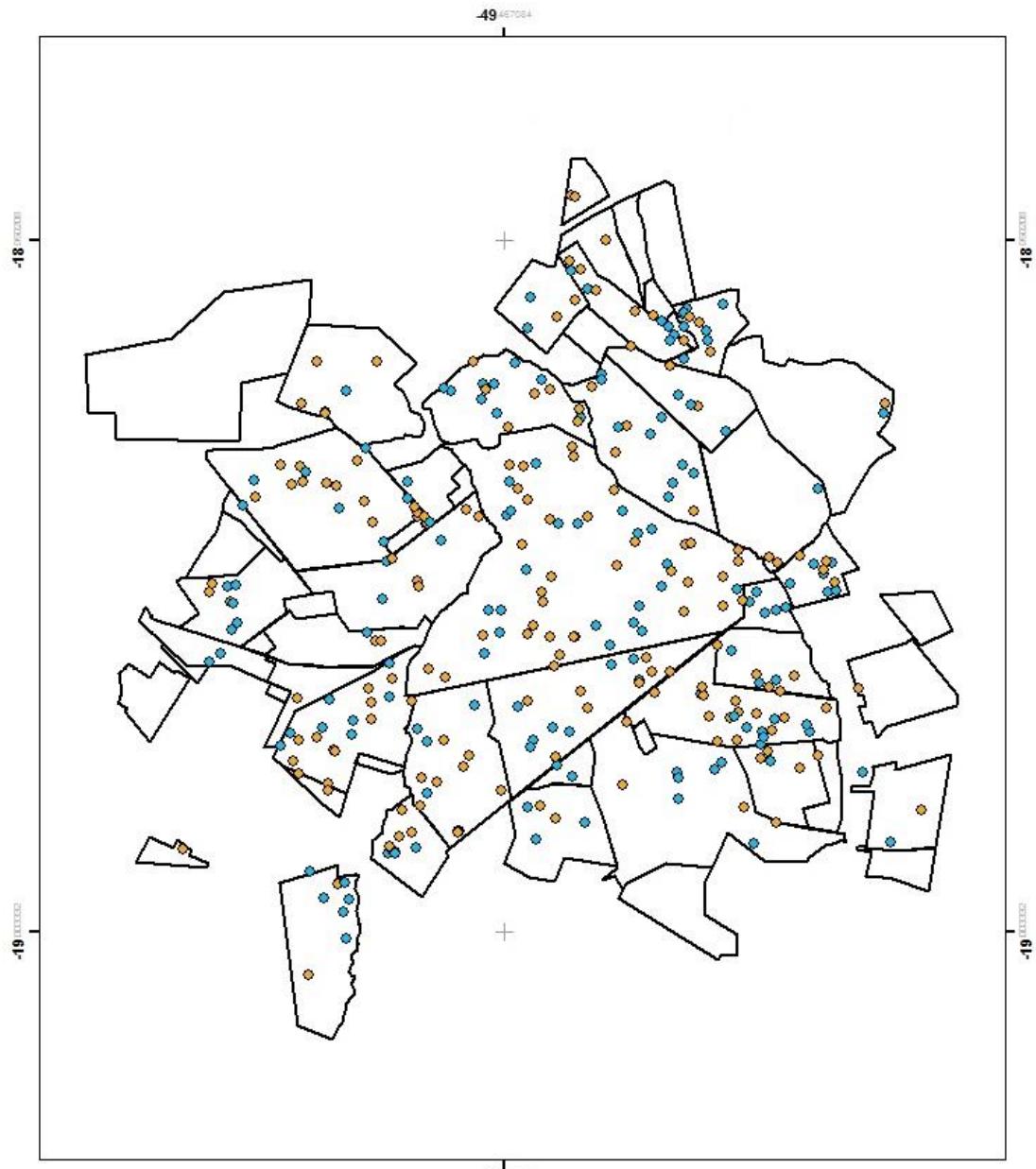


Gráfico 4: Proporção de casos com grau 2 de incapacidade física entre os casos novos notificados. Ituiutaba/MG, 2004-2014.

Em relação ao gênero, a maioria dos casos foi do sexo feminino, com 52,6% (195/371) dos casos ($p<0,05$) (Tabela 1 e Figura 8). Quanto à faixa etária, mais da metade dos casos 47,7% (177/371) estava entre 35 a 59 anos, com diferença estatisticamente significante das outras ($p<0,05$) (Tabela 1).



Legenda

- F
- M

Convenções Cartográficas

 Perímetro Urbano - Bairros



0 0.3 0.6 1.2 Km

Sistema de Coordenadas: GCS_SIRGAS2000
Datum: SIRGAS2000
Fonte: Malhas Digitais IBGE

Figura 8: Localização espacial dos casos de hanseníase, segundo sexo. Ituiutaba, 2004-2014.

Quanto a avaliação do grau de incapacidade física, o grau 2 foi encontrado em média 11,1% (76/683) de todos os casos novos notificados, o grau 1 em 25,2%

(172/683) e o grau 0 em 63,7% (435/683) ($p<0,05$), considerando que 100% dos casos novos foram avaliados quanto ao grau de incapacidade no diagnóstico (Tabela 1 e Figura 9).

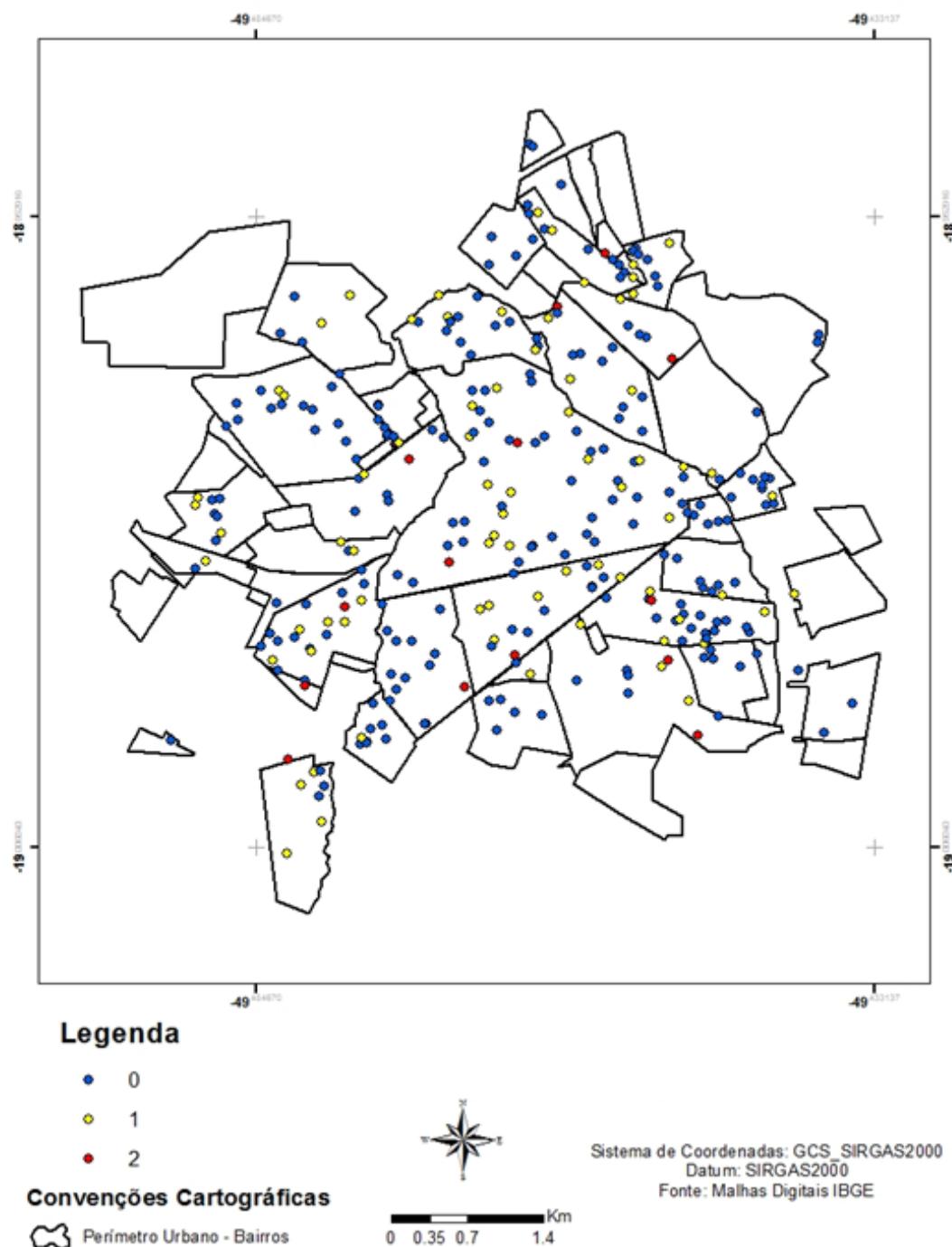


Figura 9. Disposição dos casos segundo grau de incapacidade avaliados no momento do diagnóstico. Ituiutaba/MG, 2004-2014.

6.2. Análise espacial da endemia no município

O mapa de densidade populacional exibiu que os bairros Natal, Jerônimo Mendonça, Alcides Junqueira, Jardim do Rosário e Progresso, apresentam maiores densidade populacionais dentro do perímetro urbano, áreas estas compostas por 5.600 a 11.800 hab. por Km² (Figura 10). Quando se aplicou o estimador de Kernel, o mapa de estimativa de densidade de casos por área apresentou maior número de casos por Km² (*cluster* vermelho e alaranjado) (Figura 10) nos bairros Alcides Junqueira e Jardim do Rosário, sendo estes os mais próximos à região central; seguidos por bairros Natal e Jerônimo Mendonça ao sul, os bairros Ipiranga e Progresso, e ainda o bairro Novo Mundo também próximos ao centro, áreas que indicam maior concentração de casos.

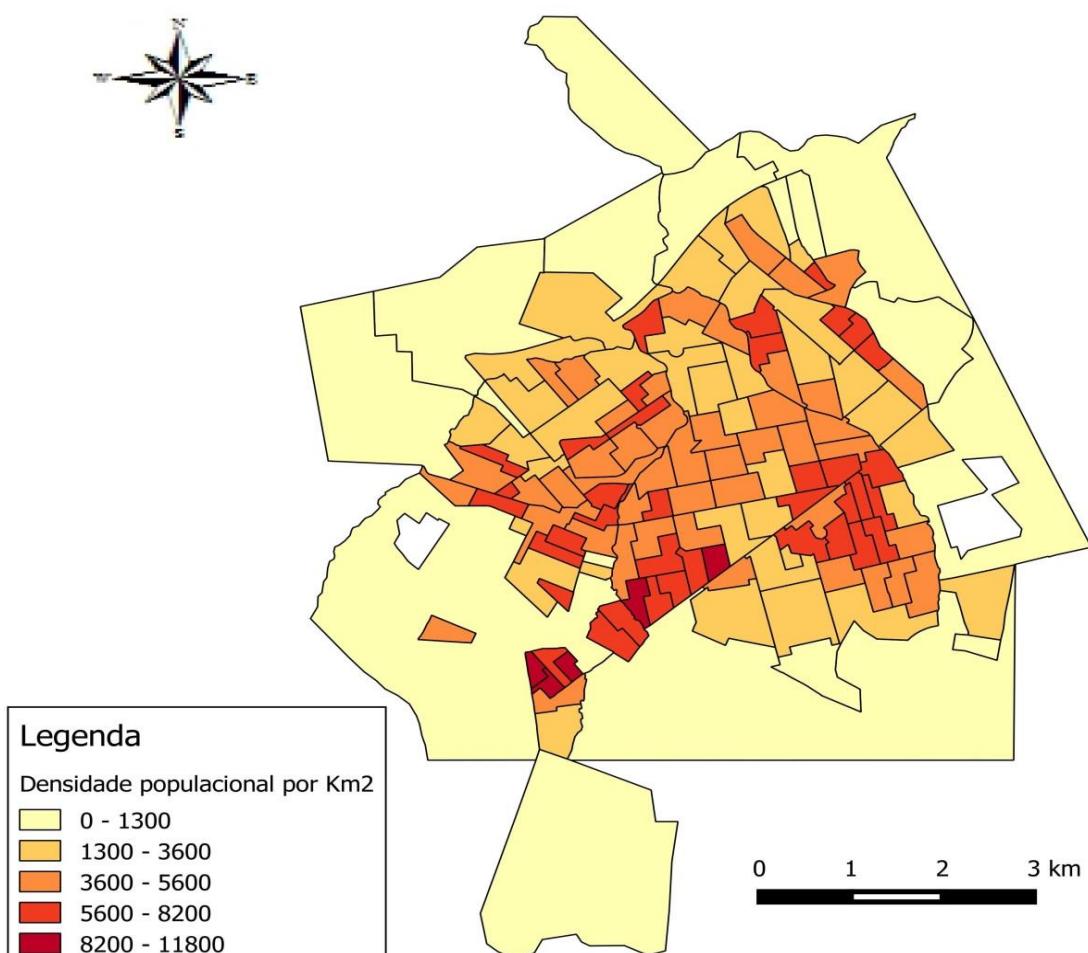


Figura 10: Densidade populacional segundo setores censitários por Km², censo urbano, 2010. Ituiutaba/MG, 2010.

A distribuição espacial de casos de hanseníase de Ituiutaba-MG, em área urbana e identificando o número de casos por setor censitários (Figura 11), assim como a densidade de casos está demonstrada de acordo com o nível de endemicidade, partindo de baixa endemia para hiperendêmico, seguindo os parâmetros oficiais (Figura 12).

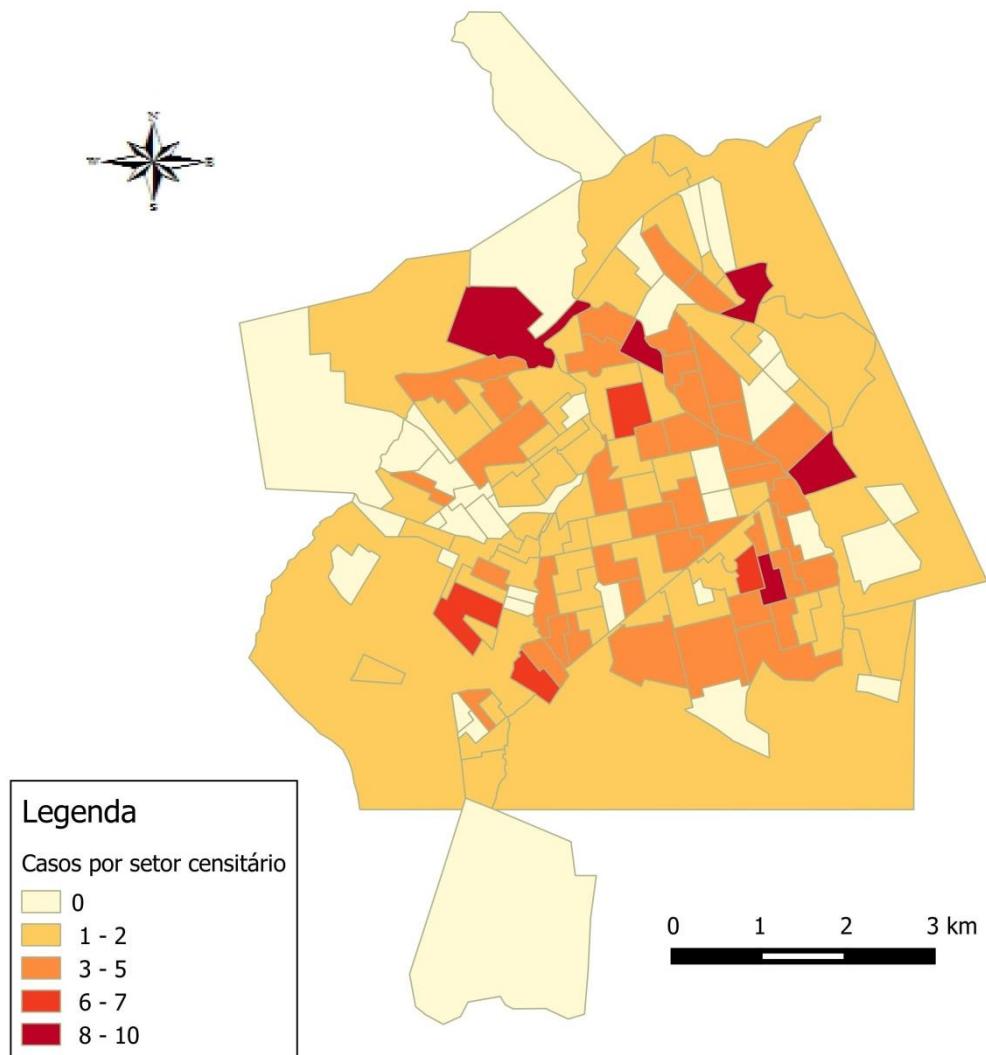


Figura 11: Localização espacial do número de casos de hanseníase por setor censitário. Ituiutaba, 2004-2014.

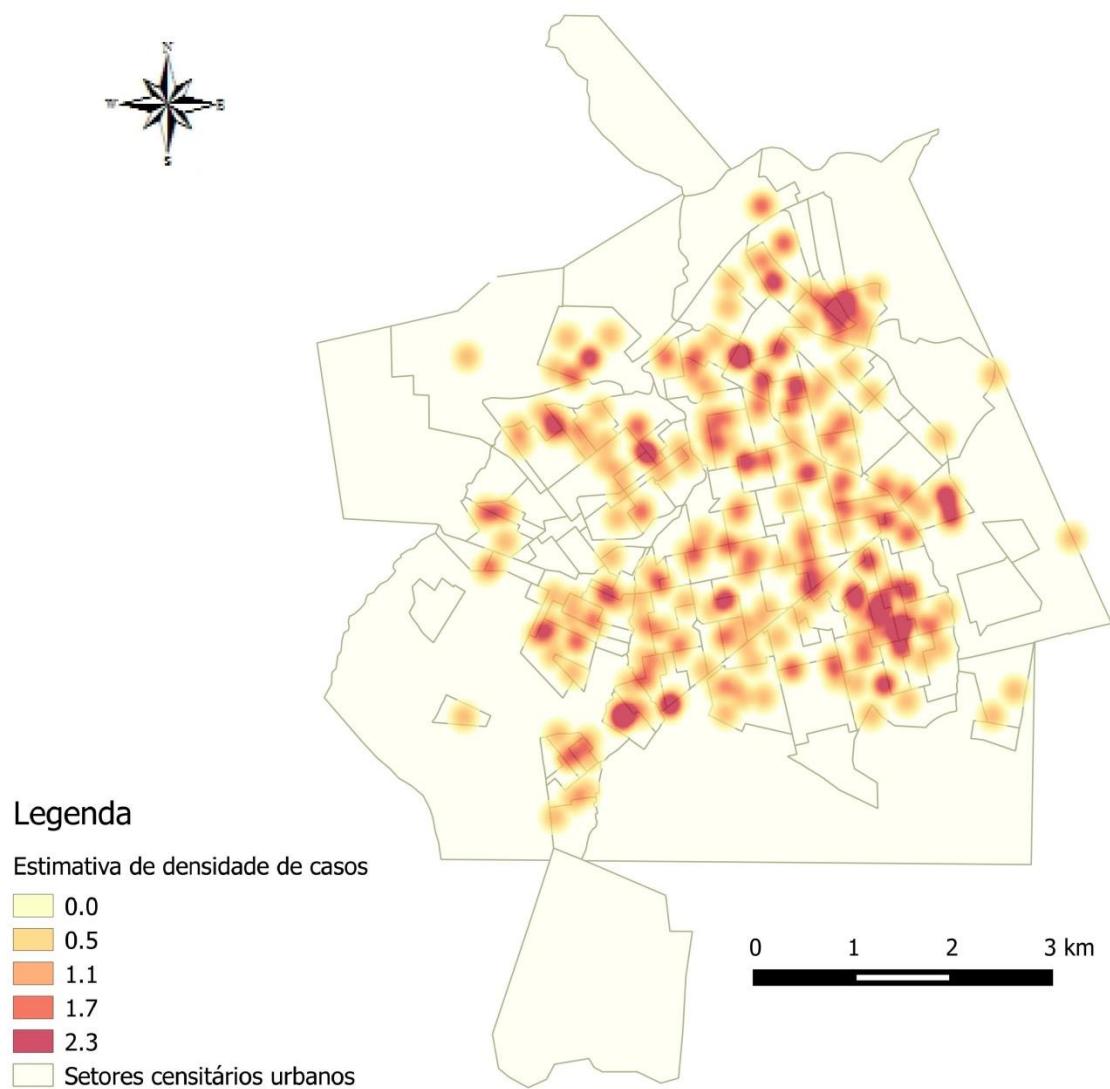


Figura 12: Localização espacial dos casos de hanseníase, segundo estimativa de densidade de casos por Km². Ituiutaba/MG, 2004-2014.

Para a taxa de detecção de casos, conforme (Figura 13), mostra que a distribuição de casos se dispõe principalmente entre a disposição de casos encontra-se em todo o perímetro urbano, com ênfase nos bairros da região a nordeste do município e em bairros da região sul, onde é possível identificar áreas hiperendêmicas no município.

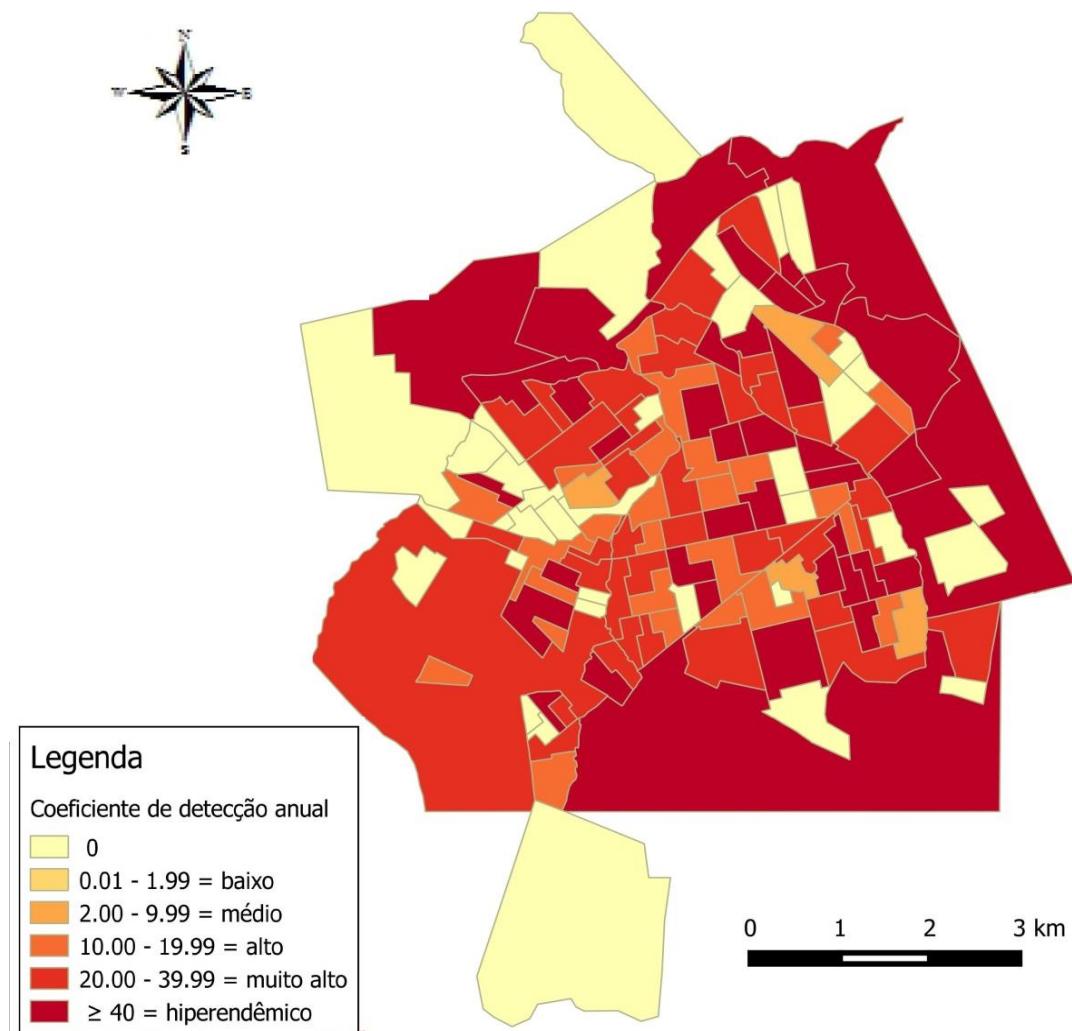


Figura 13. Coeficiente de detecção geral por 100.00 hab. por setor censitário de acordo com o parâmetro de endemicidade, de baixo para hiperendêmico, com base no censo urbano 2010. Ituiutaba/MG 2004-2014.

Quando se aplicou o estimador de densidade de Kernel, o mapa de estimativa de densidade de casos por área apresentou maior número de casos por Km^2 (Figura 14) nos bairros Alcides Junqueira e Jardim do Rosário, sendo estes mais próximos à região central; seguidos por bairros, Jerônimo Mendonça e Natal ao sul, os bairros Bela Vista e novo horizonte ao leste do município, e ainda o bairro Novo Mundo também próximo ao centro, áreas que indicam maior concentração de doentes.

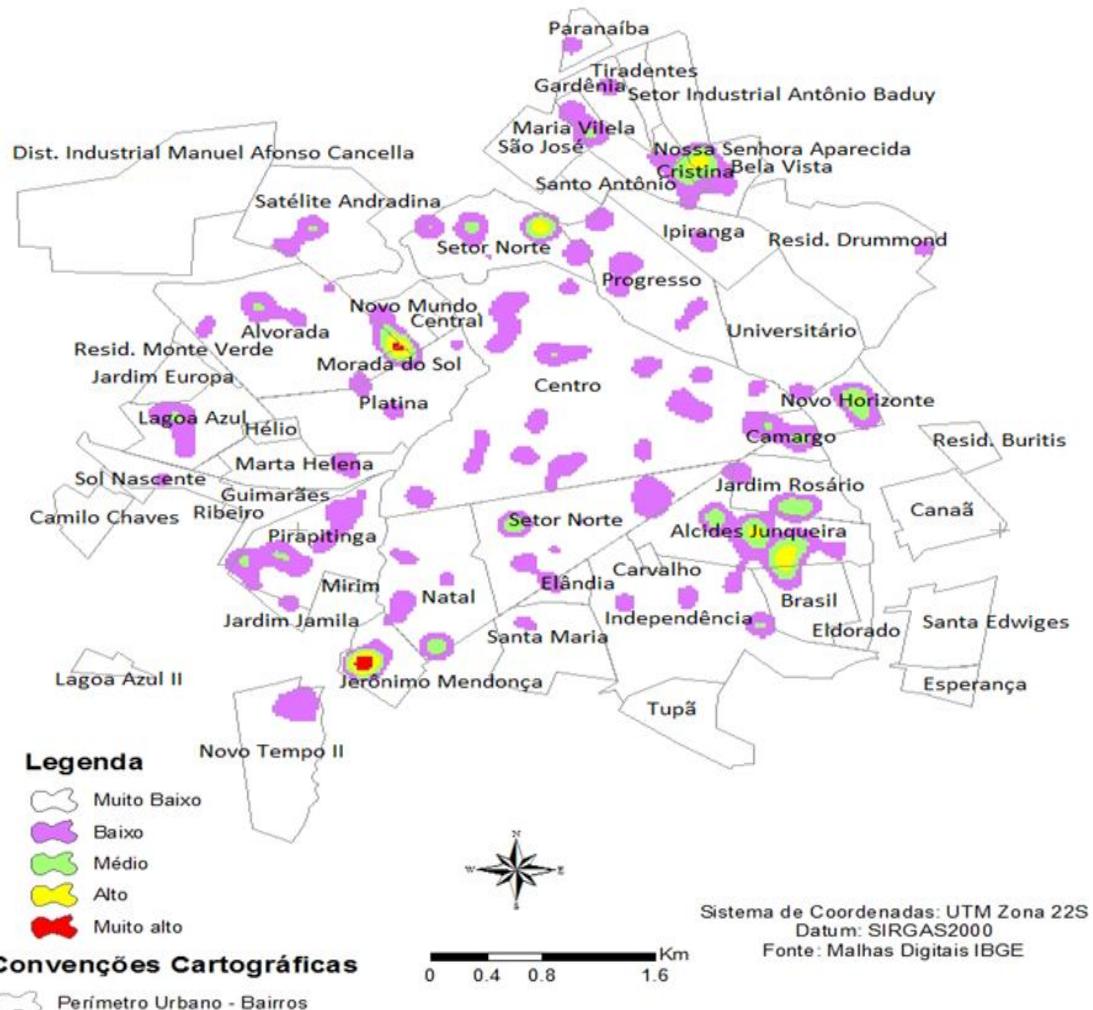


Figura 14. Estimativa de densidade de casos por Km² (Kernel). Ituiutaba/MG, 2004-2014.

6.3. Contatos de hanseníase

Entre os anos 2013 e 2014 foram notificados pelo SINAN 41 casos de hanseníase no município de Ituiutaba-MG, foram examinados no mesmo período 53 contatos destes casos no mesmo período, residentes apenas no perímetro urbano. Foi possível realizar exame dermató-neurológico e testar sorologia de todos os 53 contatos. Destes, 17% (9/53) eram soropositivos ao ELISA IgM anti-PGL-I e 45,28% (24/53) foram positivos ao teste rápido LID-NDO com resposta IgG e IgM específicos para *M. leprae*. Quanto a qPCR para detecção de DNA de *M. leprae* em sangue periférico, a positividade foi 9,4% (5/53). Houve diferença estatisticamente significante entre o

primeiro e o último teste sorológico ($p=0.0033$), diferença não observada entre o teste ELISA anti-PGL-1 e qPCR de sangue para detecção de *M.leprae* ($p=0,1607$) (Tabela 2).

Tabela 2: Distribuição dos contatos com infecção subclínica e/ou portador sadio, isto é, soropositivos pelo ELISA anti-PGL1 e/ou com positividade para a detecção do DNA em sangue e Teste sorológico rápido (IgG e IgM) positivo, sexo, classificação operacional e forma clínica do caso índice. Ituiutaba/MG, 2013 e 2014.

Variáveis	N	%	p valor
Exames laboratoriais			
ELISA anti-PGL1 positivos	9	17	a,b
qPCR de sangue positivos	5	9,4	b
Teste rápido (LID-NDO) positivos	24	42,3	b,c
Sexo			
F	30	56,6	a
M	23	43,3	a
CO do caso índice **			
PB	15	23,3	b
MB	38	71,7	a
FC do caso índice **			
I	18	34	a
T	12	22,6	b
D	17	32,1	a
V	6	11,3	c,a
Total	53	100	

* Porcentagens seguidas de letras distintas não diferem entre si pelo teste de comparação múltipla de proporção com p-valor $<0,05$. (ANOVA seguido de pós teste Tukey, Coef. Phi)

** CO – classificação operacional do caso índice.

FC – forma clínica do caso índice.

Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre o teste sorológico rápido (NDO-LID) comparado ao qPCR para detecção de DNA de *M. leprae* em sangue periférico (Tabela 2). A concordância entre os exames pelo teste Kappa foi fraca (0,24) ($p=0.0158$). Entre os contatos, 56,6% (30/53) apresentaram positividade a pelo menos um dos exames moleculares e/ou imunológicos. Estes foram georreferenciados na malha digital da cidade de Ituiutaba indicando a distribuição

espacial dos soropositivos (Figura 15). Enquanto 43,3% (23/53) foram negativos para todos os exames laboratoriais (Figura 16) (Tabela 2).

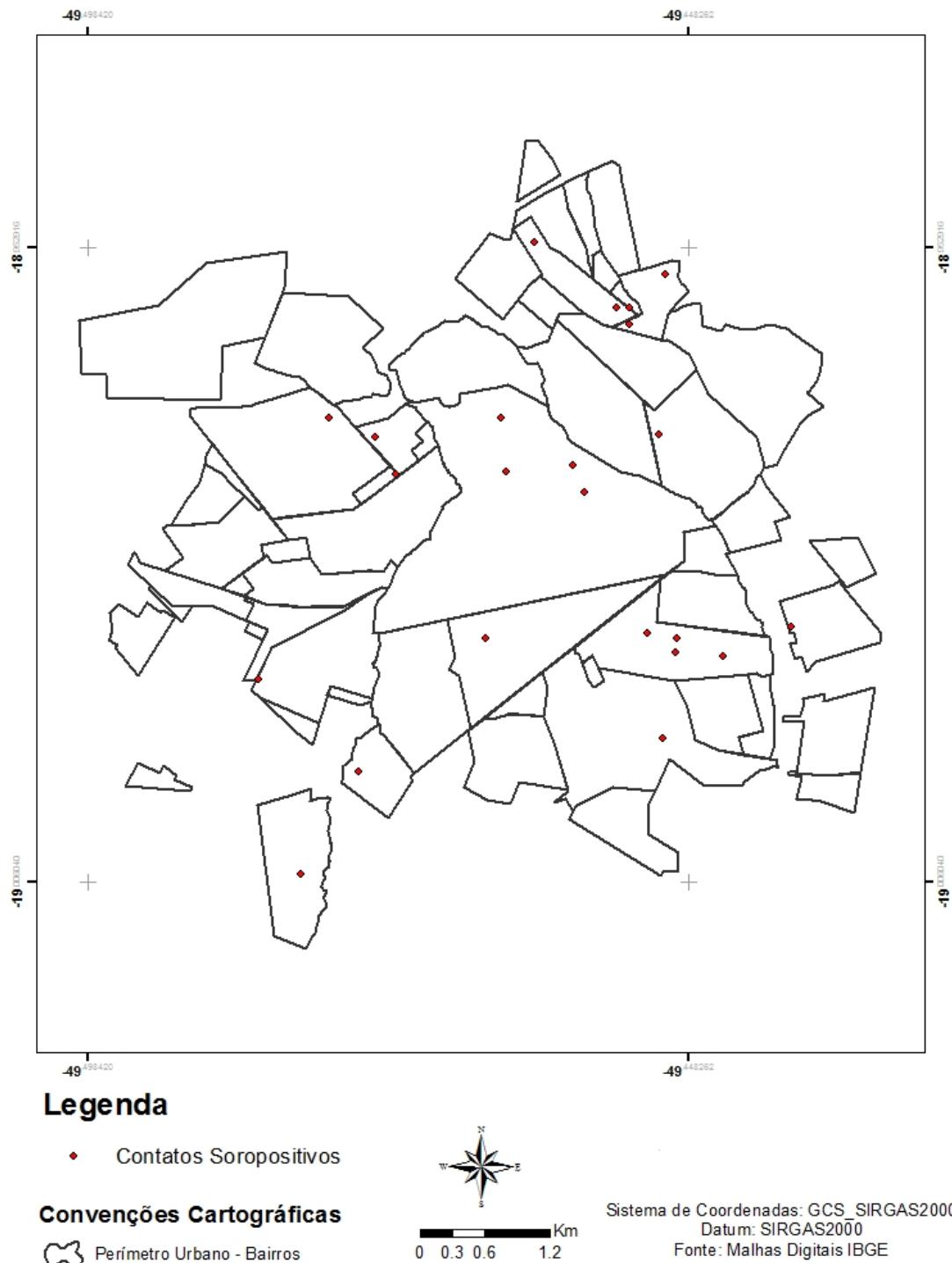
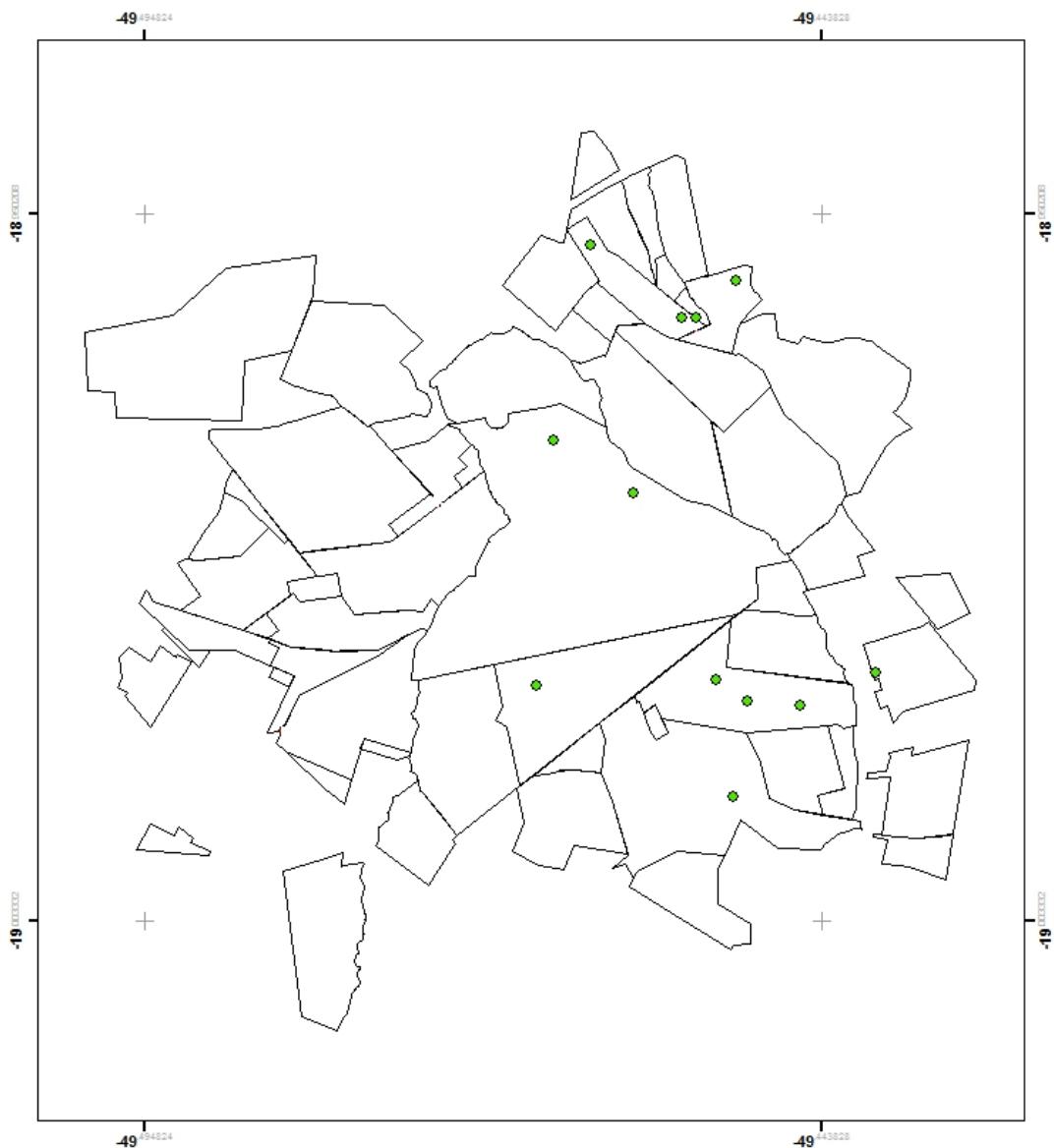


Figura 15. Distribuição de contatos com infecção subclínica, soropositivos a pelo menos um dos exames laboratoriais, ELISA anti-PGL-1, Teste rápido (NDO-LID) e/ou qPCR de sangue. Ituiutaba/MG, 2013-2014.



Legenda

● Negativo



Sistema de Coordenadas: GCS_SIRGAS2000

Datum: SIRGAS2000

Fonte: Malhas Digitais IBGE

Convenções Cartográficas

● Perímetro Urbano - Bairros

0 0.35 0.7 1.4 Km

Figura 16. Distribuição de contatos que testaram negativo a todos os exames laboratoriais, ELISAanti-PGL-1, Teste rápido (NDO-LID) e/ou qPCR de sangue. Ituiutaba/MG, 2013-2014.

Para mostrar possíveis *clusters* de infectados subclínicos, foi aplicada estimativa de densidade de Kernel, que indicaram dois *clusters* importantes de contatos próximos nos setores censitários nos bairros Novo Mundo e no bairro Alcides

Junqueira. Outros três *clusters* com menor densidade de infectados foram visualizados nos bairros Natal, Centro e no bairro Alvorada (Figura 16).

O teste Likelihood aplicado para estimar chances de adoecimento entre os contatos portadores sadios do *M.leprae*, elucidou que a chance do contato sadio adoecer sendo positivo ao teste sorológico rápido (LID-NDO) é 2,42. As chances de adoecer entre os positivos ao ELISA anti-PGL1 testada foi 0,70 entre os contatos examinados no período. Estimando as chances de adoecimento entre os positivos ao qPCR de sangue para detecção de *M.leprae*, a chance de adoecer entre os positivos foi 0,60.

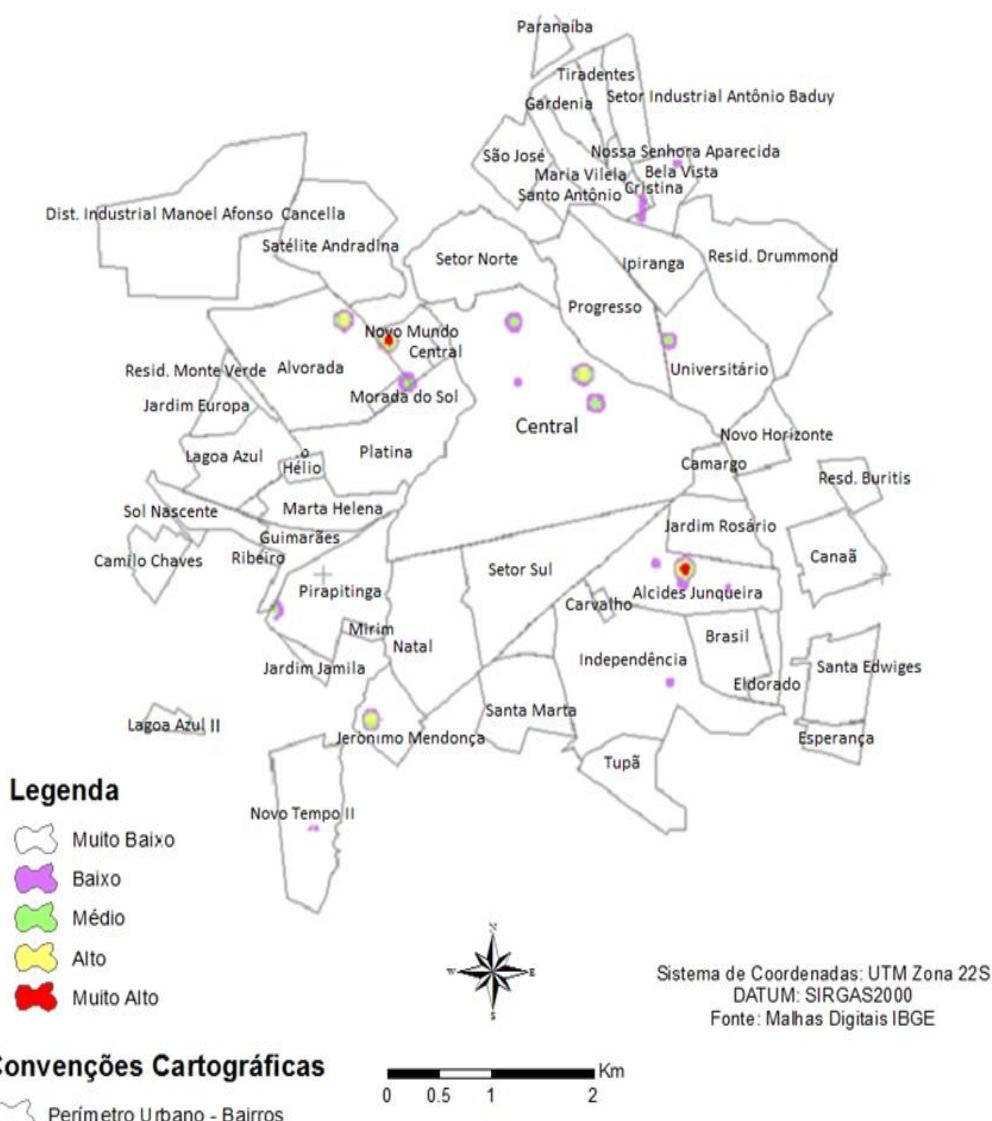


Figura 17. Densidade de contatos por Km² (Kernel) com infecção subclínica soropositivos (Teste rápido NDO-LID, ELISA anti PGL-1 e qPCR de sangue) por setores censitários, 2013-2014.

7. DISCUSSÃO

Este trabalho aplicou a metodologia SIG e técnicas de análise espacial assim como ferramentas imunológicas e moleculares para caracterização de endemia de hanseníase no município e vigilância da infecção pelo *M. leprae* em contatos com infecção subclínica, que podem exercer papel na cadeia de transmissão da doença (DUTHIE et al., 2014; ARAÚJO et al., 2015). Diversos outros trabalhos têm demonstrado o uso do SIG para descrever características epidemiológicas de doenças como malária, tuberculose, dengue, hanseníase, leishmaniose (BAUTISTA et al., 2006; JIA et al., 2008; HONÓRIO et al., 2009; BARRETO et al., 2012; TELES et al., 2014).

Analizando a distribuição espacial dos casos, determinou-se que a relação da disposição espacial destes casos no nível de setor censitário contidos nos bairros, ocorreu principalmente em bairros com maiores densidades populacionais. Este dado pode estar relacionado ao fato de que as áreas urbanas são resultado de constantes migrações que causam um crescimento urbano desordenado, compondo grupos e conjuntos de pessoas ou atividades concentradas, que muitas vezes envolvem condições socioeconômicas precárias (SAMPAIO et al., 2013; BAKKER et al., 2004).

Além da hipótese de maior densidade populacional, que possam estar influenciando o surgimento dos aglomerados espaciais de casos, os *clusters* encontrados nos setores censitários inseridos nos bairros Natal, Jerônimo Mendonça e Jardim do Rosário, bairros de condições socioeconômicas desfavoráveis, o que pode ser fator determinante para favorecer a transmissão do *M. leprae* (BARRETO et al., 2014; BAKKER et al., 2004).

Outro fator importante é que o município de Ituiutaba tem passado por um processo de migração por parte de trabalhadores do setor agrícola, originários de regiões com altas taxas de detecção de hanseníase. Conforme discutido nos achados de SILVA e SANTOS 2014, esta microrregião de Ituiutaba recebeu diversas agroindústrias canavieiras a partir da década de 1990. E neste período centenas de trabalhadores se deslocaram da região Nordeste do país para o corte de cana nesta região, e estes se deparam com condições precárias, desde condições de moradia, alimentação transporte e rendimentos mensais. O levantamento feito pelos autores mostrou que o estado do Piauí é responsável por enviar 87% dos trabalhadores deste

setor para a microrregião de Ituiutaba seguidos por 7% de trabalhadores do estado do Maranhão e 6% de Pernambuco. (SILVA & SANTOS, 2014). O estado do Piauí apresentou coeficiente de detecção de 34,61 casos/100.000 hab. em 2012, assim como o estado do Pernambuco 27,70 casos por 100.000 hab. e 56,90 casos por 100.000 hab. do Maranhão no mesmo ano. (SINAN, 2012).

A busca das informações do passado que contribuíram para a realidade de distribuição de casos no município, apontou que na localização do bairro Natal em meados dos anos 70 e 80, havia um hospital denominado Leão XIII, que acolheu egressos de colônias de hanseníase (antigos leprosários) do nordeste do país, que vinham para o município de Ituiutaba/MG em busca de assistência, e estes foram ali internados para tratamento. Enquanto as famílias destes doentes migraram também para esta área, no entorno do hospital, igualmente o fizeram as famílias de pacientes que tratavam tuberculose no mesmo hospital (Dados coletados em campo). Ao longo dos anos, estes indivíduos inseridos neste conjunto espacial, doentes e familiares, conviveram com estigma e preconceitos, provocados por tal condição. Fatores que corroboram com os achados atuais das relações sociais peculiares a este município, conforme já abordado anteriormente.

Estes dados corroboram com a nossa hipótese, dos aglomerados espaciais, influenciarem para manutenção da cadeia de transmissão do *M.Leprae*. Segundo Penna e colaboradores, 2009, em seus achados na região da Amazônia, este comportamento, de desenvolvimento da agricultura e migração, contribui para formação de assentamentos, e assim, podem resultar no surgimento de novos casos da hanseníase. Ainda segundo os autores reforçam que como seus achados para região da Amazônia, esta realidade de deslocamento de populações e pode se reproduzir em outras localidades.

Uma vez que os trabalhadores que migram em busca de melhores condições de vida e salários, acabam expostos às condições deste setor agrícola, após as jornadas exaustivas do corte da cana estes voltam para os alojamentos onde ficam em quartos de tamanho reduzido com pouca ou nenhuma ventilação, com beliches onde ficam quatro homens. Diante destas condições descritas, é apropriado dizer que estas condições podem influenciar para transmissão e circulação *M.leprae*, porém é

necessário averiguar individualmente este grupo, para elucidar possíveis doentes sem tratamento e infetados subclínicos entre eles.

Por ser um município de muito alta endemia, comprovado pelos indicadores epidemiológicos de detecção de casos novos, o padrão de distribuição de casos de hanseníase que encontramos entre 2004-2014 em Ituiutaba mostrou que os casos estão disseminados por toda área urbana do município, mesmo padrão observado em outros trabalhos (MONTENEGRO et al., 2004; SAMPAIO et al., 2013). Porém diferentes taxas de detecção dentro dos diferentes setores censitários foram demonstradas, variando entre baixa a hiperendêmica, de acordo com o parâmetro oficial. Isto pode ser explicado por baixa cobertura e falhas no sistema de saúde como discute (PENNA et al., 2009) que cita diferentes taxas de detecção entre os *clusters* de doentes. Estes achados sinalizam que estas áreas devem ser prioritárias para programas de controle municipais (BARRETO et al., 2014; MONTENEGRO et al., 2004). Em algumas áreas, onde não foram detectados aglomerados espaciais de doentes e contatos, que não deixaram claro que a doença esta ausente, mas podem sim, indicar áreas não detectadas por dificuldades operacionais e ainda pelo falta do conhecimento da distribuição epidemiológica da hanseníase no município por parte das equipes de saúde. No período avaliado foi possível observar nos mapas de densidade de casos por área, e por densidade populacional, que a distribuição da doença apresenta *clusters*, ou seja, aglomerados onde está concentrada a maioria dos casos (DE SOUZA DIAS et al., 2007).

Os possíveis *clusters* demonstrados para os casos coincidiram com os *clusters* de contatos infectados subclinicamente, indicando que estas, são áreas de transmissão ativa do *M.leprae*, pois concentram maior número de casos conforme demonstrado por MONTENEGRO et al. (2004), bem como infecção ativa evidenciado pelos contatos com infecção subclínica, positivos aos exames sorológicos e moleculares, aplicados no monitoramento dos mesmos, o que indica maior força de transmissão da hanseníase nessas áreas. (ARAÚJO et al., 2015; REIS et al., 2014; JOB et al., 2008; BARRETO et al., 2014). Apesar das estatísticas espaciais de Moran I ($p < 0,05$) e varredura espacial de Kulldorff ($p < 0,05$) não apontar a existência de um cluster estatisticamente significativo. Através destes dados podemos determinar a tendência à aglomeração de casos, nas áreas indicadas como clusters, uma vez que estas são consideradas prioritárias, inferimos que estas devem ser alvo de maior investigação de casos e

contatos. Segundo Barreto e colaboradores, 2014, a análise espacial e GIS tornaram-se ferramentas importantes para a compreensão da dinâmica de transmissão da hanseníase em países com poucos recursos, e que apesar da vantagens e desvantagens das estatísticas espaciais, mais do que o método, é necessário analisar os dados, e para permitir as tomadas de decisão que determinam áreas de prioridade para direcionamento das atividades de controle (KULLDORFF & NAGARWALLA, 1995; MORAN, 1950).

Na classificação operacional, a maioria dos casos novos eram MB 57,41%, e a forma clínica mais prevalente foi a forma D, indicando que a carga de doença e da infecção ainda é alta no município, o que pode aumentar o risco de incapacidades (GOULART *et al.*, 2008). As mulheres responderam pela maioria 52,5% dos casos, apesar de não ser observada diferença estatística (LANA *et al.*, 2003). Alguns estudos inferem que o maior número de casos em mulheres se deve ao fato de que as mulheres são mais preocupadas com a autoimagem do que os homens, além disso, devido a uma maior identificação dessas portadoras, pelo fato de terem maior atenção com a própria saúde mais acesso ao serviço de saúde (HINRICHSEN *et al.*, 2004; MOREIRA *et al.*, 2003; OPROMOLLA *et al.*, 2005). Outros estudos mostram que a hanseníase afeta mais homens que mulheres (MIRANZI *et al.*, 2010). Porém não há evidência para razões biológicas explicarem a diferença na taxa de detecção de casos entre homens e mulheres (SIMOES & DELELLO, 2005; FREITAS & OLIVEIRA, 2008; ALVES *et al.*, 2010).

Com referência à faixa etária, a que predominou entre os casos novos detectados no período deste estudo corresponde à população economicamente ativa, independente do sexo, em pleno exercício das atividades laborais (GOULART *et al.*, 2002; GOMES *et al.*, 2005; CORREA *et al.*, 2006). Essa população corre o risco de desenvolver incapacidades, deficiências e estados reacionais, podendo se afastar de suas atividades econômicas e gerando um alto custo social (ARAÚJO, 2003; LANA *et al.*, 2003). Encontramos 3% de casos em < de 15 anos na população em estudo, não diferindo de outros estudos que reportam em torno de 1,97% a 5% (MIRANZI *et al.*, 2010; DUARTE-CUNHA *et al.*, 2012; LANA *et al.*, 2007). O coeficiente de detecção de casos novos em menores de 15 anos saiu do parâmetro hiperendêmico para baixo no período analisado, o que pode indicar uma diminuição da força de transmissão recente a endemia (BRASIL, 2010).

Apesar de ter alcançado o parâmetro baixo a redução desse indicador epidemiológico precisa ser confirmado nos períodos subsequentes. A proporção de casos com grau II de incapacidade física entre os avaliados no diagnóstico foi considerada média de acordo com o parâmetro oficial, o que pode sugerir um diagnóstico tardio no município, principalmente pela prevalência de casos MB detectados (BRASIL, 2010), grupo que apresenta maior risco de desenvolver reações e incapacidades (ARAÚJO, 2003; LANA *et al.*, 2003).

A investigação epidemiológica de contatos demonstrou 17% de positividade para anticorpos IgM contra o PGL-I do *M. leprae*, dados próximos ao encontrado em outros estudos que reportam em torno de 7% (DOUGLAS *et al.*, 2004; ARAÚJO *et al.*, 2012; HOUSSAIN *et al.*, 1990). Diante disso podemos inferir que por estar próximos espacialmente dos casos de hanseníase estes tem maior risco de infecção.

Corroborando com achados recentes que mostram que contatos domiciliares e contatos sociais que vivem nas imediações de um caso de hanseníase e seus contatos sociais têm um maior risco de infecção (BARRETO *et al.*, 2014; FEESTRA *et al.*, 2013; BAKKER *et al.*, 2004;). Em relação a 45,3%, de positividade encontrada para teste rápido LID-NDO, que detecta anticorpos da classe IgG e IgM contra o bacilo, demonstra exposição recente e tardia entre os contatos (FABRI *et al.*, 2015). A identificação desses indivíduos com infecção subclínica, nos quais os sinais clínicos ainda não se tornaram evidentes, é fundamental para o monitoramento desse grupo com maior risco de adoecer de formas multibacilares (LOBATO *et al.*, 2011; ARAÚJO *et al.*, 2012; DUTHIE *et al.*, 2014; ARAÚJO *et al.*, 2015).

A detecção de DNA do *M. leprae* em sangue periférico mostra a existência de infectados subclinicamente por *M. leprae* que estão envolvidos na cadeia de transmissão do bacilo em áreas endêmicas, em trabalhos anteriores demonstrou-se nesses contatos com qPCR positivos um maior risco de adoecer. Embora a positividade tenha sido alta entre os contatos, a sensibilidade do teste é baixa, assim seria necessária a combinação de outros testes diagnósticos (FABRI *et al.*, 2015; CARDOSO *et al.*, 2013). Apesar testar apenas 53 contatos a qPCR de sangue para detecção do bacilo, um estudo realizado anteriormente envolveu mais de 800 contatos, e encontrou 1,2% de positivos e estes, no seguimento de sete anos encontrou que 26

deles desenvolveram a doença, conferindo 14,78 vezes maior risco de adoecer em relação aos contatos saudáveis. (REIS et al., 2014; GOULART et al., 2015).

A reprodutividade desta metodologia para um maior número de contatos no município, pode auxiliar a esclarecer a utilização do teste e sua aplicação, visto que outros trabalhos já discutiram estas mesmas ferramentas imunológicas e moleculares para avaliar e monitorar contatos (DUTHIE et al., 2014; BÜHRER-SÉKULA et al., 2008; ARAÚJO et al., 2015; BARRETO et al., 2013). A quantidade de contatos sadios com infecção subclínica, positivos em pelo menos um dos exames 56,6% demonstra a intensa circulação do bacilo nessa área de alta endemia, favorecendo o contato com pessoas suscetíveis e o consequente adoecimento (REIS et al., 2013; FABRI et al., 2015; ARAÚJO et al 2015).

Estes resultados diferem de outro estudo, que testou a infecção subclínica através a medição do PGL-1 níveis de anticorpos em contatos e moradores de uma antiga colônia de hanseníase na Tailândia, e não confirmou a hipótese de infecção subclínica ativa entre estes. Porém o autor reconhece a necessidade de métodos diagnósticos adequados para confirmar este achado.

Estes resultados apresentam ferramentas diretas para o controle da hanseníase neste município tornando apropriada a proposição de uma intervenção como manutenção do monitoramento de contatos com infecção subclínica principal grupo de risco e mesmo a quimioprofilaxia, conforme proposto por outros trabalhos do nosso grupo (GOULART et al., 2008; REIS et al., 2013; GOULART et al., 2015; ARAÚJO et al 2015).

8. Conclusão

Entre 2004-2014 encontramos um padrão generalizado de casos de hanseníase no perímetro urbano do município de Ituiutaba e diferentes coeficientes de detecção de casos por setores censitários inseridos nos bairros, com importante variação entre baixo à hiperendêmico. Quanto aos casos notificados no período, mostramos a predominância de casos entre o sexo feminino, e maioria de casos das formas Multibacilares, sendo o maior número de casos da forma clínica dimorfa. A faixa etária mais prevalente foi entre 35-59 anos e a proporção de grau 2 teve variação de 5% a 8%, apresentou linha de tendência decrescente, apesar de não significativa ($p=0.1122$).

Em relação aos indicadores epidemiológicos, o coeficiente de detecção de casos se manteve teve uma variação de 39,11 a 25,32 casos por 100.000 hab. sem sair do parâmetro de muito alta endemia (20 a 39,99 casos /100.000 hab.), a detecção em < de 15 anos saiu do parâmetro hiperendêmico, com 18,54 casos por 100.000 hab. para zero alcançando o parâmetro baixo.

A análise espacial dos casos indicou áreas de aglomerados espaciais de doentes demonstrando que algumas localidades do município são prioritárias em relação as outras, com menores densidade de casos por Km².

A vigilância da infecção pelo *M. leprae* em contatos domiciliares encontrou 69,8% infectados subclínicamente, distribuídos em: 17% soropositivos ao ELISA anti-PGL-I; 42,3% positivos ao teste rápido (NDO-LID) e 30,1% positivos na qPCR para detecção de DNA de *M. leprae*. Foi mostrado dois principais *clusters* de contatos com infecção subclínica, sendo que estes coincidiram com os *clusters* de doentes.

Os fatores precisos para justificar a distribuição da endemia no município, não são amplamente conhecidos ainda, necessitando de maior investigação das relações intermunicipais. No entanto este estudo comprovou a eficácia do SIG como ferramenta ímpar para espacializar a distribuição de casos de hanseníase e identificar possíveis *clusters* de doentes, e distribuição da carga da doença. Contribuindo para identificar fatores de riscos e estratégias de planejamento, assim como monitoramento de áreas de maior risco de circulação do *M.leprae* através das ferramentas de exames

imunológicos e moleculares. Consideramos o que nossos achados favorecem o planejamento epidemiológico para as equipes de saúde locais na busca ativa de novos casos.

9. Considerações Finais

Os resultados desta dissertação foram apresentados previamente a uma banca de qualificação, em formato de artigo científico, a banca foi composta por três professores titulares e doutores. Após as sugestões e correções da banca examinadora, este artigo foi corrigido e traduzido para língua Inglesa conforme indicação da revista. Atualmente encontra-se submetido na Acta Tropica ISSN: 0001-706X, e encontra-se em fase de apreciação (Anexo 5).

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, E. C.; MARTINEZ, A. N.; MANIERO, V. C. Detection of *Mycobacterium leprae* DNA by polymerase chain reaction in the blood and nasal secretion of Brazilian household contacts. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 99, p. 509–512, 2004.

ARAÚJO, S. et al. Unveiling healthy carriers and subclinical infections among household contacts of leprosy patients who play potential roles in the disease chain of transmission. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 107 n. 1 p. 55–59, 2012 Suppl.

AYRES, M. et al. **Aplicações de estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**. 4. ed. Belém [s.n.], 2007.

BAKKER, M. et al. Population survey to determine risk factors for *Mycobacterium leprae* transmission and infection. **International Journal Epidemiology**. London v.33: p.1329–1336, 2004.

BARRETO, J.G.; GUIMARAES, L.D.E.S; FRADE, M.A.; ROSA, P.S.; SALGADO, C.G. High rates of undiagnosed leprosy and subclinical infection amongst school children in the Amazon Region **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 107, n.1 p. 60–67, 2012 Suppl.

BAUTISTA CT, ADELINA STC, JEFFREY RR, CALAMPA C, ROPER MT, HIGHTOWER AW, MAGILL AJ. Epidemiology and Spatial Analysis Of Malaria In The Northern Peruvian Amazon. **Journal Tropical Medicine Hygiene**. Baltimore, v.75 n.6, p. 1216–1222, 2006.

BRASIL MTLRF, OLIVEIRA LRD, RÍMOLI NS, F SC, S.GONÇALVES O, et al. Anti PGL-1 Serology and the risk of leprosy in a highly endemic area in the State of São Paulo, Brazil: four-year follow-up. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. São Paulo, v.6: p.262–271, 2003.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **O programa de saúde da família e a atenção básica no Brasil**. Brasília, 2002. Disponível em:
<http://portal.saude.gov.br/portal/saude/cidadao/area.cfm?id_area=149> Acesso em: 13 jun. 2014.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria Nº 3.125, de 7 de outubro de 2010. Ministério da Saúde, p. 1-35. 2010**. Disponível em:
<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/formularios_portaria_n3125_hanse niase.pdf>. Acesso em: 14 jun. 2011.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Departamento de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Geral do Programa Nacional de Controle da Hanseníase.** Coeficiente de detecção geral de hanseníase por 100.000 habitantes. Brasil. 2010. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/tabela3.pdf>>. Acesso em: 14 jun. 2014.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Uma análise da situação de saúde e da agenda nacional e internacional de prioridades em saúde.** In: PENNA M. L. F.; GROSSI M. A. F.; ROCHA M. C. N. R.; PENNA G. O. Comportamento Epidemiológico da Hanseníase no Brasil. Brasil, p. 295-319. 2010.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Vigilância em saúde:** situação epidemiológica da hanseníase no Brasil. Brasília, 2008. Disponível em: http://10.1.1.213/portal/arquivos/pdf/boletim_novembro.pdf. Acesso em: 27 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Hanseníase. In: _____. **Guia de vigilância epidemiológica.** Brasília, 7. ed. 2010 cap. 7, p. 418-446.

BÜHRER-SÉKULA S. Sorologia PGL-I na hanseníase. **Revista da Sociedade Brasileira Medicina Tropical.** Brasília, v.41 (Suplemento II) p.v3-5, 2008.

COMMITTEE ON CLASSIFICATION. Technical resolutions. **International Journal of Leprosy**, Madrid, v. 21, p. 504-516, 1953. VIth International Congress Leprosy, Madrid 1953.

SILVA, T. M. et al. Oral lesion in leprosy: borderline tuberculoid diagnosis based on detection of *Mycobacterium leprae* DNA by qPCR. *Acta Dermato Venereological*. Stockholm, v. 91, p. 704–707, 2011.

DE SOUZA, D. G. H.; NOBRE, M. L. The use of Geographical Information System (GIS) to improve active leprosy case finding campaigns in the municipality of Mossoró, Rio Grande do Norte State, Brazil. **Leprosy Review**, Oxford, v. 78, n. 3, p. 261-269. set. 2007.

DESSUNTI, E. M. et al. Hanseníase: o controle dos contatos no município de Londrina-PR em um período de dez anos. **Revista Brasileira de Enfermagem**. Brasília, DF v. 61 p. 689-93, 2008.

DIAS, G. H. et al. Distribuição espacial da hanseníase no município de Mossoró entre os anos de 1998 e 2002, utilizando o sistema de informação geográfica (SIG). **An Bras Dermatol.** Rio de Janeiro, v. 80, n. 3, p. 289-94, 2005.

DOUGLAS, J. T.; CELLONA, R. V.; FAJARDO, T.T.; ABALOS, R.M.; BALAGON, M.V.F.; KLATSER, P.R. Prospective study of serological conversion as a risk factor for

development of leprosy among household contacts. **Clinical and diagnostic laboratory immunology**. Washington, v.11, n.5, p. 897-900. sep. 2004.

DUARTE-CUNHA, M. et al. Aspectos epidemiológicos da hanseníase: uma abordagem espacial. **Cad Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v.28, n.6, p. 1143-1155, 2012.

DUPPRE, N.C. et al. Impact of PGL-I seropositivity on the protective effect of BCG vaccination among leprosy contacts: a cohort study. **Plos Neglect Tropical Diseases**. San Francisco, v.6: p.1711, 2012.

DUPPRE, N.C. et al. Effectiveness of BCG vaccination among leprosy contacts: a cohort study. **Transactions of the Royal Society. American journal of tropical medicine and hygiene**. Baltimore, 0035-9203, 631—638. abril, 2008.

DUTHIE, M. S. et al. A rapid ELISA for the diagnosis of MB leprosy based on complementary detection of antibodies against a novel protein-glycolipid conjugate. **Diagnostic microbiology and infectious disease**. Nova York, v. 79(2):233–9, 2014.

DUTHIE, M.S. et al. Use of protein antigens for early serological diagnosis of leprosy. **Clinical Vaccine Immunology**. Washington, v. 14:1400–8, 2007.

FABRI, C.O.C. et al. Antigen-specific assessment of the immunological status of various groups in a leprosy endemic region. **BMC Infectious Diseases**. London, v. 15:218.DOI:10.1186/s12879- p.015-0962-4, 2015.

FEENSTRA, S. et al. Social contact patterns and leprosy disease: a case-control study in Bangladesh. **Epidemiology and Infection**. Cambridge, v. p.141: 573–5812013, 2013.

FISCHER, E. et al. The spatial distribution of leprosy cases during 15 years of a leprosy control program in Bangladesh: an observational study. **BMC Infectious Diseases**. London, v. 8: p.126, 2008.

FREITAS, R. M. S.; OLIVEIRA, E. L. Hanseníase: avaliação diagnóstica a partir dos dados do SINAN em Itaperuna-RJ. **Trabalho apresentado no XVI Encontro Nacional dos Estudos Populacionais, ABEP, realizado em Caxambú-MG**, 2008.

GOMES, C. C. D. et al. Perfil clínico-epidemiológico dos pacientes diagnosticados com hanseníase em um Centro de Referência na região nordeste do Brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. Rio de Janeiro, v. 80, p. 283-288, suplemento 3, 2005.

GOULART I. M. et al. Asymptomatic Leprosy Infection among Blood Donors May Predict Disease Development and Suggests a Potential Mode of Transmission. **Journal of Clinical Microbiology**. Washington, v. 53(10): 3345-8, 2015.

GOULART I. M. B. et al. Detection of *Mycobacterium leprae* DNA in skin lesions of leprosy patients by PCR may be affected by amplicon size. **Archives of dermatological research.** Berlim, v.299, p.267–271, 2007.

GOULART I. M. B., GERSON O. P., GABRIEL C. Immunopathology of leprosy: the complexity of the mechanisms of host immune response to *Mycobacterium leprae*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** Brasília, v. 35 n.4 p. 365-375, 2002.

GOULART I. M. B. et al. Risk and Protective Factors for Leprosy Development Determined by Epidemiological Surveillance of Household Contacts. **Clinical Vaccine Immunology.** Washington, v. 15, n.1 p.101–5, 2007.

GOULART, I. M. B. E.; GOULART, L. Risk and Protective Factors for Leprosy Development Determined by Epidemiological Surveillance of Household Contacts. **Clinical Vaccine Immunology.** Washington, v. 15, n. 1, p. 101-105, nov. 2008.

GOULART, I.M.B. et al. Efeitos adversos da poliquimioterapia em pacientes com hanseníase: um levantamento de cinco anos em um Centro de Saúde da Universidade Federal de Uberlândia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina.** Brasília, v. 35, n. 5, set./out. 2002.

GOULART, I.M.B. et al. Caracterização da endemia hansônica no município de Uberlândia - Minas Gerais, Brasil 1996-2000. **Hansen International.** [S.L.], v. 31, n.1, p. 33-40. 2007.

GOULART, L. R. & GOULART, I.M.B. Leprosy pathogenetic background: a review and lessons from other mycobacterial diseases. . **Archives of dermatological research** Berlim, v. 301, n. 2, p.23-37, 2009.

HINRICHSEN, S.L. et al. Aspectos epidemiológicos da hanseníase na cidade de Recife, PE em 2002. **Anais Brasileiros de Dermatologia.** Rio de Janeiro, v. 79: p.413-421, 2004.

HONÓRIO, N.A.; NOGUEIRA, R.M.R.; CODEÇO, C.T.; CARVALHO, M.S.; CRUZ, O.G.; MAGALHÃES, M.A.F.M. Spatial Evaluation and Modeling of Dengue Seroprevalence and Vector Density in Rio de Janeiro, Brazil. **Plos Neglect Tropical Diseases.** San Francisco v. 3 n.11 p.545; 1-11, 2009.

IGNOTTI, E.; DE PAULA, R. C. **Situação epidemiológica da hanseníase no Brasil: análises de indicadores selecionados no período de 2001 a 2010.** Saúde Brasil 2010: Uma análise da situação de saúde e de evidências selecionadas de impacto de ações de vigilância em saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde/MS, 2010.

JIA Z. W. et al. Spatial Analysis of Tuberculosis Cases in Migrants and Permanent Residents, Beijing, 2000–2006. **Emerging Infectious Diseases journal.** Atlanta, v. 14; n.9: p.1413-1420.DOI: 10.3201/1409.071543, 2008.

JOB, C.K. et al. Transmission of leprosy: a study of skin and nasal secretions of household contacts of leprosy patients using PCR. **American journal of tropical medicine and hygiene**. Baltimore, n. 78: p.518-521, 2008.

KULLDORFF, M. A Spatial scan statistic. *Communications in Statistics: Theory and Methods*. **Statistics in medicine**. Chichester, v.26: 1481–1496, 1997.

KULLDORFF, M.; NAGARWALLA, N. Spatial disease clusters: detection and inference. **Statistics in medicine**. Chichester, v.14: 799–810, 1995.

LANA, F. C. F. et al. Hanseníase em menores de 15 anos no Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, Brasil. **Revista brasileira de enfermagem**. Brasília, v. 60, n.6, p. 696-700, dec, 2007.

LANA, F.C.F.; LANZA, F.M.; VELÁSQUEZ-MELENDEZ G, BRANCO AC, TEIXEIRA S, MALAQUIAS LCC. Distribuição da hanseníase segundo sexo no Município de Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil. **Hansenologia internationalis**. São Paulo, v. 28: 131-137, 2003.

LINI N.; SHANKERNARAYAN N. P.; DHARMALINGAM K. Quantitative real-time PCR analysis of *Mycobacterium leprae* DNA and mRNA in human biopsy material from leprosy and reactional cases. **Journal of medical microbiology**. Mumbai, v. 58: p.753–759, 2009.

LOBATO J. et al. Comparison of three immunological tests for leprosy diagnosis and detection of subclinical infection. **Leprosy Review**. London, v. 82, n.2 p.389–401, 2011.

MARTINEZ A. N. et al. Evaluation of real-time and conventional PCR targeting complex 85 genes for detection of *Mycobacterium leprae* DNA in skin biopsy samples from patients diagnosed with leprosy. **Journal of clinical microbiology**. Washington, v. 44: 3154–3159, 2006.

MARTINEZ, T. S. et al. Oral mucosa as a source of *Mycobacterium leprae* infection and transmission, and implications of bacterial DNA detection and the immunological status. **Clinical Microbiology and Infection**. London, v. 17, n. 11, p. 1653-1658, nov, 2011.

MENDES, A.C. et al. Assistência pública de saúde no contexto da transição demográfica brasileira: exigências atuais e futuras. **Caderno de Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v. 28(5):955-964, 2012.

MONTENEGRO A.C.D. et al. Spatial Analysis of the Distribution of Leprosy in the State of Ceará, Northeast Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99 n. 7 p. 683-686, 2004.

MORAN, P.A.P. Notes on Continuous Stochastic Phenomena. *Biometrika* v.37: 17–23, 1950.

MOREIRA, T.A. Panorama sobre a hanseníase: quadro atual e perspectivas. **História, ciências, saúde – Manguinhos**. Rio de Janeiro, v. 10: 291-307, 2003.

OLIVEIRA, A. M. S. **Reordenamento Territorial e Produtivo do Agronegócio Canavieiro no Brasil e os Desdobramentos para o Trabalho**. 2009. (Doutorado em Geografia) FCT – UNESP, 2009, Presidente Prudente, 2004.

OPROMOLLA P. A.; DALBEN I.; CARDIM M. Análise da distribuição espacial da hanseníase no Estado de São Paulo, 1991-2002. **Revista Brasileira de epidemiologia**. São Paulo, v. 8: 356-364, 2005.

PATROCINIO, L. G. et al. Detection of *Mycobacterium leprae* in nasal mucosa biopsies by the polymerase chain reaction. **Immunology and Medical Microbiology**. Amsterdam, v. 44, n. 3, p. 311–316, jun. 2005.

PENNA, M. L.; WAND-DEL-REY-DE-OLIVEIRA, M. L.; PENNA, G.; Spatial distribution of leprosy in the Amazon region of Brazil. **Emerging infectious disease**. Atlanta, v. 15, n. 4, p. 650-652, apr. 2009.

QIONG-HUA P. et al. Early revelation of leprosy in china by sequential antibody analyses with LID-1 and PGL-I. **American Journal of Tropical Medicine**. Baltimore. Volume 2013 (2013), 5 p. ID 352689.

REES, R.F.W. The Miccrobiology of Leprosy In: Hastings, RC **Leprosy**. Madicine in the Tropics. Ed. Churchill Livingstone, 1985.1. ed. p. 31-52.

REIS E.M. et al. *Mycobacterium leprae* DNA in peripheral blood may indicate a bacilli migration route and high-risk for leprosy onset. **Clinical Microbiology and Infection**. Oxford, v.20 p.447-452, 2014.

RIDLEY, D.S.; JOPLING, W.H. Classification of leprosy according to imunity: afive 74 SILVA, L.C.S; SANTOS, J.C. A EXPANSÃO DA AGROINDÚSTRIA CANAVIEIRA E A PRECARIZAÇÃO DO TRABALHO: OS MIGRANTES PIAUENSES NA MICRORREGIÃO GEOGRÁFICA DE ITUIUTABA – MG. **Caminhos da Geografia**. Ituiutaba, v. 15, n. 51 Set p. 140–153, 2014.

SIMÕES, M. J. S. & DELELLO, D. Estudo do comportamento social dos pacientes de hanseníase no município de São Carlos-SP. **Revista Espaço para Saúde**; Londrina, v. 7, n. 1, p. 10-15, dez., 2005.

TELES, C.J.E. et al. Leishmaniose visceral no Município minerário de Barcarena, Estado do Pará, Brasil: evolução de 2004 a 2008 e bases para a vigilância epidemiológica. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v.5 n.2 p.21-27, 2014.

TRUMAN, R.W. et al. Enumeration of *Mycobacterium leprae* using real-time PCR. . **Plos Neglect Tropical Diseases.** San Francisco v.2: p.328, 2008.

VAN BEERS S.M.; HATTA M.; KLATSER P.R.; Patient contact is the major determinant in incident leprosy: implications for future control. **International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial.** Bloomfield, v. 67: p.119–128, 1999.

WALLACE, C.; CLAYTON, D.; FINE, P. Estimating the relative risk ratio for leprosy in Karonga District, Malawi. **Leprosy Review.** London, v. 74, n. p.133–140, jun. 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Enhanced Global Strategy for Further Reducing the Disease Burden due to Leprosy** (Plan Period: 2011-2015), 2009. Available at: <http://www.searo.who.int/LinkFiles/GLP_SEA-GLP-2009_3.pdf>. Accessed 25 jun 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Geographic Information Systems (GIS).** 2009. Available at: <<http://www.who.int/wer/2010/wer8535.pdf>>. Accessed 25 de nov. 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **TITULO Weekly Epidemiological Record.** Geneva, v. 85, n. 35, p. 337-348., 2010. Available at: <<http://www.who.int/wer/en/>>. Acesso em: 02 april 2014. Disponível em: <<http://www.who.int/wer/2010/wer8535/en/index.html>> Acesso em: 06 jun. 2013.

Anexo 1. Ficha de notificação SINAN/Ministério da Saúde. BRASIL.

SINAN		Nº
SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO		
FICHA DE NOTIFICAÇÃO/ INVESTIGAÇÃO		HANSENÍASE
Caso confirmado de Hanseníase: pessoa que apresenta uma ou mais das seguintes características e que requer poliquimioterapia: - lesão (ões) de pele com alteração de sensibilidade; acometimento de nervo (s) com espessamento neural; bacilosípia positiva.		
Dados Gerais	<input type="checkbox"/> 1 Tipo de Notificação <input type="checkbox"/> 2 Agravo/doença <input type="checkbox"/> 4 UF <input type="checkbox"/> 6 Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora)	2 - Individual HANSENÍASE Código (CID10) <input type="checkbox"/> 3 Data da Notificação A 3 0 9 Código (IBGE) Código <input type="checkbox"/> 7 Data do Diagnóstico
	<input type="checkbox"/> 8 Nome do Paciente <input type="checkbox"/> 10 (ou) Idade 1 - Hora 2 - Mês 3 - Ano <input type="checkbox"/> 11 Sexo M - Masculino F - Feminino I - Ignorado <input type="checkbox"/> 12 Gestante 1-1ºTrimestre 2-2ºTrimestre 3-3ºTrimestre 4-Idade gestacional/Ignorada 5-Não 6-Não se aplica <input type="checkbox"/> 13 Raça/Cor 1-Branca 2-Preta 3-Amarela 4-Parda 5-Indígena 9-Ignorado	<input type="checkbox"/> 9 Data de Nascimento <input type="checkbox"/> 14 Escolaridade 0-Analfabeto 1-1ª a 4ª série incompleta do EF (antigo primário ou 1º grau) 2-4ª série completa do EF (antigo primário ou 1º grau) 3-5ª à 8ª série incompleta do EF (antigo ginásio ou 1º grau) 4-Esredo fundamental completo (antigo ginásio ou 1º grau) 5-Esredo médio incompleto (antigo colegial ou 2º grau) 6-Esredo médio completo (antigo colegial ou 2º grau) 7-Educação superior incompleta 8-Educação superior completa 9-Ignorado 10-Não se aplica <input type="checkbox"/> 15 Número do Cartão SUS <input type="checkbox"/> 16 Nome da mãe
Dados de Residência	<input type="checkbox"/> 17 UF <input type="checkbox"/> 20 Bairro <input type="checkbox"/> 22 Número <input type="checkbox"/> 25 Geo campo 2 <input type="checkbox"/> 28 (DDD) Telefone	Código (IBGE) <input type="checkbox"/> 19 Distrito Código Logradouro (rua, avenida,...) Complemento (apto., casa, ...) Geo campo 1 Ponto de Referência Zona 1 - Urbana 2 - Rural 3 - Periurbana 9 - Ignorado <input type="checkbox"/> 27 CEP <input type="checkbox"/> 30 País (se residente fora do Brasil)
	<input type="checkbox"/> 31 N° do Prontuário <input type="checkbox"/> 33 N° de Lesões Cutâneas	Dados Complementares do Caso <input type="checkbox"/> 32 Ocupação <input type="checkbox"/> 34 Forma Clínica 1 - I 2 - T 3 - D 4 - V 5 - Não classificado <input type="checkbox"/> 35 Classificação Operacional 1 - PB 2 - MB <input type="checkbox"/> 36 N° de Nervos afetados
Dados Clínicos Atendimento	<input type="checkbox"/> 37 Avaliação do Grau de Incapacidade Física no Diagnóstico 0 - Grau Zero 1 - Grau I 2 - Grau II 3 - Não Avaliado <input type="checkbox"/> 38 Modo de Entrada 1 - Caso Novo 2 - Transferência do mesmo município (outra unidade) 3 - Transferência de Outro Município (mesma UF) 4 - Transferência de Outro Estado 5 - Transferência de Outro País 6 - Recidiva 7 -Outros Reingressos 9 - Ignorado <input type="checkbox"/> 39 Modo de Detecção do Caso Novo 1 - Encaminhamento 2 - Demanda Espontânea 3 - Exame de Coletividade 4 - Exame de Contatos 5 - Outros Modos 9 - Ignorado <input type="checkbox"/> 40 Bacilosípia 1. Positiva 2. Negativa 3. Não realizada 9. Ignorado	<input type="checkbox"/> 41 Data do Início do Tratamento <input type="checkbox"/> 42 Esquema Terapêutico Inicial 1 - PQT/PB/ 6 doses 2 - PQT/MB/ 12 doses 3 - Outros Esquemas Substitutos
	<input type="checkbox"/> 43 Número de Contatos Registrados	
Observações adicionais: <hr/>		
Investigador	Município/Unidade de Saúde Nome Hanseníase	Código da Unid. de Saúde Função Sinan NET Assinatura SVS 30/10/2007

Anexo 2. TCLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) para participar da pesquisa intitulada “Caracterização da Endemia Hansônica e Vigilância de Contatos no Município de Ituiutaba- MG ”, sob a responsabilidade dos pesquisadores Isabela Maria Bernardes Goulart e Mariana Vitorino Candeiro Nicchio.

Nesta pesquisa nós estamos buscando entender se as pessoas que convivem ou tem contato prolongado com os pacientes de hanseníase estar infectados pelo bacilo que causa a hanseníase, ou seja que ele seja portador sadio do bacilo, para isso iremos realizar a avaliação clínica das dos casos e contatos de hanseníase. Para uma avaliação clínica completa será necessário coletar sangue e examinar o seu corpo para verificar existência de manchas ou quaisquer alterações atribuídas pela doença. A coleta de outras amostras como de esfregaço dérmico e biópsia de lesão de pele, podem ser necessárias em casos de suspeita de hanseníase, de acordo com a indicação médica. Nesta pesquisa iremos utilizar das amostras já para avaliar novos testes para diagnóstico precoce de novos casos de hanseníase.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será obtido pela pesquisadora Mariana Vitorino Candeiro, durante o seu comparecimento para exames de rotina no serviço. Na sua participação você será avaliado por uma equipe multiprofissional e serão coletados dois tubos de sangue, totalizando 8ml e uma gota de sangue periférico, e coleta de swab nasal ou seja mucosa nasal, os mesmos serão analisados por laboratório e em seguida serão registrados os resultados no seu prontuário. Em nenhum momento você será identificado. Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a sua identidade será preservada. Você não terá nenhum gasto e ganho financeiro por participar na pesquisa. Os riscos consistem em risco mínimo de contaminação ou porta de entrada de microorganismo pela punção venosa e desconforto do exame do corpo. Os benefícios serão que todos os exames coletados fazem parte da rotina da unidade, e todo desconforto e procedimentos minimamente dos exames, irão contribuir para o diagnóstico precoce e melhor acompanhamento da sua saúde.

Você é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem nenhum prejuízo ou coação. Uma via original deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com você. Qualquer dúvida a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com: Isabela Maria Bernardes Goulart e Mariana Vitorino Candeiro, fone: (34) 32167872, Centro de Referência Nacional em Hanseníase/ Dermatologia Sanitária-CREDESH Av. Aspirante Mega, nº 77, B. Jaraguá, Uberlândia.

Poderá também entrar em contato com o Comitê de Ética na Pesquisa com Seres-Humanos – Universidade Federal de Uberlândia: Av. João Naves de Ávila, nº 2121, bloco A, sala 224, Campus Santa Mônica – Uberlândia –MG, CEP: 38408-100; fone: 34-32394131

Uberlândia, dede 200.....

Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

Participante da pesquisa

Anexo 3. Aprovação CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Titulo da Pesquisa: Caracterização da Endemia Hansônica e Vigilância de Contatos no Município de Ituiutaba- MG

Pesquisador: ISABELA MARIA BERNARDES GOULART

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 37640814.0.0000.5152

Instituição Proponente: Universidade Federal de Uberlândia/ UFU/ MG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.127.833

Data da Relatoria: 12/06/2015

Apresentação do Projeto:

Conforme apresenta o protocolo: O georreferenciamento dos casos e contatos de hanseníase é ferramenta importante para elucidar não apenas clusters de casos de hanseníase, como também de grupos de maior risco de adoecer entre os contatos domiciliares, a vigilância de contatos de hanseníase com a associação de ferramentas moleculares e imunológicas, indicadores epidemiológicos e sistema de informação geográfica (SIG) podem auxiliar em conjunto para caracterização da endemia hansônica e vigilância da infecção pelo *M.Leprae*. Este estudo será desenvolvido no município de Ituiutaba – MG, considerado prioritário segundo o Ministério da Saúde , para ações estratégicas de Eliminação da doença. Será incluído no estudo os casos e contatos de hanseníase notificados no período de 2003 a 2015, utilizando fichas de notificação SINAN e o SIG para vigilância da infecção pelo *M. leprae*. Será feita coleta de sangue periférico (rotina no serviço), aplicação de teste rápido, para detecção dos isótipos IgG e IgM específicos para *M.leprae* e swabs bucais. Serão georreferenciados 455 casos de hanseníase e 2.050 contatos. O SIG com os indicadores epidemiológicos de avaliação de morbidade e carga de doença associado aos exames imunológicos e moleculares da população de risco pode ser uma ferramenta que possibilita a visibilidade da endemia hansônica por distrito sanitário e bairros de municípios permitindo o aperfeiçoamento da vigilância deste agravio e servindo como importante instrumento

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências apontadas no parecer número 1.080.260 de 26 de Maio de 2015, foram atendidas.

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12, o CEP manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa proposto.

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com seres humanos, nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Sandra Terezinha de Farias Furtado', is placed over a horizontal line.

Assinado por:

**Sandra Terezinha de Farias Furtado
(Coordenador)**

Anexo 4. Protocolo de acompanhamento de contatos de hanseníase.



PROTOCOLO DE ABORDAGEM E SEGUIMENTO DE CONTATO EM HANSENÍASE

Paciente: _____ Prontuário: _____

DADOS GERAIS	
Forma Clínica: <input type="checkbox"/> I <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> Ts <input type="checkbox"/> DT <input type="checkbox"/> DD <input type="checkbox"/> DV <input type="checkbox"/> Vsp <input type="checkbox"/> VV <input type="checkbox"/> TR <input type="checkbox"/> DTR <input type="checkbox"/> DDR <input type="checkbox"/> DVR <input type="checkbox"/> HNPT <input type="checkbox"/> HNPDT <input type="checkbox"/> HNPDD	
Profilaxia BCG: <input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 _____ / _____ / _____ Administração da dose 1ª Dose _____ / _____ / _____ 2ª Dose _____ / _____ / _____	

Grau de Parentesco: _____

Tempo Exposição (meses): _____

Idade na Abordagem: _____

Tratou anteriormente: () Não () Sim _____ / _____ a

_____ / _____ Local: _____

Tipo de Contato:

Intradomiciliar Extradomiciliar

Intradomiciliar-intimo Extradomiciliar-intimo

Ocupacional Ignorado

Classificação Operacional: PB MB

1. Realização Exame Dermato Neurológico: Não Sim: _____ / _____ / _____

2. Realização Exame Dermato Neurológico: Não Sim: _____ / _____ / _____

3. Realização Exame Dermato Neurológico: Não Sim: _____ / _____ / _____

4. Realização Exame Dermato Neurológico: Não Sim: _____ / _____ / _____

5. Realização Exame Dermato Neurológico: Não Sim: _____ / _____ / _____

6. Realização Exame Dermato Neurológico: Não Sim: _____ / _____ / _____

7. Realização Exame Dermato Neurológico: Não Sim: _____ / _____ / _____



Av. Aspirante Mega, 77 – Bairro Jaraguá – 38413-018 – Uberlândia-MG
/Fax (034) 3216-7872 / 3238-1530
www.credesh.ufu.br credsh@hc.ufu.br



Hospital de Clínicas
de Uberlândia

1.Mitsuda _____
Administrado ____/____/____ Leitura ____/____/____
Negativo ____ mm Positivo ____ mm
Flutuante Ulcerado
Perdeu Leitura Uso de corticóide Não fez

2.Mitsuda _____
Administrado ____/____/____ Leitura ____/____/____
Negativo ____ mm Positivo ____ mm
Flutuante Ulcerado
Perdeu Leitura Uso de corticóide Não fez

Esfregaço – Baciloscopy: Data da Coleta ____/____/____ Data Resultado ____/____/____

Resultado Baciloscópico: Neg. Pos. MIB: _____
 LD _____ CD _____ JD _____ L1 _____ Local: _____
 LE _____ CE _____ JE _____ L2 _____ Local: _____

Assinatura do Termo de Consentimento para Pesquisas? Sim Não _____

Biópsia de Pele Sim Não ____/____/____ Baciloscopy: Negativo Positivo _____

Descrição: _____

Acompanhamento do Contato

Exames Moleculares no Seguimento	Data	Resultado	Exames Sorológicos	Data	Resultado
01 Esfregaço Dérmino	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____	01 Teste OL	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____
01 PCR Pele	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____	02 Teste OL	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____
01 ELISA	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____			
02 ELISA	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____			
03 ELISA	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____			
04 ELISA	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____			
05 ELISA	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____			
06 ELISA	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____			
07 ELISA	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____			
01 PCR Sangue	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____			
02 PCR Sangue	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____			
03 PCR Sangue	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____			
04 PCR Sangue	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____			
05 PCR Sangue	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____			
06 PCR Sangue	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____			
07 PCR Sangue	____/____/____	<input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Pos _____			

Situação de Acompanhamento do Contato:

Data último comparecimento: ____/____/____ Data retorno próximo ano: ____/____/____

- Em acompanhamento
- Não compareceu ao acompanhamento anual
- Adoeceu - PACIENTE ____/____/____
- Adoeceu – PACIENTE Co-prevalência ____/____/____
- Acompanhado de 5 a 7 anos (alta)
- Óbito Abandono Mudou-se

Observações: _____

Anexo 5. Artigo submetido a revista Acta Tropica.

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Title: Spatio-temporal epidemiology of *Mycobacterium leprae* infection among leprosy patients and household contacts through Geographic Information Systems analysis of an endemic region in southeast Brazil.

Corresponding Author: Sergio Araujo

Co-Authors: Mariana Nicchio
Lorraine Martins
Andressa Pinheiro
Daniela Pereira
Angélica Borges
Douglas Antunes
Josafá Barreto
Isabela Goulart

If you are not a Co-Author for this submission, please do not click the [Link To ORCID](#) button but [contact](#) the Corresponding Author.

We now invite you to link your ORCID to this submission. To do this, please click "Link To ORCID" below, which will open a new screen on the ORCID website asking you to give permission to share your ID with us.

Once you have done this, please click "Submit".

If you do not have an ORCID, you can register on the ORCID website by clicking "Link To ORCID" below.

If you would prefer not to link your ORCID to this submission, please click "Cancel".

"ORCID is an open, non-profit, community-based effort to create and maintain a registry of unique researcher identifiers and a transparent method of linking research activities and outputs to these identifiers." (from: [ORCID website](#))

More information on ORCID can be found on the [ORCID website](#) or on our [ORCID help page](#).

Title: Spatio-temporal epidemiology of *Mycobacterium leprae* infection among leprosy patients and household contacts through Geographic Information Systems analysis of an endemic region in southeast Brazil.

Running title: Spatio-temporal epidemiology of leprosy.

Mariana V.C. Nicchio^{1,2}, Sergio Araujo^{*1,2}, Lorraine C. Martins³, Andressa V. Pinheiro², Daniela C. Pereira², Angélica Borges⁴, Douglas E. Antunes^{1,2}, Josafá G. Barreto⁵, Isabela Maria B. Goulart^{1,2}

¹ Postgraduate Program in Health Sciences, School of Medicine, Federal University of Uberlandia, MG, Brazil.

² National Reference Center for Sanitary Dermatology and Leprosy, Clinics Hospital, Federal University of Uberlandia, MG, Brazil.

³ Postgraduate Programs in Environment and Environmental Quality, Institute of Agricultural Sciences, Federal University of Uberlandia, MG, Brazil.

⁴ Institute of Geography, Federal University of Uberlandia, MG, Brazil.

⁵ Spatial Epidemiology Laboratory, Federal University of Para, Castanhal, Para, Brazil.

***Corresponding Author:** saraujo@gmx.com

Financial support: This study was supported with grants from: Foundation for Research Support of the State of Minas Gerais (FAPEMIG), Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Brazilian Coordination for Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), and by the National Fund for Health/Brazilian Ministry of Health (FNS/MS).

Competing interests: None declared.

Ethical approval: Research protocol was approved by an independent ethics committee at the Federal University of Uberlandia (#1.127.833). All participants were informed about the research, voluntarily agreed to take part in this study without any financial incentive and signed consent forms.

ABSTRACT

Background: Leprosy is a public health problem in developing and low income countries. Household contacts of leprosy patients (HHCs) are at risk for the development of disease and may be involved in *Mycobacterium leprae* chain of transmission. Geographic Information Systems (GIS) and spatial analysis are efficient tools to determine regions of risk and support early detection of new cases. **Methodology:** Applied GIS to explore the distribution of leprosy cases (N=303), reported during 2004 to 2014, and of HHCs (N=53), in a highly endemic area of southeast Brazil, were analyzed according to leprosy classification of the cases and the subclinical infection determined by serology among HHCs, to evaluate risk for disease onset and transmission, as well support prevention strategies. **Results:** The new cases detection presented a 43% decline in the 10 year period of the study ($P<0.05$), drawing out the coefficient from hyperendemic ($\geq 40/100,000$ population), to highly endemic ($25/100,000$). Positivity among the HHCs with subclinical infection: 17% for anti-PGL-I ELISA and 42% for anti-LID-NDO rapid lateral-flow test. Seventy percent (38/60) was observed among contacts of index cases manifesting multibacillary (MB) leprosy. **Discussion:** Spatial distribution of leprosy cases was highly heterogeneous throughout the urban perimeter. Four main clusters of patients and three main clusters of subclinical infection were identified. **Conclusions:** Spatio-temporal epidemiology associated to serologic analysis can increase the effectiveness of the control strategies through the identification of areas of disease burden and of *M. leprae* transmission, providing critical information to support the action planning of health interventions in regions of interest.

Keywords: Epidemiology, Leprosy, *Mycobacterium leprae*, Serologic Tests, Spatial Analysis

INTRODUCTION

Leprosy is a chronic infectious disease caused by an obligate intracellular pathogen, the *Mycobacterium leprae*. The disease has a slow and insidious progression, and if not treated can lead lifelong physical incapacities. The bacillus is highly infective, reaching over almost half the population in hyperendemic settings (1, 2); but of low pathogenicity, once most of the exposed individuals do not develop disease (3, 4).

The World Health Organization (WHO) recommend that for treatment purposes the cases of leprosy should be classified into two groups: one with patients with cellular immune response against *M. leprae* containing the infection in the body to a few bacilli, called paucibacillary (PB); and another group comprising patients who do not present adequate immune response to contain the infection, allowing widespread dissemination of bacilli, called Multibacillary (MB)(5).

Several studies have shown that, living in the same dwelling with a known case of leprosy (i.e. household contact) prior to diagnosis, increases to great extend the chances for the later onset of disease(4, 6-14). Among the determinants of the disease outcome, the close contact with a MB case prior to their diagnosis and the seropositivity to *M. leprae*-specific antigens, have been consistently demonstrated to be the most important risk factors for the prediction of leprosy development among the household contacts of leprosy patients (HHCs)(4, 6, 7, 9-14).

The humoral response to *M. leprae* through the production of immunoglobulin M (IgM) antibodies against the species-specific phenolic glycolipid I (PGL-I) has been widely used in leprosy studies and is considered the most important marker of exposure and bacillary burden(15), once this cell wall molecule is not only antigenic, but is also involved in pathogenic processes of cell invasion(16), and downregulation of the inflammatory immune response, which enables the persistence of *M. leprae* in the organism(17).

Recently, a rapid quantitative serological test for the detection of *M. leprae* infection has been developed based on the detection of IgM antibodies against NDO (natural disaccharide synthetic antigen portion of PGL-I) and IgG

antibodies against the LID-1 protein (chimeric fusion protein leprosy IDRI diagnostic 1)(18). The combination of these two antigens in a single test (NDO-LID) has been reported as: a potential tool to be used as a trigger for physical examination or increased monitoring of particular individuals in order to provide early leprosy diagnosis(19), as a diagnostic test for MB leprosy(20), and as a better test for the serological assessment of the immunological status of general population(21).

Epidemiological indicators are mainstays for the leprosy control activities and the surveillance system(22). The key indicators are: rate of overall detection of new cases (number of new cases per 100,000 population); rate of new cases detected among children under 15 years old (new cases/100,000 < 15 yrs.); and rate of new cases diagnosed with grade 2 disability (G2D, leprosy highest grade of disability including eyes, hands and feet), which can be reported in different ways: as G2DN (absolute number of people with G2D among leprosy cases newly diagnosed in a specific year); as G2D% (proportion of people with G2D among leprosy cases newly diagnosed in a specific year); as G2DR (newly diagnosed leprosy patients with G2D in a given year divided by that year's population at mid-year and multiplied by 100 000); and as G2D prevalence (absolute number of individuals ever diagnosed with leprosy and living with G2D in a specific year)(22).

Geographic information systems (GIS) and spatial analysis have been applied to identify the distribution of leprosy at national, regional and local levels(23-25). These new analytical tools are used to monitor epidemiological indicators over time, to identify risk factors and clusters of high endemicity, as well to indicate where the resources should be targeted(26), particularly important in areas of limited funds.

This study utilized current indicators and tests, along with the spatio-temporal analysis, to characterize the tendency of leprosy endemy, as means to investigate the distribution of new cases and of subclinical infection; in addition to support control strategies for the interruption of *M. leprae* chain of transmission.

MATERIALS AND METHODS

Study area

The study was undertaken at the municipality of Ituiutaba, in the state of Minas Gerais (MG), located in southeast Brazil, with estimated population of 103,330 inhabitants. The city of Ituiutaba is considered highly endemic for leprosy (annual new cases detection rate of 25/100,000). According data from the Municipal Secretary of Health, during 2004 to 2014, 371 new cases were notified and treated as residents. The geographic localization of the MG state in the Brazil map, the localization of the municipality in the MG state map, and the urban area in the municipality map, are presented in figure 1.

M.V.C. Nicchio et al. / *Acta Tropica* 163 (2016) 38–45

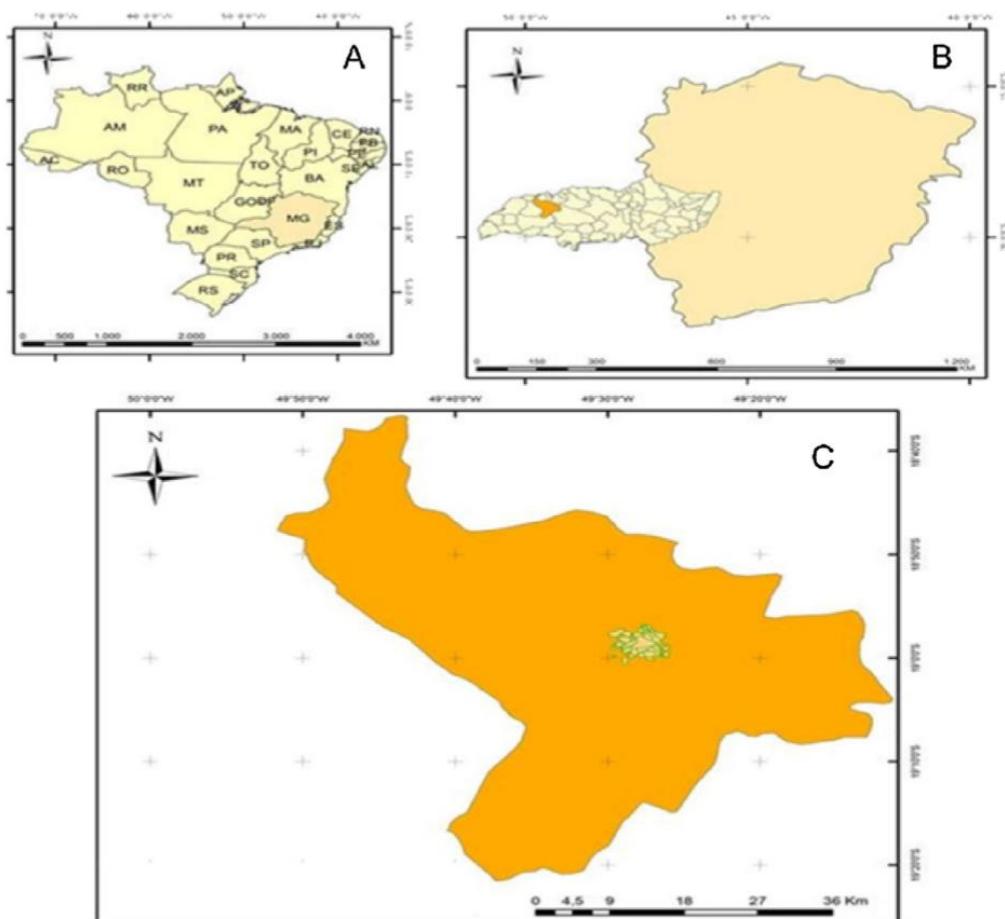


Figure 1. (A) Geographic localization of the Minas Gerais state (MG) in Brazil map; (B) the localization of the Ituiutaba municipality in the MG state map; and (C) the urban area within the Ituiutaba municipality map.

Data management and analysis

The spatial distribution pattern of leprosy cases in Ituiutaba was determined by combining information from the National Notifiable Diseases Information System (SINAN—<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb>), the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE—<http://www.ibge.gov.br>), and by mapping in the field. Supplementary data were obtained from the Municipal Secretary of Planning of Ituiutaba. The residences of people affected by leprosy in the urban area, reported during 2004 to 2014, were georeferenced with a handheld GPS (Global Positional Systems) device (Garmin 62s, Olathe, KS, USA) to produce detailed maps of the leprosy distribution. Using GIS (ArcGIS 9.2 - ESRI, Redlands, CA, USA), we drew point pattern maps, calculated the number of cases and the annual case detection rate per urban census tract and stratified per neighborhood areas.

Study subjects

The new cases of leprosy diagnosed among urban residents of Ituiutaba during the selected 10 year period (N=371), were included in the study and had their addresses georeferenced. Were excluded cases with incomplete address and/or incomplete information about the disease. The variables analyzed were the patient's sex, age, address, neighborhood, geographical coordinates, information about the operational classification according to WHO (PB or MB), and the clinical manifestation according the Madrid classification, which is officially adopted by the Brazilian Ministry of Health. Madrid classification stratifies the patients into: Indeterminate (I), Tuberculoid (T), Borderline (B), and Lepromatous (L) leprosy.

Were also included in the study HHCs of the new cases (N=53) notified during the last 2 years of the study. The household contact was defined as a person who lives or has lived in the same dwelling as a leprosy patient in the last 5 years prior to the patient diagnosis. Taking into account the 5 year period of exposure, were included into the HHCs group individuals that may not have lived in the same household, but have had close contact with the patient for an extended period before the diagnosis. All HHCs were initially examined for signs or symptoms of the disease by specialized physicians experienced in leprosy, in a dermatological clinical examination. HHCs' results corresponded to the time point of diagnosis of their index cases. For the purpose of data analysis,

the HHCs were stratified according to the clinical (I, T, B, L) and operational (PB, MB) classifications of their index cases.

Serological assays

Peripheral blood samples were collected through venipuncture in order to perform the serological assays. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detect IgM antibodies against PGL-I was performed as previously described(27). To moderate inter and intra variations between anti-PGL-I assays, absorbance results measured at 492 nm were converted into an ELISA index (EI), in which the optical density (OD) of the sample was divided by the OD of the cut-off ($EI=OD_{sample}/OD_{cut-off}$), with 1.1 as positivity threshold. The rapid lateral flow test to detect IgG/IgM against the antigen LID-NDO was acquired from OrangeLife (Rio de Janeiro, Brazil) and was performed as manufacturer instructions. The rapid diagnostic test involved the addition of undiluted serum (10 μ l) and running buffer (2 to 3 drops; \sim 100 μ l) to a sample well, followed by readings of the immunochromatographic line development in the detection window after 10 min. Validation of the results required the visualization of a colored control line. A positive result was defined by the staining of both the control line and the test line; faint or no staining was considered a negative result. Visual readings were performed by a minimum of two independent readers.

Spatial and Statistical analysis

Spatial scan statistic was applied to identify clusters of leprosy, as reported previously(24). All HHCs also had their residential addresses georeferenced with the GPS device to analyze their spatial correlation with reported leprosy cases. Kernel density estimation was used for the generation of density maps per square kilometers (cases/km^2) which measured the spatial dependence of variables results per unit area.

To investigate the endemic trend of leprosy disease throughout the 10 year period of the study, annual time series of scatter plots were developed, and linear regression was applied for the analysis of coefficients over the years (Pearson correlation). Multiple comparison tests between proportions were used to compare whether there were statistical differences between the clinical and epidemiological variables. The kappa test was calculated to measure the agreement between categorical results for the serological assays.

Nonspatial statistical analyses were performed with software BioEstat version 5.3 (Mamiraua Institute for Sustainable Development, Belem, PA, Brazil). The threshold for statistical significance was set at the alpha level of 5%.

RESULTS

From 2004 to 2014 were diagnosed 371 new cases of leprosy in the municipality of Ituiutaba. For this study, the 371 cases were located and georeferenced, as were obtained their disease information and addresses, which were used for the spatial distribution analysis. Fifty three percent of the new cases (195/371) were females, 3% were children < 15 yrs., and 5% were cases with GD2 incapacities at diagnosis (Table 1).

According the WHO operational classification for the treatment of new cases, 57.4% (213/371) of the patients presented MB leprosy and 42.6% (158/371) were accounted as PB cases (Table 1). Regarding the clinical classification of the new cases (Madrid classification), the borderline leprosy manifestation was the most prevalent, comprising 47.2% (175/371) of the patients in this study.

In reference to the epidemiological indicators during the period of the study, the yearly new cases detection rate ranged from: 39.1 to 25.3 new cases per 100,000 population, remaining within the highly endemic parameter (20 to 39.99/100,000), with an overall new cases detection rate of 29.3/100,000 ($P = 0.0025$). The annual new cases detection rate among the population under 15 years old, variated from 18.5/100,000 to none, between the period of 10 years of the study, leaving the hyperendemic to the low endemic parameter. Was pleasing to observe at closing this study that no new case was detected among < 15 yrs. The trend line observed throughout the years has shown a statistically significant decrease in the detection rate of cases ($P = 0.0014$). As for the leprosy disability grading system, the proportion of GD2 cases varied from 5% to 8%, respectively in 2004 and 2014, reaching the highest proportion of 9.8% in 2005. It also featured a downward trend line, although not statistically significant ($P = 0.1122$).

Table 1. Frequency of variables results for the new cases of leprosy patients and for the household contacts of leprosy patients evaluated in the study.

Leprosy Patients (N=371)			
Variables	N	%	p-value
Operational classification			
Paucibacillary	213	42.5	b
Multibacillary	158	57.4	a
Sex			
Female	195	52.5	a
Male	176	47.4	a
Age groups			
Under 15 years	11	3	d
15 to 34 years	67	18	c
35 to 59 years	177	47.7	a
60 years and above	116	31.2	b
Clinical classification			
Indeterminate (a)	53	14.2	c
Tuberculoid (b)	111	30	a, b
Borderline (c)	169	45.5	a
Lepromatous (d)	38	10.2	d
Leprosy disability grading system			
Grade 0 (no visible deformity or damage)	254	68.4	a
Grade 1 (anesthesia, but no deformity)	98	26.4	b
Grade 2 (deformity or damage present)	19	5	c

Household contacts of leprosy patients (N=53)			
Variables	N	%	p-value
Seropositivity to assays			
anti-PGL-I ELISA	9	17	a,b
Rapid lateral-flow LID-NDO test	24	42.3	b,c
Sex			
Female	30	56.6	a
Male	23	43.3	a
Operational classification of the index case			
PB	15	23.3	b
MB	38	71.7	a
Clinical classification of the index case			
Indeterminate	18	34	a
Tuberculoid	12	22.6	b
Borderline	17	32.1	a
Lepromatous	6	11.3	c,a

Note: p-value represented by different letters did not differ statistically in the multiple comparison test of proportions ($P < 0.05$) (ANOVA with post-hoc Tukey, phi coefficient).

The population density map demonstrated the spatial distribution of the population within the city urban area and were identified neighborhoods that had higher populational density (Natal, Jerônimo Mendonça, Alcides Junqueira, Jardim do Rosário, and Progresso), consisting of 5,600 to 11,800 inhabitants per square kilometers (Figure 2A).

The spatial distribution of the leprosy cases in urban areas per census sectors of the city of Ituiutaba has demonstrated to be heterogeneous (Figure 2B), in accordance to the highly endemic official parameters. Hyperendemic areas were mainly identified in the south and northeast regions of the municipality (Figure 2C).

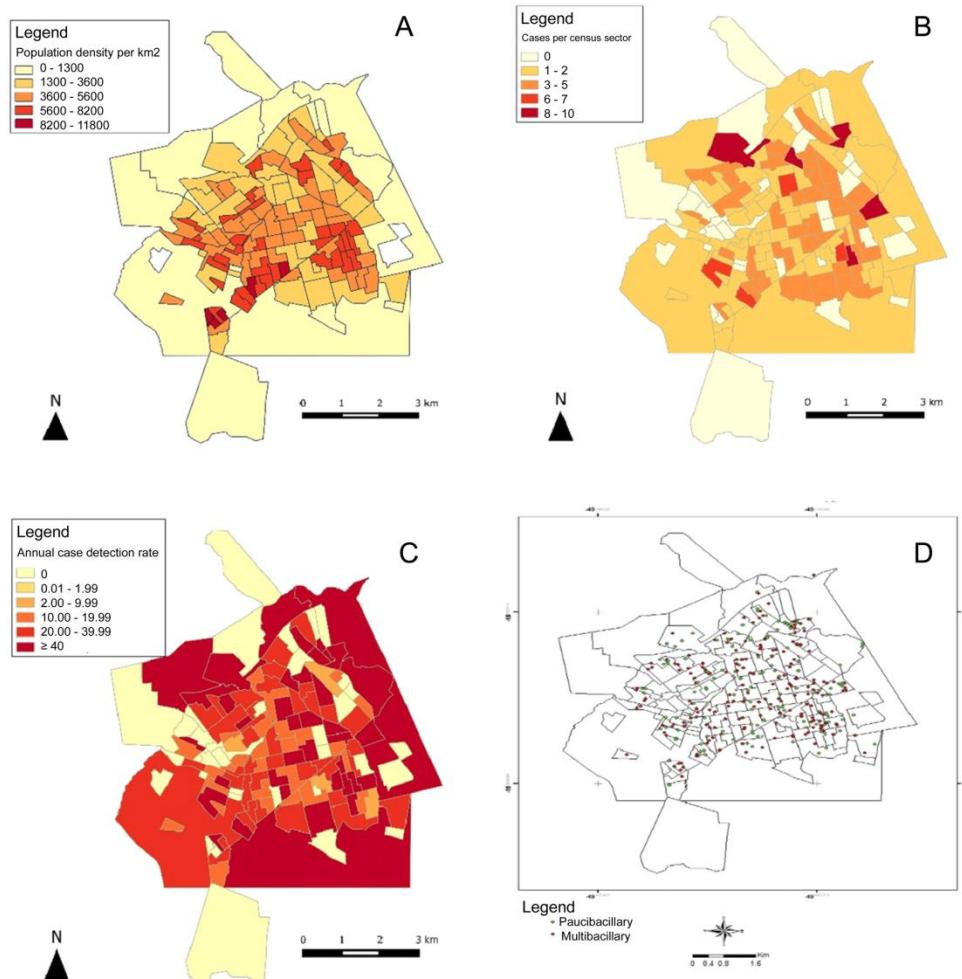


Figure 2. Spatial distribution of leprosy cases in the city of Ituiutaba, MG (2004-2014). (A) Population density per square kilometers according census sectors. (B) Absolute number of new cases according census sectors. (C) New cases detection coefficient per 100,000 population according census sectors (level of endemicity, low to hyperendemic,

according to official parameters). (D) Spatial distribution of leprosy cases according WHO operational classification [paucibacillary (PB) or multibacillary (MB)].

Through the visualization of the overall density estimation map of leprosy cases (Figure 3A) and the Kernel estimation per km^2 (Figure 3B), was possible to observe the main areas where the clusters of disease (cases) were located, which were the same neighborhoods of higher populational density (Natal, Jerônimo Mendonça, Alcides Junqueira, Jardim do Rosário, and Progresso).

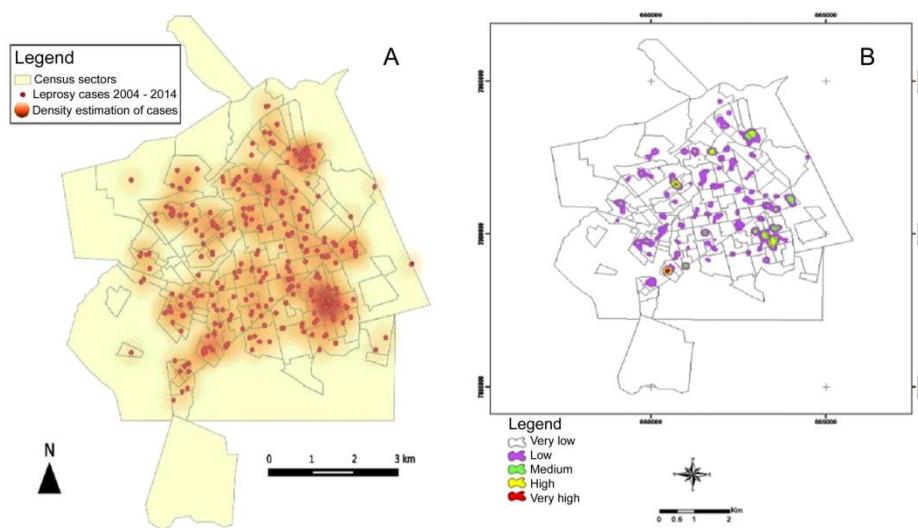


Figure 3. Distribution of leprosy cases in the city of Ituiutaba, MG (2004-2014). (A) Overall distribution of cases from 2004 to 2014 by census sectors. (B) Density of cases per km^2 (Kernel).

During the years of 2013 and 2014, were reported by 41 cases of leprosy residents within the city limits of Ituiutaba, and were examined 53 contacts of these cases in the same period. It was possible to carry out dermatological and neurological examination with collection of samples for the serology in all 53 contacts. Of these, 17% (9/53) were seropositive for IgM anti-PGL-I through the ELISA assay, and 45.28% (24/53) were seropositive for IgG/IgM anti-LID-NDO in the rapid lateral-flow test. There was a statistically significant difference between the serological tests ($P = 0.0033$). The agreement between the tests was assessed and the kappa coefficient was 0.24 ($P = 0.0158$).

Among the contacts, 49.1% (26/53) were positive to at least one of the immunological tests. These were georeferenced in the digital grid map of the

city of Ituiutaba, indicating the spatial distribution of the subclinical infection (Figure 4A).

In order to show possible clusters of infection, the Kernel density estimation was applied, indicating two major clusters of contacts with subclinical infection in the census sectors corresponding to the neighborhoods of "Novo Mundo" and "Alcides Junqueira". Three other clusters with lower density of subclinical infection were visualized, corresponding to the neighborhoods of "Natal", "Centro", and "Alvorada" (Figure 4B).

M.V.C. Nicchio et al. / Acta Tropica 163 (2016) 38–45

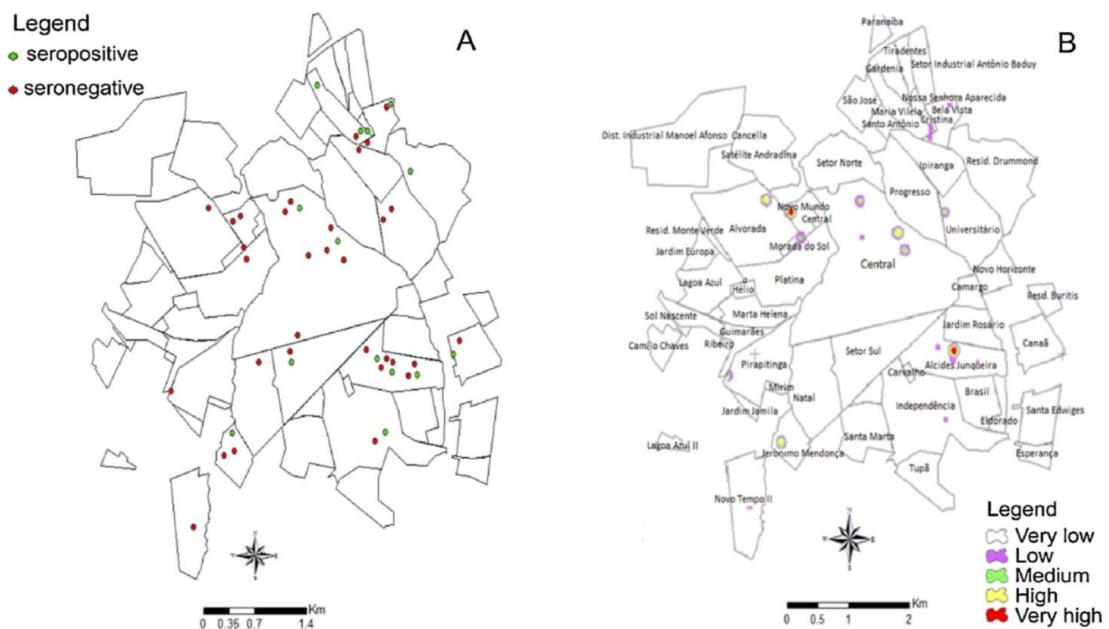


Figure 4. Distribution of contacts of patients in the city of Ituiutaba, MG (2013-2014). (A) Density of leprosy cases (2004-2014) and contacts with subclinical infection according census sectors. (B) Density of contacts with subclinical infection (seropositive to anti-PGL-I ELISA and lateral-flow LID-NDO test) per Km² (Kernel) according census sectors.

DISCUSSION

This study applied GIS and spatial analysis together with serological assays for the characterization of the geographic distribution of new cases of leprosy and the localization of subclinical infection clusters, in the municipality of Ituiutaba in the southeast region of Brazil.

Our findings demonstrated that the new cases detected during the course of 10 years were heterogeneously distributed throughout the city area, in accordance with the epidemiologic indicators, and corroborating with other

studies that employed spatial geographic analysis in settings highly endemic for leprosy(28, 29). Different detection rates were observed within different neighbourhood sectors, varying between low and hyperendemic, following the official parameters for the annual detection rate. The spatial analysis can indicate priority areas for the local control programs.

Analyzing the spatial disposition of these cases into the cesus tract, the kernel density estimation indicated large differences in the number of cases in different areas. The highest case densities overlap the census tracts with high population densities, observing a significant relationship between disease detection and population densities, as previously reported in other studies of spatial distribution of leprosy cases(23, 24, 28, 29).

Not only our findings revealed the relation of population density and new case detection, the disposition of cases was predominant in neighbourhoods with lower socioeconomic indicators, indication that urban composition factors, such as: overcrowding, social inequality, access to health services or precarious sanitation, which are underlying characteristics that determine the transmission of *M. leprae*; impact the incidence of leprosy in a particular place(30, 31).

By mining both the detection rates and the serological results in overlapping spatial geographic density maps, was possible to determine along with the clusters where most cases were concentrated, the cluster areas where increased subclinical infection was detected among contacts, and unsurprisingly they corresponded, indicating that these are areas of active transmission of *M. leprae*(23, 24); therefore of upmost importance to the action planning of control startegies.

During the field incursions was identified that the area of the current neighbourhood of “Natal”, during the the decades of 70’s and 80’s, was located a leprosarium (hospital that abrogated and treated leprosy patients), and at that time the patients and their families migrated to that area, and there they lived under the segregation, stigma and prejudice of the society. The neighbourhood of “Natal” was within a cluster for subclinical infection.

The epidemiological investigation of contacts demonstrated 17% seropositivity for IgM anti-PGL-I, and 45.3% seropositivity for the rapid test LID-NDO, which detects IgG/IgM antibodies, revealing recent and late exposure among the contacts, similar percentages to what has been shown other study

with both antigens (21). The identification of a seropositive group of individuals with subclinical infection in a population is important not only because they are at risk for the development of MB leprosy (9, 11, 20) (manifestation with great dissemination of bacilli); but also because they may be involved in facilitating the transmission of *M. leprae* to susceptible individuals(32). The seropositivity to at least one of the tests among half the population of healthy HHCs (26/53) demonstrates the extent of occult infections, as well the intense circulation of bacilli in this highly endemic area, which may be sustaining the bacillary burden, in spite of the control actions (32).

It should be noted that in areas where were not identified clusters of disease or subclinical infection, we must never assumed they are free of risk for the disease, once the dynamic of the transmission of leprosy is poorly understood, as the rates may be influenced by the absence of adequate healthcare and surveillance in this specific areas.

The spatial analysis has been demonstrated to be decisive for the planning of the control measures, particularly in regions where the resources are limited, as in the case of leprosy endemic countries. Different methodologies in different settings must be compared in order to improve our understanding of millennia lasting communicable disease. The precise factors to explain the distribution of leprosy are still to be revealed. Nonesoever, this study has shed light into the possibility to use the spatio-temporal analysis together with social aspects and laboratory methodologies to support control strategies. Our group will further explore this spatio-temporal analysis extending the territory and the assays involved in this research.

Acknowledgments

The authors are grateful to Tânia Cristina K.C. Cintra (chief RN) and to the all the staff in the family healthcare unit that helped collecting the samples and data in the city of Ituiutaba. We are also thankful to all the individuals that agreed to participate in this study.

REFERENCES

1. Barreto JG, Guimaraes Lde S, Frade MA, Rosa PS, Salgado CG. High rates of undiagnosed leprosy and subclinical infection amongst school children in the Amazon Region. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2012;107 Suppl 1:60-7.
2. Lima LN, Frota CC, Mota RM, Almeida RL, Pontes MA, Goncalves Hde S, et al. Widespread nasal carriage of *Mycobacterium leprae* among a healthy population in a hyperendemic region of northeastern Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2015;110(7):898-905.
3. Goulart IM, Araujo S, Filho AB, de Paiva PH, Goulart LR. Asymptomatic Leprosy Infection among Blood Donors May Predict Disease Development and Suggests a Potential Mode of Transmission. *Journal of clinical microbiology*. 2015;53(10):3345-8.
4. Araujo S, Rezende MM, Sousa DC, Rosa MR, Santos DC, Goulart LR, et al. Risk-benefit assessment of *Bacillus Calmette-Guerin* vaccination, anti-phenolic glycolipid I serology, and Mitsuda test response: 10-year follow-up of household contacts of leprosy patients. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2015;48(6):739-45.
5. World Health O. WHO Expert Committee on Leprosy. World Health Organization technical report series. 2012(968):1-61, 1 p following
6. Fine PE, Sterne JA, Ponnighaus JM, Bliss L, Saui J, Chihana A, et al. Household and dwelling contact as risk factors for leprosy in northern Malawi. *American journal of epidemiology*. 1997;146(1):91-102.
7. Sales AM, Ponce de Leon A, Dupre NC, Hacker MA, Nery JA, Sarno EN, et al. Leprosy among patient contacts: a multilevel study of risk factors. *PLoS neglected tropical diseases*. 2011;5(3):e1013.
8. Reis EM, Araujo S, Lobato J, Neves AF, Costa AV, Goncalves MA, et al. *Mycobacterium leprae* DNA in peripheral blood may indicate a bacilli migration route and high-risk for leprosy onset. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2014;20(5):447-52.
9. Goulart IM, Bernardes Souza DO, Marques CR, Pimenta VL, Goncalves MA, Goulart LR. Risk and protective factors for leprosy development determined

by epidemiological surveillance of household contacts. Clinical and vaccine immunology : CVI. 2008;15(1):101-5.

10. van Beers SM, Hatta M, Klatser PR. Patient contact is the major determinant in incident leprosy: implications for future control. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1999;67(2):119-28.
11. 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. 2004;11(5):897-900.
12. 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.* 2004;75(4):310-26.
13. Bakker MI, Hatta M, Kwenang A, Van Mosseveld P, Faber WR, Klatser PR, et al. Risk factors for developing leprosy--a population-based cohort study in Indonesia. *Leprosy review.* 2006;77(1):48-61.
14. Moet FJ, Pahan D, Schuring RP, Oskam L, Richardus JH. Physical distance, genetic relationship, age, and leprosy classification are independent risk factors for leprosy in contacts of patients with leprosy. *The Journal of infectious diseases.* 2006;193(3):346-53.
15. Cho SN, Cellona RV, Villahermosa LG, Fajardo TT, Jr., Balagon MV, Abalos RM, et al. 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. 2001;8(1):138-42.
16. Ng V, Zanazzi G, Timpl R, Talts JF, Salzer JL, Brennan PJ, et al. Role of the cell wall phenolic glycolipid-1 in the peripheral nerve predilection of *Mycobacterium leprae*. *Cell.* 2000;103(3):511-24.
17. Spencer JS, Brennan PJ. The role of *Mycobacterium leprae* phenolic glycolipid I (PGL-I) in serodiagnosis and in the pathogenesis of leprosy. *Leprosy review.* 2011;82(4):344-57.
18. Duthie MS, Balagon MF, Maghanoy A, Orcullo FM, Cang M, Dias RF, et al. Rapid Quantitative Serological Test for Detection of Infection with *Mycobacterium leprae*, the Causative Agent of Leprosy. *Journal of clinical microbiology.* 2014;52(2):613-9.

19. Qiong-Hua P, Zhong-Yi Z, Jun Y, Yan W, Lian-Chao Y, Huan-Ying L, et al. Early Revelation of Leprosy in China by Sequential Antibody Analyses with LID-1 and PGL-I. *Journal of tropical medicine*. 2013;2013:352689.
20. Duthie MS, Raychaudhuri R, Tutterow YL, Misquith A, Bowman J, Casey A, et al. A rapid ELISA for the diagnosis of MB leprosy based on complementary detection of antibodies against a novel protein-glycolipid conjugate. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2014;79(2):233-9.
21. da Conceicao Oliveira Coelho Fabri A, Carvalho AP, Araujo S, Goulart LR, de Mattos AM, Teixeira HC, et al. Antigen-specific assessment of the immunological status of various groups in a leprosy endemic region. *BMC infectious diseases*. 2015;15:218.
22. Leprosy Elimination Monitoring (LEM) : Guidelines for monitors 2000. Geneva: World Health Organization, 2000.
23. Barreto J, Bisanzio D, Frade MAC, Moraes TMP, Gobbo Aé R, de Souza Guimarães L, et al. Spatial epidemiology and serologic cohorts increase the early detection of leprosy. *BMC infectious diseases*. 2015;15.
24. Barreto JG, Bisanzio D, Guimaraes Lde S, Spencer JS, Vazquez-Prokopec GM, Kitron U, et al. Spatial analysis spotlighting early childhood leprosy transmission in a hyperendemic municipality of the Brazilian Amazon region. *PLoS neglected tropical diseases*. 2014;8(2):e2665.
25. Paschoal J, #xe9, Armani A, Paschoal VD, #x, Arco, et al. Identification of Urban Leprosy Clusters. *The Scientific World Journal*. 2013;2013:6.
26. Queiroz Jé W, Dias GH, Nobre Mí L, De Sousa Dias Má C, Araújo Sé F, Barbosa JD, et al. Geographic Information Systems and Applied Spatial Statistics Are Efficient Tools to Study Hansen's Disease (Leprosy) and to Determine Areas of Greater Risk of Disease. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2010;82(2):306-14.
27. Lobato J, Costa MP, Reis Ede M, Goncalves MA, Spencer JS, Brennan PJ, et al. Comparison of three immunological tests for leprosy diagnosis and detection of subclinical infection. *Leprosy review*. 2011;82(4):389-401.
28. Sampaio PB, Rossi TL, Cerutti Junior C, Zandonade E. Spatial analysis of new cases of leprosy in the State of Espírito Santo, Brazil, between 2004 and 2009. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2012;45(3):380-4.

29. Montenegro AC, Werneck GL, Kerr-Pontes LR, Barreto ML, Feldmeier H. Spatial analysis of the distribution of leprosy in the State of Ceara, Northeast Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2004;99(7):683-6.
30. Bakker MI, Hatta M, Kwenang A, Faber WR, van Beers SM, Klatser PR, et al. Population survey to determine risk factors for *Mycobacterium leprae* transmission and infection. *International journal of epidemiology*. 2004;33(6):1329-36.
31. Kerr-Pontes LR, Montenegro AC, Barreto ML, Werneck GL, Feldmeier H. Inequality and leprosy in Northeast Brazil: an ecological study. *International journal of epidemiology*. 2004;33(2):262-9.
32. Araujo S, Lobato J, Reis Ede M, Souza DO, Goncalves MA, Costa AV, et al. Unveiling healthy carriers and subclinical infections among household contacts of leprosy patients who play potential roles in the disease chain of transmission. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2012;107 Suppl 1:55-9.