

HISTOPATOLOGIA DA REAÇÃO DE MITSUDA EM ADULTOS SADIOS NAO COMUNICANTES DE HANSENIANOS

Nílceo Schwery MICHALANY *
Jorge MICHALANY **

RESUMO — Estudo pormenorizado da histopatologia da reação de Mitsuda em 100 adultos sadios não comunicantes de hansenianos, inoculados com a lepromina A (armadillo). Verificou-se que a estrutura histológica da reação de Mitsuda com a lepromina integral A não difere daquela observada com a lepromina integral H. Não há também diferenças entre o quadro histológico da reação nos indivíduos sadios não comunicantes de hansenianos e aquele observado tanto em hansenianos tuberculóides quanto em indivíduos sadios comunicantes. A reação de Mitsuda nos adultos sadios não comunicantes de hansenianos apresenta variações de graduação histológica — Classes O (—) ± II (+) ((+) III (+ +)IV (+++) — desde ausência de reação com baciloscopia positiva (Classe O) até a formação de granuloma tuberculóide completo com baciloscopia negativa (Classe IV). Em 97% dos casos a reação foi positiva, predominando a classe III (42%), representada por granuloma tuberculóide incompleto, isto é, formado por células epitelióides e halo linfocitário, com arranjo folicular. Os achados desta pesquisa comprovam, mais uma vez, que a eficiência do resultado da reação de Mitsuda depende fundamentalmente do exame histológico, tanto que apenas em 16 casos houve igualdade de resultado entre a leitura clínica e a histológica. A discordância nos 84 casos restantes foi atribuída às alterações secundárias (necrose e supuração), associadas à reação granulomatosa do teste positivo. Esses achados demonstram também que a estrutura histológica da reação de Mitsuda segue à lei de Jadassohn-Lewandowsky e que está de acordo com o conceito morfológico e classificação dos granulomas polares proposto por Michalany & Michalany.

Palavras chave: Reação de Mitsuda. Histopatologia.

1 INTRODUÇÃO

Em 1982, Petri²⁶ apresentou um estudo comparativo entre a leitura clínica e o exame histológico da reação de Mitsuda em indivíduos adultos sadios não comunicantes de hansenianos, feito exclusivamente com lepromina A (ar-

madillo) em vez de lepromina H (humana). Pelo que consta, pareceu tratar-se da primeira pesquisa realizada com lepromina A num substancial número de casos para se comparar a leitura clínica com o exame histológico em indivíduos sem qualquer contato com hansenianos.

(*) Professor Assistente.

(**) Professor Titular do Departamento de Anatomia Patológica da Escola Paulista de Medicina e Médico da Divisão de Hansenologia do Instituto de Saúde.

Endereço: Departamento de Anatomia Patológica. Escola Paulista de Medicina. Rua Botucatu, 740. Cep: 04023. São Paulo. SP. Brasil.

Por se tratar de trabalho de cunho predominantemente clínico, Petri²⁶ limitou-se a resumir numa tabela o critério histológico adotado para classificar as reações tardias à lepromina nos 100 casos apresentados. O estudo histológico desse material foi realizado por N. S. Michalany e uma nova análise, agora bem pormenorizada dos achados, constituiu sua tese para mestrado em 1983²¹.

Essa nova análise foi baseada no conceito e classificação da inflamação granulomatosa em granulomas polares, critério estabelecido por J. Michalany desde 1972¹⁸ cujo estudo pormenorizado foi objeto de recente trabalho dos Autores ²⁰.

1.1 Revisão da Literatura

1.1.1 Conceito e classificação morfológica da inflamação granulomatosa: granulomas polares

Esse estudo sobre um novo conceito e classificação morfológica da inflamação granulomatosa em granulomas polares, baseado na experiência adquirida em patologia geral e, sobretudo, com duas moléstias granulomatosas *sui generis*, como a hanseníase e a blastomicose de Jorge Lobo, foi posto em prática, há mais de dez anos, no Departamento de Anatomia Patológica da Escola Paulista de Medicina, tendo se mostrado de apreciável utilidade para o diagnóstico histopatológico corrente.

Michalany & Michalany ²⁰ fizeram pormenorizada análise do histórico e da evolução da inflamação granulomatosa, chegando a conclusões de suma importância para a compreensão do quadro histológico das lesões granulomatosas em geral e, principalmente, da hanseníase e da reação de Mitsuda, como segue:

a) A *ainda* tão proclamada confusão a respeito da inflamação granulomatosa foi mais devida à comparação

que Rudolf Virchow fez, em 1865, com o tecido de granulação do que com os tumores.

b) As objeções dos patologistas do passado à teoria de Metchnikoff sobre a fagocitose foram uma das principais razões que mantiveram essa confusão por tão longo tempo.

c) A análise histórica da inflamação granulomatosa revela que, já em fins do século XIX, as diferenças entre granuloma e tecido de granulação estavam perfeitamente estabelecidas, mas foram, negligenciadas pela maioria dos anatomopatologistas.

d) Melhores conhecimentos a respeito da inflamação granulomatosa foram, em grande parte, devidos ao conceito de Aschoff sobre o sistema reticulo-endotelial, reação de Mitsuda para as formas de hanseníase, lei de Jadassohn-Lewandowsky, classificação sul-americana da hanseníase nas formas polares e contribuição de Forbus à histogênese e classificação morfológica dos granulomas.

e) Com base no fenômeno da fagocitose e na natureza dos agentes etiológicos é proposta a seguinte definição para os granulomas: *Hiperplasia reacional de macrófagos a agentes inanimados e a agentes animados de baixa virulência*. São excluídas desse conceito as chamadas reticulo-endotelioses e certas lesões neoplásicas ou não, denominadas granulomas.

f) O melhor modelo para o estudo da inflamação granulomatosa é a hanseníase, porque esta moléstia é caracterizada por duas formas clínicas polares diferentes, tendo cada uma delas tipos particulares de fagocitose (completa ou incompleta) e de granulomas (tuberculóide e não tuberculóide).

g) Com base nas formas polares da hanseníase, lei de Jadassohn-Lewandowsky, metamorfose dos macrófagos e natureza do agente etiológico, é pro-

posta uma classificação morfológica da inflamação granulomatosa em granulomas polares, tuberculóide e não tuberculóide.

h) O tipo polar tuberculóide obedece à lei de Jadassohn-Lewandowsky, o agente etiológico é ausente ou escasso (fagocitose completa) e compreende dois subtipos: o tuberculóidico e o sarcóidico. Esses tipos são característicos da hanseníase tuberculóide e da reação de Mitsuda positiva.

i) O granuloma polar não-tuberculóide não obedece à lei de Jadassohn-Lewandowsky, o agente etiológico está sempre presente e/ou abundante (fagocitose incompleta) e compreende dois subtipos: o gigante-celular como ocorre na blastomicose de Jorge Lobo e o macrófago persistente. Neste último caso, o macrófago pode comportar-se como um meio de cultura (hanseníase virchowiana) ou como uma célula de armazenamento (antracose).

j) Quando ambas estruturas de granulomas polares, tuberculóide e não tuberculóide, são encontradas na mesma moléstia, como é o caso da hanseníase dimorfa, o granuloma recebe o nome de interpolar. No caso de os dois tipos polares serem supervenientes na mesma moléstia, o granuloma será bipolar, tal como ocorre na leishmaniose em seu período inicial (não-tuberculóide) e tardio (tuberculóide).

k) Parece que a definição e classificação de granulomas proposta pelos Autores^{18,20} associa a morfologia como a atividade funcional dos macrófagos, fato facilmente observável no exame histológico corrente pela microscopia óptica.

l) A classificação morfológica em granulomas polares (tuberculóide e não-tuberculóide) tem sua aplicação para a teoria e, principalmente, para a prática do diagnóstico histopatológico corrente. Se o granuloma for tuber-

culóide, o agente etiológico estará geralmente ausente ou difícil de ser encontrado; o diagnóstico será, em geral, baseado nos dados clínicos. Ao contrário, se o granuloma for não-tuberculóide, o agente etiológico estará certamente presente e deverá ser investigado; o diagnóstico final será baseado na morfologia.

m) Esta classificação é aplicável somente para os tipos opostos extremos da inflamação granulomatosa. Tipos intermediários e particulares, ou aqueles tipos associados com supuração, foram excluídos dessa investigação e serão objeto de estudos posteriores para a sua classificação.

1.1.2 Histologia da reação de Mitsuda

Apesar dos extraordinários avanços da imunologia nestes últimos 20 anos, a reação de Mitsuda continua sendo o melhor método para o prognóstico da moléstia, tanto em hansenianos como nos indivíduos comunicantes ou não desses doentes.

Esta reação surgiu, em 1919, quando Kensuke Mitsuda, baseado nas tentativas prévias de seu compatriota Yoshinubo Hayashi, publicadas em 1918¹⁵, conseguiu realizar um teste cutâneo com um antígeno que corresponde ao protótipo da lepromina usada até há pouco tempo^{22,23}. Tratava-se de uma suspensão de leproma, muito rico em bacilos, fervido durante duas horas em soro fisiológico. Mitsuda inoculou esse material em 421 indivíduos, sendo 403 enfermos, 8 crianças filhos de hansenianos e 10 adultos sadios, correspondendo os enfermos a 279 casos (69,24%) de lepra tuberosa e 124 (30,76%) a casos de lepra nervosa e maculosa.

Mitsuda verificou que, após algumas semanas, havia uma característica reação tardia ao *inoculum*, que ficou conhecida como reação de Mitsuda.

Quando fortemente positiva e observada entre 20 a 24 dias após a inoculação, apresentava-se como um nódulo ulcerado.

O estudo histológico foi feito em 3 casos de lepra nervosa, por meio de biopsias realizadas 4 semanas após a inoculação do seu preparado n.º 2, ou seja, o protótipo da lepromina atual, cuja reação foi positiva. Tratava-se de doentes do grupo etário 20-29 anos e acometidos pelo mal entre 10 a 14 anos.

Por se tratar do estudo pioneiro sobre o quadro histológico da reação tardia e a fim de comparar os achados desse grande investigador com os da literatura e da presente pesquisa, convém fazer a transcrição sucinta das suas observações ²³.

Caso 1 — Reação cutânea moderadamente positiva. Infiltrado difuso da derme representado por células epitelióides e células gigantes de corpo estranho Bacilos isolados presentes no interior das células epitelióides. Ausência de plasmacélulas.

Caso 2 — Reação cutânea fortemente positiva. Ao lado de leucócitos, linfócitos, células estreladas, histiócitos e mastócitos, presença de células epitelióides e gigantes (não especificadas). Ausência de bacilos e plasmacélulas.

Caso 3 — Reação cutânea fortemente positiva. Infiltrado representado por células epitelióides e células gigantes, tanto de corpo estranho como de Langhans. Bacilos raros corados fracamente. Uma segunda biopsia realizada nesse enfermo, seis meses mais tarde, revelou ainda células epitelióides e gigantes, mas com sinais de atrofia.

Mitsuda concluiu que a reação tecidual nos 3 casos era a mesma, começando como inflamação aguda que, gradualmente, se transforma em infiltração crônica com produção de células epitelióides e células gigantes. Os achados, tanto bacilares como celulares,

eram semelhantes aos observados na lepra maculosa que mostra tecido tuberculóide com poucos bacilos de lepra e grande produção de células epitelióides.

Esses resultados, segundo Mitsuda, demonstram que a reação cutânea provocada pela suspensão de bacilos determina evidente reação específica. No entanto, se tal reação for observada em indivíduos não leproso, o seu valor diagnóstico estará quase perdido.

A descoberta do notável cientista japonês só se tornou conhecida no mundo ocidental quando comunicou-a ao Congresso Internacional de Lepra de Strasburg em 1926, onde se achava presente o dermatologista e hansenologista brasileiro A. Rabello, o qual deve ter-se encarregado de difundir a reação no Brasil ²².

Mariani^{16,17} nos anos de 1924-1925, fez extensa descrição do quadro histológico da reação, sobretudo dos casos positivos (2 de lepra nervosa e 1 caso de indivíduo não leproso), estando representado por estruturas tuberculóides, isto é, células epitelióides, gigantes de Langhans, células linfóides e com ausência de bacilos. O segundo trabalho de Mariani¹⁷ ilustrado com excelentes desenhos de câmara clara, em branco e preto e coloridos.

Depois de Mitsuda, surgiu no Japão o clássico trabalho de Hayashi em 1933¹⁴, no qual ele confirmou os achados do primeiro. Sua descrição é um tanto vaga porque não refere quantos casos examinou ; presume-se também que o seu relato corresponda a casos Mitsuda positivos e a um caso Mitsuda negativo.

Refere que as alterações inflamatórias agudas desaparecem pouco tempo depois da injeção e que, mais tarde, são substituídas por alterações crônicas de grau moderado. Aparecem células pitelióides e células gigantes, nas

quais muitos bacilos de lepra estão fagocitados. Em torno da área de células epitelióides e gigantes há uma camada de células linfóides, onde raramente se encontram bacilos.

No presumível caso de reação de Mitsuda negativa, havia uma cicatriz, dois meses após a injeção. Hayashi afirmou ter encontrado muitos bacilos, nem destruídos nem privados do seu caráter ácido resistente ¹⁴.

A primeira pesquisa sobre o quadro histológico da reação de Mitsuda no Brasil foi realizada em 1936, pelo dermatologista argentino Shujman³⁰. Iniciada em Rosario, Argentina, foi terminada no Instituto Conde de Lara, São Paulo, com material obtido de doentes dos sanatórios paulistas. Para o estudo histológico Shujman foi orientado pelos Drs. Abílio Martins de Castro e Humberto Cerruti. Trata-se, portanto, de uma importante pesquisa da "escola paulista de patologia da hanseníase"^{20,21}.

Shujman examinou o local de inoculação com a lepromina respectivamente aos 2 dias, uma semana e 4 semanas, em doentes com lepra tuberculóide (15 casos), lepra cutânea (tuberosa) (18 casos) e lepra nervosa pura (número não determinado).

Nos tuberculóides, a reação inicial (2 dias) foi caracterizada por processo inflamatório agudíssimo, representado pela congestão e edema da derme, infiltrado por leucócitos, neutrófilos e eosinófilos, e ausência de bacilos. Aos 4 dias, o processo inflamatório tornava-se subagudo, sendo representado por eosinófilos e linfócitos. Dos 8 aos 30 dias, desapareciam os fenômenos agudos, o processo inflamatório tornava-se crônico, ficando representado por infiltrado de células linfocitárias, epitelióides e gigantes de Langhans, às vezes assumindo disposição folicular. A pesquisa para bacilos foi sempre negativa.

Nos casos de lepra cutânea com tubérculos e com abundante número de bacilos nas lesões e no muco nasal, a reação desaparecia do 2.º ao 5.º dia após a inoculação da lepromina, com quadro histológico completamente diferente do anterior. No 2.º dia formava-se processo inflamatório agudo, semelhante ao encontrado na forma tuberculóide, mas com bacilos presentes. Depois de uma semana, desaparecia o processo agudo, mas em vez de ser seguido por outro tipo crônico, como nos doentes tuberculóides, a pele apresentava-se quase normal. Nas formas nervosas puras, havia apenas discreto infiltrado linfocitário perivascular e periglandular, no qual não se encontravam bacilos.

Shujman conclui que:

- a reação de Mitsuda é positiva em 100% dos casos de lepra tuberculóide ;
- o quadro histológico na fase tardia da reação positiva corresponde a um granuloma semelhante ao da lepra tuberculóide;
- nas formas cutâneas, o processo agudo desaparece logo e não é substituído por reação inflamatória crônica ;
- em alguns casos de forma nervosa (com máculas acrômicas), a reação de Mitsuda tinha as características daquela da lepra tuberculóide.

Shujman³⁰ referiu uma particularidade : os casos de reação de Mitsuda fortemente positiva (com ulceração central) quando biopsiados após um mês, apresentavam, ao lado dos focos foliculares, grandes zonas de necrose e caseose "muito semelhantes às que se observam na neurite leprosa de tipo caseoso".

Logo depois, em 1937, Rabello Jr. & Rotberg²⁸ referem o achado de estrutura tuberculóide nos nódulos produzi-

dos pela reação de Mitsuda, bem como em algumas reações positivas nos casos de lepra cutânea que Bechelli *et al.*⁶ aventaram a possibilidade de terem sido tuberculóides reacionais.

Em indivíduos são com lepromino reação fortemente positiva (+++), Nagai²⁴ observou células epitelióides, linfócitos e algumas células gigantes. No caso de lepra nervosa, o quadro histológico foi quase o mesmo, ao passo que nos lepromatosos não havia qualquer reação celular apreciável. Tachikawa³¹ constatou, em dois casos, que a pápula da reação de Mitsuda correspondia histologicamente a uma estrutura tuberculóide.

Em doentes de lepra tuberculóide Büngeler & Fernandez^{9,10,11} verificaram, em 1940, necrose fibrinóide 24 horas após a inoculação da lepromina e afirmaram que, já no segundo dia, após a feita do teste, pôde-se estabelecer o diagnóstico da evolução da reação de Mitsuda. Depois de duas a três semanas, os focos de necrose fibri-nóide transformaram-se em nódulos organizados, os quais são constituídos, principalmente, por células epitelióides e gigantes, cuja disposição é idêntica aos nódulos da lepra tuberculóide típica. Esclareça-se, porém, que a necrose fibrinóide, na reação de 24 a 48 horas, não foi observada por Faria¹² nem pelo experimentado patologista e hansenologista Paulo Rath de Souza.

O estudo da reação de Mitsuda em virchowianos após 16 dias de injeção feito por Alayon¹ não revelou qualquer indício de granuloma de tipo tuberculóide. Confirmando as pesquisas de Shujman³⁰ e, de forma indireta, as de Büngeler & Fernandez^{9,10,11}, Alayon¹ considerou que as alterações características de um estado hiperérgico não se encontram nos testes negativos. Em outro trabalho, Büngeler & Alayon confirmaram os resultados de suas próprias pesquisas⁸.

Discordando das observações acima referidas, Nolasco²⁵ estudando o comportamento da reação de Mitsuda em 35 doentes lepromatosos que estavam em reação leprótica, afirmou ter encontrado reação granulomatosa tuberculóide em 7 casos, nos quais a reação de Mitsuda fôra clinicamente positiva. Após um período de 8 anos sem publicações, causado, provavelmente, pela 2.^a Guerra Mundial, Piñero, em 1958, examinando as biopsias de reação de Mitsuda em hansenianos tuberculóides, verificou que o quadro histológico era idêntico ao da própria moléstia²⁷.

A seguir, surgiram as pesquisas de Faria¹² e de Feldman *et al.*¹³ sobre a reação de Mitsuda em cães. Faria¹², além de não ter encontrado necrose fibrinóide, observou que cães adultos de comunidades hansênicas apresentavam reações tardias à lepromina com típica estrutura tuberculóide. Quanto aos autores americanos acima citados, eles referem um quadro histológico de tipo histiocitário, com eventual transformação epitelióide, mas sem gigantócitos de Langhans¹³.

A mais completa pesquisa sobre a histologia da reação de Mitsuda e que se tornou clássica na "escola paulista de patologia da hanseníase", foi realizada sucessivamente em 1953, 1957 e 1959 por Bechelli, Souza & Quagliato^{6,7}. o estudo histológico foi confiado ao experimentado patologista geral e hansenologista, Paulo Rath de Souza, do então Instituto Conde de Lara, com material procedente de doentes hansenianos e comunicantes.

A publicação de 1957 desses autores⁶ compreende o exame histológico da reação de Mitsuda proveniente de biopsias de 39 doentes tuberculóides, 42 indeterminados, 34 lepromatosos, 3 dimorfos, bem como 21 comunicantes, num total de 139 casos.

Para Bechelli *et al.*⁶, a reação de Mitsuda histologicamente positiva, após

30 dias da injeção de lepromina, deve obedecer ao seguinte quadro histológico :

- a) infiltrado granulomatoso bastante intenso;
- b) infiltrado granulomatoso e constituído, predominantemente, por células epitelióides ;
- c) infiltrado com estrutura tuberculóide, isto é, semelhante a do granuloma da hanseníase tuberculóide;
- d) pesquisa para bacilos nos cortes histológicos negativa ou revelando no máximo, raros bacilos.

Em 1959, esses mesmos autores⁷ acrescentaram mais 54 casos às observações anteriores, o que perfaz o total de 293 reações de Mitsuda, procedentes de indivíduos assim classificados : 52 lepromatosos *branqueados*, 93 tuberculóides, 82 indeterminados, 4 dimorfos e 82 comunicantes. Os autores esclarecem que, apesar do número maior de casos nessa última pesquisa, não conseguiram estabelecer padrões para o diagnóstico da reação de Mitsuda. Adotaram o mesmo critério pessoal (Paulo Rath de Souza) da pesquisa de 1957, assim justificado:

a) *Reação de Mitsuda histologicamente positiva* — Infiltrado inflamatório crônico de certa intensidade, granulomatoso e constituído predominantemente por células epitelióides, assumindo estrutura tuberculóide. Bacilos ácido-resistentes, ausentes ou raros.

b) *Reação de Mitsuda histologicamente negativa* — Infiltrado inflamatório crônico banal (bacilos em geral ausentes ou em pequeno número) ou granulomatoso sem estrutura tuberculóide e constituído por elementos histiocitários sem as características das células epitelióides (bacilos presentes em número substancial). Pode-se encontrar infiltrado lepromatoso em regressão, tratando-se, evidentemente,

de lesão pré-existente no local da injeção.

c) *Teste lepromínico cujo quadro fala a favor de se tratar de reação positiva* — Infiltrado inflamatório crônico de certa intensidade, porém não totalmente granulomatoso e nem constituído predominantemente por células epitelióides ; aqui e ali mostram-se agrupados, numa tendência mais ou menos nítida à formação de estruturas nodulares. Pode-se ver um ou outro gigante. Bacilos ausentes ou raros".

Pesquisa semelhante à dos autores paulistas, foi realizada no Rio de Janeiro por Azulay *et al.*⁵ tanto em hansenianos como em indivíduos sãos, totalizando 94 casos. Consideraram como quadro histológico padrão da reação de Mitsuda positiva, a existência do granuloma tuberculóide, não levando em conta o tamanho da lesão granulomatosa, mas apenas a presença de células epitelióides. Quanto às alterações da reação de Mitsuda negativa, estas apresentaram-se com três diferentes tipos de quadro histológico :

a) reação inflamatória crônica simples, representada por linfócitos e histiócitos ;

b) granuloma de corpo estranho;

c) reação inflamatória predominantemente fibrosa. Uma vez comprovada a relação da leitura clínica com o exame histológico, concluíram que somente o achado de granuloma tuberculóide corresponde a um resultado verdadeiramente positivo.

Em 11 casos de indivíduos sadios não comunicantes de hansenianos, Andrade⁴ comparou os resultados da leitura clínica com a histologia e baciloscopia. Dos 11 casos, todos positivos, havia 2 com leitura clínica duvidosa e 9 positivos. A histologia sempre foi representada por granuloma tuberculóide, quer completamente formado, quer por estrutura tuberculóide em

organização, porquanto a simples presença de células epitelióides traduz a resistência orgânica à lepra. Quanto aos bacilos, estavam presentes em 5 casos, raros em 3 e ausentes em 3.

Michalany adotou na pesquisa de Alchorne^{2,3} critério semelhante de avaliação histológica seguindo as bases de seu conceito e classificação de granulomas estabelecido desde 1972 e seguido no Departamento de Anatomia Patológica da Escola Paulista de Medicina¹⁸. Desse modo, avaliou o grau de intensidade histológica da reação de Mitsuda da seguinte maneira :

"a) *Reação positiva forte (+++)* — granuloma polar tuberculóide completo e pesquisa para bacilos ácido-resistentes negativa.

b) *Reação positiva moderada (++)* — granuloma incompleto e pesquisa para bacilos ácido-resistentes negativa.

c) *Reação positiva fraca (+)* — infiltrado linfo histiocitário não granulomatoso e pesquisa para bacilos ácido-resistentes negativa".

Das últimas pesquisas sobre a histologia da reação de Mitsuda tardia (21 dias) em hansenianos, destaca-se a de Thomas *et al.* em 1980²², realizada em Tamil Nadu (Índia). A diferença está na divisão dos enfermos (38) conforme a classificação de Ridley & Jopling²⁹ em cinco grupos. De modo geral, os resultados concordam com os de Bechelli *et al.*^{6,7} e que, segundo Michalany¹⁸, se identificariam da seguinte maneira :

— *Grupo tuberculóide* — 4 casos reação de Mitsuda (RM) fortemente positiva. Histologia de granuloma tuberculóide completo, bacilos negativos.

— *Grupo tuberculóide borderline* — 12 casos RM positiva em grau variável. Granuloma em geral tuberculóide incompleto e bacilos presentes em alguns casos.

— *Grupo borderline lepromatoso* — 4 casos RM negativa, macrófagos, linfócitos e células gigantes de corpo estranho. Bacilos presentes.

— *Grupo lepromatoso* — 5 casos de reação de Mitsuda negativa. Granuloma não tuberculóide (macrófagos e células gigantes de corpo estranho).

— *Grupo indeterminado* — 9 casos de reação de Mitsuda positiva em 8 (granuloma tuberculóide) e um negativo (reação inflamatória ausente e persistência dos bacilos).

Parece que a última pesquisa que se tem conhecimento sobre a reação de Mitsuda foi realizada por Petri²⁶, em 1982, com lepromina A em 100 indivíduos sadios não comunicantes de hansenianos, cujo exame histológico esteve a cargo de N. S. Michalany²⁶.

O critério histológico foi baseado na existência ou não de infiltrado inflamatório granulomatoso, de tipo tuberculóide ou não, e na baciloscopia, conforme acha-se reproduzido na Tabela 3.5.1 da tese de Petri²⁶.

Do ponto de vista histológico, a reação foi positiva em 97% dos casos e negativa apenas em três. Quanto à graduação histológica, predominaram as classes 4 (38%) e 5 (39%), notan-do-se apenas menor percentagem para a classe 6 (11%), isto é, fortemente positiva. Das conclusões de Petri²⁶ ressalta-se o fato de ter havido, às vezes, discordância entre a leitura clínica e o exame histológico, tal como já haviam assinalado Bechelli *et al.*^{6,7} e Alchorne^{2,3}.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O material compreende as biopsias de reação de Mitsuda provenientes de 100 indivíduos do sexo masculino, vivendo na cidade de São Paulo, sem

parentesco consanguíneo entre si, com idade média de 20,9 anos e desvio-padrão de 3,11 anos, e sem qualquer contato com hansenianos, isto é, não comunicantes sadios. A maior parte dessa amostra era composta de leucodermos (79), e o restante, por 21 melanodermos²⁶.

A lepromina para a reação de Mitsuda correspondia à lepromina integral A, procedente do Instituto Nacional de Dermatologia de Caracas, Venezuela, a partir de tatus *Dasypus novemcinctus* Linn. infectados pelo *Mycobacterium leprae*, e contendo 4×10^7 de bacilos por mililitro²⁶.

A leitura clínica tardia da reação de Mitsuda, realizada entre 22 a 32 dias depois da inoculação, demonstrou haver 77 (77%) casos de reação positiva, 19 (19%) casos de reações duvidosas e 4 (4%) de negativos. Quanto ao grau de intensidade das reações positivas, havia nos 77 casos, 39 (+), 29 (++) e 9 (+++). As biopsias foram realizadas por ocasião da leitura clínica, isto é, entre 22 a 32 dias após a inoculação da lepromina, por meio de "punch" de 5mm de diâmetro, envolvendo o centro da área demarcada previamente²⁶.

O material para exame histopatológico foi fixado em formol a 10 por cento. Após a fixação, os fragmentos de tecido foram seccionados ao meio com lâmina de barbear, segundo plano bem perpendicular à superfície externa, e incluídos em parafina. Os cortes, que compreendiam uma a três fitas da biopsia, contendo no mínimo 4 cortes cada uma, foram corados pela hematoxilina-eosina e pelo método de Ziehl-Neelsen-Faraco para a pesquisa de bacilos ácido-resistentes¹⁹.

O critério histológico para esta pesquisa foi, em linhas gerais, semelhante ao adotado na tese de Petri²⁶, mas procurou-se agora estabelecer uma

gradação histológica mais de acordo com o critério adotado por Bechelli *et al.*^{6,7} e por Michalany¹⁸ para os granulomas em geral.

Em lugar de 6 classes, adotaram-se apenas 5, Classes O — I — II — III — IV, combinando-as com o critério de cruces, conforme os trabalhos clássicos da escola japonesa e da "escola paulista de patologia da hanseníase", como está na figura 7.

3 RESULTADOS

Para avaliar os resultados desta pesquisa, procurou-se, naturalmente, analisar em primeiro lugar, a gradação histológica da reação de Mitsuda, segundo a tabela 1. Por aí se vê, que na quase totalidade dos casos (97%) a reação foi positiva, predominando a classe III (++) com 42% ; num único caso a reação foi negativa. (Figuras 1, 2, 3, 4, 5, 6) .

Quanto à pesquisa de bacilos de Hansen, conforme a tabela 2, verificou-se que os bacilos estiveram presentes, em pequena quantidade, apenas em 7 casos (7%) e ausentes em 93%. É interessante notar que a positividade dos bacilos foi maior na classe III (3%) e na classe IV (2%). No único caso de classe 0, a pesquisa foi positiva.

Como a inoculação do antígeno nem sempre determina reação inflamatória granulomatosa pura, procurou-se na tabela 3 analisar as alterações da derme, associadas com aquelas na reação de Mitsuda tardia propriamente dita. De acordo com essa tabela vê-se que em menos da metade dos casos (46%) a reação foi granulomatosa pura, porquanto em 54% foram encontradas alterações associadas, representadas, principalmente, pela necrose isolada (26%). ou associada à supuração (27%).

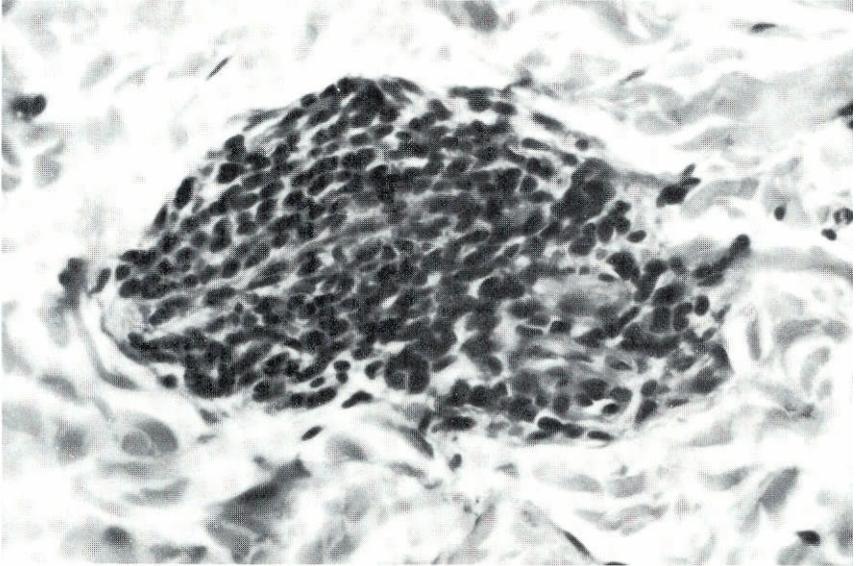


FIGURA 1 — Leitura clínica **RM**(—). Infiltrado linfohistiocitário perivascular (infiltrado inflamatório não granulomatoso) B(—) Classe I(\pm). Resultado sugestivo de positivo de grau fraco.

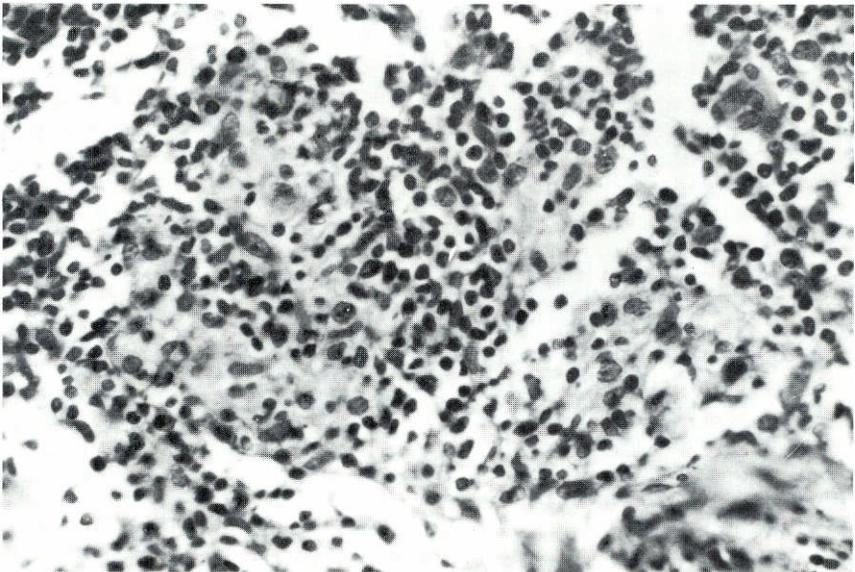


FIGURA 2 — Leitura clínica **RM**(+). Infiltrado de células epitelióides e linfócitos sem arranjo foliolar (tuberculóide incompleto sem arranjo folicular). B(—) Classe II (+). Resultado positivo de grau fraco.

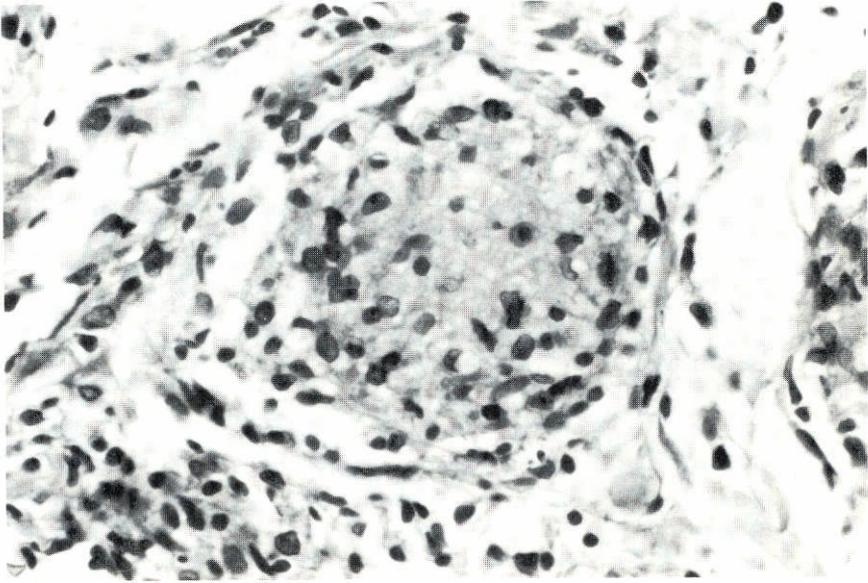


FIGURA 3 - Leitura clínica RM(\pm). Infiltrado de células epitelióides com esboço de arranjo folicular mas sem halo linfocitário. B(-). Classe III (++) . Resultado positivo de grau médio.

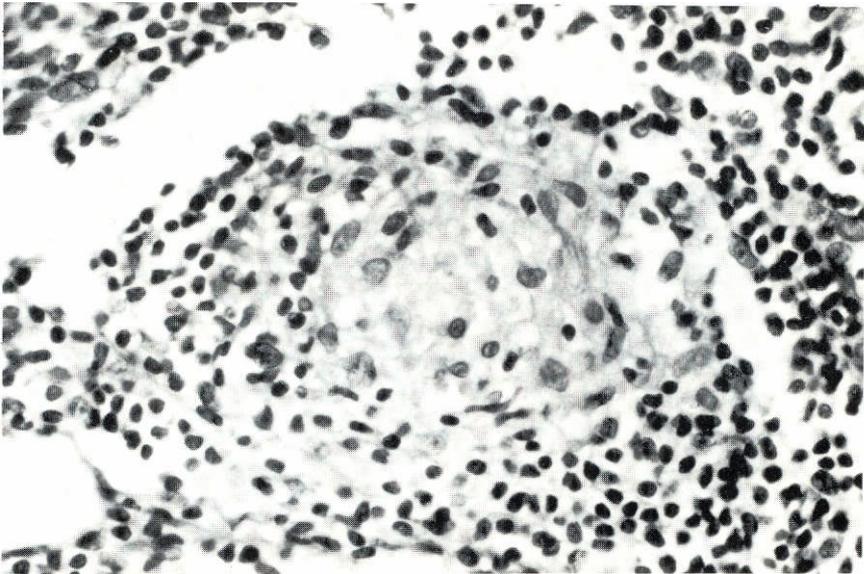


FIGURA 4 — Leitura clínica RM(+). Infiltrado de células epitelióides e linfócitos com esboço de arranjo folicular (tuberculóide incompleto com arranjo folicular). B(-). Classe III (++) . Resultado positivo de grau médio.

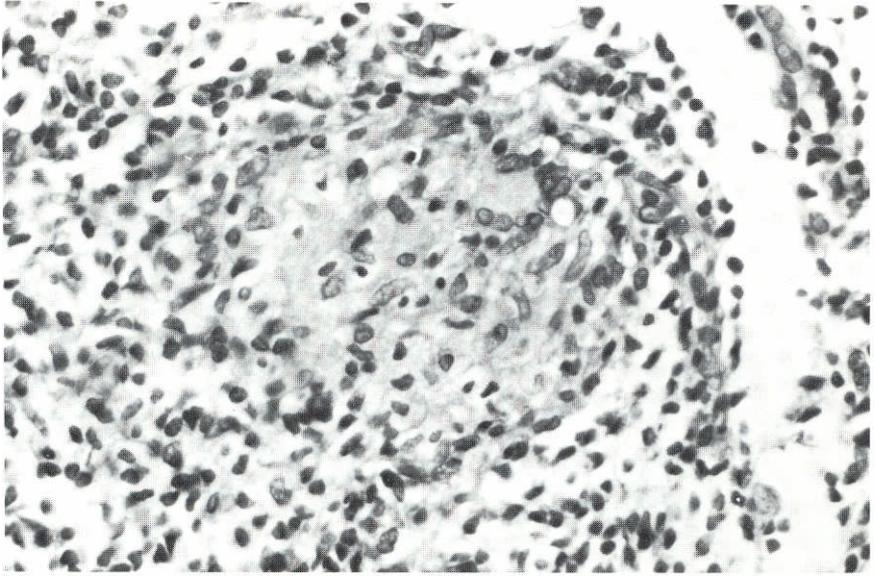


FIGURA 5 — Leitura clínica **RM** (++) . Infiltrado de células epitelióides, linfócitos e gigantócitos de Langhans com arranjo folicular (tuberculóide completo). B(-). Classe **IV** (+ + +). Resultado positivo de grau forte.

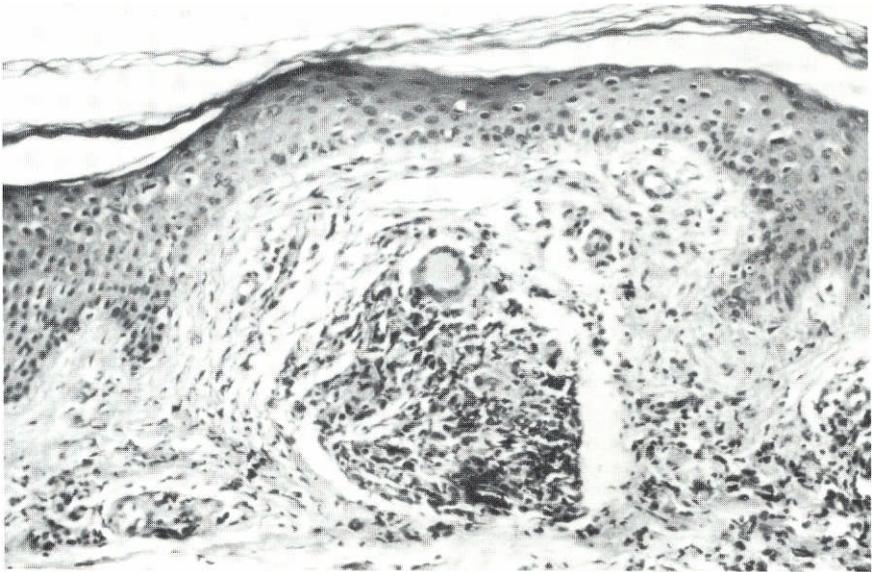


FIGURA 6 -- Leitura clínica **RM** (++-i-). Granuloma tuberculóide completo na derme papilar. B(-). Classe **IV** (+++). Resultado positivo de grau forte tanto clínica como histológicamente.

CLASSE 0 —	Histologia	Ausência de infiltrado inflamatório,
	Baciloscopia	Bacilos presentes.
	Resultado	(—) Negativo.
CLASSE I —	Histologia	Infiltrado inflamatório não granulomatoso.
	Baciloscopia	Bacilos raros ou ausentes.
	Resultado	(±) Sugestivo de positivo de grau fraco.
CLASSE II —	Histologia	Infiltrado inflamatório granulomatoso tuberculóide incompleto com células epitelióides, mas sem arranjo folicular. Bacilos raros ou ausentes. (+) Positivo de grau fraco.
CLASSE III —	Histologia	Infiltrado inflamatório granulomatoso tuberculóide incompleto ou tuberculóide completo, com esboço de arranjo folicular.
	Baciloscopia	Bacilos ausentes.
	Baciloscopia	(++) Positivo de grau médio.
CLASSE IV —	Histologia	Infiltrado inflamatório granulomatoso tuberculóide completo com arranjo folicular.
	Baciloscopia	Bacilos ausentes.
	Resultado	(+++) Positivo de grau forte.

FIGURA 7 — Quadro sobre critério de graduação histológica da reação de Mitsuda.

TABELA 1 — Graduação histológica da reação de Mitsuda

Classe	Intensidade	F	%
0	—	1	1,00
I	±	2	2,00
II	±	32	32,00
III	++	42	42,00
N	+++	23	23,00
Total		100	100,00

TABELA 2 — Pesquisa de bacilos de Hansen

Classe	Positiva		Negativa	
	F	%	F	%
0	1	1,00	0	0,00
I	0	0,00	2	2,00
II	1	1,00	31	31,00
III	3	3,00	39	39,00
IV	2	2,00	21	21,00
Total	7	7,00	93	93,00

TABELA 3 — Alterações associadas da reação de Mitsuda no derma

	F	%
Necrose	26	26,00
Necrose + Supuração	27	27,00
Degeneração do Colágeno	1	1,00
Sem Alterações	46	46,00
Total	100	100,00

TABELA 4 — Alterações da epiderme na biopsia

	F	%
Ulceração	10	10,00
Traieto Fistuloso	3	3,00
Espangiose	28	28,00
Exocitose	20	20,00
Paraqueratose	9	9,00
Acantose	1	1,00
Pústula Subcórnea	1	1,00
Sem Alterações	28	28,00
Total	100	100,00

TABELA 5 — Relação entre a graduação de intensidade da leitura clínica e do exame histológico da reação de Mitsuda

	F	%
Igualdade entre a leitura clínica e histológica	16	16,00
Intensidade maior da leitura clínica e menor da histológica	21	21,00
Intensidade menor da leitura clínica e maior da histológica	63	63,00
Total	100	100,00

Todavia, as alterações associadas com a reação de Mitsuda não se limitam à derme, pois se refletem também na epiderme como está na tabela 4. Por aí se vê que em apenas 28% dos casos a epiderme estava indene, já que em 52% havia alterações, predominando a espongiose (28%), encontrando-se 10 casos com ulceração.

Finalmente, na tabela 5 está analisada a relação entre a graduação da leitura clínica e o exame histológico da reação de Mitsuda, fato de grande importância para se avaliar o real resultado dessa reação no prognóstico da resistência dos indivíduos frente ao

bacilo de Hansen. Por aí se vê que houve coincidência clínica e histológica apenas numa pequena percentagem de casos (16%) como está na figura 6. Em 21% a leitura clínica prevaleceu sobre a histologia ao passo que na maioria (63%) predominou a graduação histológica.

4 DISCUSSÃO

Os resultados desta pesquisa e sua comparação com os dados da literatura implicam na discussão dos seguintes tópicos :

4.1 Histologia da reação de Mitsuda com a lepromina integral A.

De acordo com Petri²⁶, os resultados tanto clínicos como histológicos da reação de Mitsuda com a lepromina integral A, são semelhantes àqueles com a lepromina integral H. Além disso, nessa segunda pesquisa histológica confirmou-se a superposição dos resultados com os dois tipos de lepromina, inclusive com vantagens da lepromina A. Realmente, verificou-se nesta investigação a correspondência do quadro histológico da reação de Mitsuda com aquele demonstrado por outros autores com a lepromina H, principalmente por Bechelli *et al.*^{6,7}. As reações bem positivas tinham graduação variável e eram constituídas por um granuloma polar de tipo tuberculóide, ao passo que, nas fracamente positivas, a reação inflamatória era não granulomatosa, e inexistente naquela negativa. Além disso, como em nenhum dos 100 casos examinados foram encontradas partículas córneas ou células gigantes de corpo estranho, concluiu-se que esse inconveniente, tão bem assinalado por Bechelli *et al.*⁶, não parece ocorrer com a lepromina integral A. Ora, além disso demonstrar a pureza dessa lepromina, existe a vantagem de não se confundir a célula gigante de Langhans com outra de corpo estranho, na qual a substância estranha não está evidenciada num determinado corte histológico.

Essa correspondência é, no entanto, curiosa. Considerando que a lepromina integral A, sendo proveniente de bacilos de Hansen multiplicados no tatu e considerando que os tecidos receptores desse animal são imunologicamente diferentes daqueles do homem, seria de se supor que a "virulência" do bacilo deveria estar atenuada pela "passagem". Conseqüentemente, a reação tecidual deveria ser menos intensa, mesmo no caso de indivíduos altamen-

te resistentes ao bacilo como os comunicantes ou não comunicantes de hansenianos. Contudo, não foi isso que ocorreu, porque o quadro histológico se superpôs ao das reações com a lepromina integral H.

Talvez a explicação dessa coincidência esteja na baixa virulência toda particular do bacilo de Hansen e no longo período de incubação da lepra experimental no tatu, repetindo-se aqui o que ocorre com a hanseníase humana. Devido a essa baixa virulência, o bacilo deve modificar muito pouco suas propriedades biológicas, não alterando dessa forma, a reação favorável ou desfavorável do sistema reticulo-endotelial do homem frente a um agente do qual é o hospedeiro natural.

4.2 Graduação histológica da reação de Mitsuda

De acordo com a tabela 1, a reação foi positiva em 97% dos casos, o que comprova o comportamento favorável do organismo contra o bacilo de Hansen. A maior positividade (42%) foi representada pela Classe III (++), isto é, pela reação caracterizada por formação do granuloma polar tuberculóide incompleto, ou seja, só de células epitelióides. Isto demonstra que o fato mais importante como indicio de defesa do sistema macrofágico está na célula epitelióide, isto é, na capacidade de fagocitar e destruir o bacilo de Hansen, tal como ocorre na hanseníase tuberculóide.

Contudo, a reação positiva foi também representada por granulomas tuberculóides mais ou menos diferenciados, 32% da Classe II (+) e 23% para a Classe IV (+++). Por aí se vê que, nos indivíduos não comunicantes de hansenianos, predominaram as reações bem e/ou fortemente positivas, isto é, Classe III (++) com 42% e

Classe IV (+++) com 23% as quais perfazendo o total de 65%, comprovam estes resultados com os da literatura.

Como seria de esperar, a pesquisa para bacilos de Hansen, como está na tabela 2, foi negativa em 93% dos casos e positiva apenas em 7 casos. O achado de bacilos em 4 casos de reações positivas é explicado pela existência da necrose, lesão não atingida pelo granuloma tuberculóide. Isto não significa, porém, que a existência da necrose implique sempre na presença de bacilos. Realmente, no material estudado havia 43 casos com necrose (26 só com necrose e 27 associados com supuração), nos quais apenas 7 tinham raros bacilos. Isto demonstra que essa necrose, que pode ser classificada de coliquativa devido à supuração associada, ao contrário do que ocorre com a necrose de caseificação da tuberculose, não é indício da presença bacilar. Ademais, a necrose, que é uma evolução natural na tuberculose, constitui apenas uma intercorrência na reação de Mitsuda, ocasionada pela inoculação do antígeno, e comportando-se como uma alteração não específica, pois esteve ausente em 46 casos. Dessa forma, torna-se discutível o achado da necrose fibrinóide proclamada por Büngeler & Fernandez^{9,10,11} na reação de Fernandez, que aliás foi negada por Bechelli *et al.*⁶ em sua fundamental pesquisa. Ademais a necrose fibrinóide, que tem como modelo o nódulo reumatismal, persiste no seio deste granuloma, o que não se observa na necrose da reação de Mitsuda.

4.3 Alterações associadas com a inflamação granulomatosa da reação de Mitsuda propriamente dita

A inoculação do antígeno provoca, naturalmente, de imediato, uma reação

inflamatória não específica de tipo exsudativo, que pode persistir por mais de 3 semanas.

Tal como ocorre com a lepromina humana, as alterações associadas com a inflamação granulomatosa da reação de Mitsuda repetem-se com a lepromina A. Essas alterações foram mais frequentes na epiderme (72%) conforme a tabela 3 do que na derme (54%) conforme tabela 2, e representam, provavelmente, a causa principal da discordância entre a leitura clínica e o exame histológico observada na tabela 4

Esclareça-se que não foi estudada aqui a reação granulomatosa inflamatória conforme o nível de sua localização na derme, tal como foi analisado por Michalany na tese de Alchorne², e Alchorne *et al.*³. Isto, que poderia também influir na discordância entre a leitura clínica e o exame histológico da reação de Mitsuda, será motivo de estudo posterior.

4.4 Importância do exame histológico da reação de Mitsuda

Analisando-se a tabela 5 a respeito da relação entre a leitura clínica e o exame histológico da reação de Mitsuda, verifica-se que houve correspondência da graduação em apenas 16 casos de acordo com a figura 6. Nos 84 casos restantes, houve discrepância dos resultados: maior intensidade na reação clínica e menor no exame histológico em 21 casos; menor para leitura clínica e maior para a histologia em 63 casos.

Esses achados demonstram as inúmeras causas de erro na leitura clínica da reação de Mitsuda, sobretudo quando persiste a reação inflamatória exsudativo-supurativa. Torna-se, portanto, evidente que, comprovando os dados da

literatura, somente com o exame histológico é que se pode afirmar a positividade dessa importante e *saci generis* reação como é a de Mitsuda, para a classificação e prognóstico da moléstia.

4.5 Significado morfológico da reação de Mitsuda

A reação de Mitsuda quando positiva representa típica inflamação granulomatosa tuberculóide ou, segundo Michalany¹⁸ granuloma polar tuberculóide, com as variações de incompleto até completo, isto é, desde um conglomerado de células epitelióides sem arranjo folicular até o conglomerado de células epitelióides e gigantócitos de Langhans com arranjo folicular. Na qualidade de granuloma polar tuberculóide, a reação obedece a lei de Jadassohn-Lewandowsky pois, tendo a capacidade de destruir o agente, o achado de bacilos é raro. Vê-se, pois, que a reação de Mitsuda se enquadra também na definição proposta por Michalany¹⁸, isto é, hiperplasia reacional de macrófagos a agentes animados de baixa virulência, como é o caso do bacilo de Hansen.

Poder-se-ia argumentar que essa definição não caberia para bacilos mortos, como é o caso do antígeno da reação de Mitsuda. Sucede, porém, que qualquer substância estranha introduzida por via parenteral provoca, invariavelmente, reação inflamatória, a não ser no caso de substâncias absolutamente inertes. O bacilo de Hansen, apesar de morto, conserva a sua estrutura química lipídica, que é responsável não apenas por sua ácido-resistência como também pela reação do sistema macrofágico.

5 CONCLUSÕES

5.1 A estrutura histológica da reação de Mitsuda pela lepromina integral A não difere daquela observada com a lepromina integral H.

5.2 A estrutura histológica da reação de Mitsuda em indivíduos sãos não-comunicantes de hansenianos é idêntica àquela observada em hansenianos tuberculóides e em indivíduos sãos comunicantes.

5.3 A histologia da reação de Mitsuda em indivíduos sadios não comunicantes de hansenianos apresenta também variações de graduação histológica, com predomínio dos granulomas polares tuberculóides incompletos, ou seja, formados só por células epitelióides.

5.4 Como na maioria dos casos a reação foi positiva, o achado de bacilos ocorreu apenas numa minoria.

5.5 A estrutura histológica da reação positiva de Mitsuda obedece à lei de Jadassohn-Lewandowsky e à definição e classificação de granulomas polares de Michalany.

5.6 Os resultados desta pesquisa comprovam, mais uma vez, a desigualdade da graduação da reação de Mitsuda entre a leitura clínica e o exame histológico. Isto demonstra que a eficiência do resultado da reação depende fundamentalmente da histopatologia.

5.7 A discordância entre a leitura clínica e o exame histológico da reação de Mitsuda deve ser atribuída às alterações associadas com a inflamação granulomatosa propriamente dita.

ABSTRACT — A detailed study on the histopathology of Mitsuda's reaction was made in 100 adult non-contact hanseniasis patients inoculated with lepromin A (armadillo). It was found that the histological structure of Mitsuda's reaction with lepromin A does not differ from the one observed with lepromin H. There is also no difference between the histological picture observed in healthy non-contacts and the one found in tuberculoid patients and in contact healthy persons. Mitsuda's reaction in non-contact hanseniasis patients presented variations of histological degree — Classes O (—) I (±) II (+) III (+++) IV (+++) — from no inflammatory reaction and positive bacilli, until formation of a complete tuberculoid granuloma and absence of bacilli. In 97% of the cases reaction was positive. Class III, i.e., represented by incomplete tuberculoid granuloma formed by epithelioid cells with follicular arrangement and lymphocytic halo, predominated in the series (42%). The findings of this research state, once again, that an efficient result of the Mitsuda's reaction depends fundamentally of the histological examination, since in only 16 cases the clinical reading coincided with histopathology. Disaccordance found on the remaining 84 cases was attributed to the secondary alterations (necrosis and suppuration) associated to the granulomatous reaction of the positive test. These findings also state that the histological structure of the Mitsuda reaction follows the Jadassohn-Lewandowsky law and are in accordance with the morphological concept and classification of polar granulomas proposed by Michalany & Michalany.

Key words: Mitsuda's reaction. Histopathology.

REFERÊNCIAS

- 1 ALAYON, F.L. Histologia do lepromin-test nos lepromatosos. *Rev. Bras. Leprol.*, 7(n. esp.):3-17, 1939.
- 2 ALCHORNE, M.M.A. *Evolução da hanseníase em 88 enfermos submetidos à reação de Mitsuda de 23 a 35 anos. Valor prognóstico da reação.* Recife, 1974. 157p. [Tese — Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco].
- 3 ALCHORNE, M.M.A.; ROTBERG, A.; MICHALANY, J.; VARGAS, P.O.; CASSIANO, T.P. Prognostic considerations based on a study of 38 hanseniasis patients submitted to Mitsuda tests 23 to 35 years previously. *Hansen. Int.*, 3 (1) :5-11, 1978.
- 4 ANDRADE, L.M.C. Comparação entre os aspectos microscópicos e macroscópicos do teste lepromínico. *Bol. Serv. Nac. Lepra*, 21(1) :95-123, 1962.
- 5 AZULAY, R.D.; ANDRADE, L.M.C.; SILVA, C.; RABELLO NETTO, A.V.; AZULAY, J.D.; NEVES, R.G.; MIGUEZ ALONSO, A. Comparison of the macroscopic readings and microscopic findings of the lepromin reactions. *Int. J. Lepr.*, 28(1) :38-43, 1960.
- 6 BECHELLI, L.M.; SOUZA, P.R.; QUAGLIATO, R. Correlação entre os resultados da leitura clínica e do exame histopatológico da reação de Mitsuda. *Rev. Bras. Leprol.*, 25(1) :21-58, 1957.
- 7 BECHELLI, L.M.; SOUZA, P.R.; QUAGLIATO, R. Correlação entre os resultados da leitura clínica e do exame histopatológico da reação de Mitsuda. *Rev. Bras. Leprol.*, 27(4) :172-182, 1959.
- 8 BÜNGELER, W. & ALAYON, F.L. As reações alérgicas na lepra. *Hospital*, Rio de Janeiro, 21(2) :151-185, 1942.
- 9 BÜNGELER, W. & FERNANDEZ, J.M. M. Estudo clínico e histopatológico das reações alérgicas na lepra. Parte 1. Investigações clínicas e histopatológicas sobre a reação à lepromina (reação de Mitsuda). *Rev. Bras. Leprol.*, 8(2) :157-170, 1940.
- 10 BÜNGELER, W. & FERNANDEZ, J.M. M. Estudo clínico e histopatológico das reações alérgicas na lepra. Parte 2. Investigações clínicas e histopatológicas sobre a reação espontânea da lepra tuberculóide (reação leprosa tuberculóide). *Rev. Bras. Leprol.*, 8 (3) :231-241, 1940.

- 11 BÜNGELER, W. & FERNANDEZ, J.M. M. Estudo clínico e histopatológico das reações alérgicas na lepra. Parte 3. Investigações clínicas e histopatológicas sobre a reação artificialmente provocada na lepra tuberculóide, mediante injeções subcutâneas de lepromina. *Rev. Bras. Leprol.*, 9(4):335-366, 1940.
- 12 FARIA, J.L. *Estudo da reação à lepromina (Mitsuda em odes): histopatologia, significação*. Rio de Janeiro, Serviço Nacional de Lepra, 1951. 190p., 53p. de ilust.
- 13 FELDMAN, W.H.; KARLSON, A.G.; GRINDLAY, J.H. Lepromin: Mitsuda's reaction with experimental observations in dogs. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 54:53-72, 1951.
- 14 HAYASHI, F. Mitsuda's skin reaction in leprosy. *Int. J. Lepr.*, 1(1) :31-38, 1933.
- 15 HAYASHI, Y. Skin testing with leprosy bacillus suspensions. *Int. J. Lepr.*, 21(3) :370-372, 1953.
- 16 MARIANI, G. Nuove osservazioni sulle reazioni provocate sperimentalmente con materiale lebbroso nell'uomo. *G. Ital. Derm. Sif.*, 66(1) :402-426, 1925.
- 17 MARIANI, G. Osservazioni sopra una forma speciale di allergia cutanea nella lebbra: lepra tuberculoide sperimentalmente nell'uomo. *Pathologica*, 16:471-477, 1924.
- 18 MICHALANY, J. *Granulomas: 3.º curso ele férias de anatomia patológica*. São Paulo, Escola Paulista de Medicina, 1972.
- 19 MICHALANY, J. *Técnica histológica em anatomia patológica: com instruções para o cirurgião, enfermeira e citotécnico*. São Paulo, EPU, 1980. 277p. il.
- 20 MICHALANY, J. & MICHALANY, N.S. A new morphological concept and classification of granulomatous inflammation: the polar granulomas. *Ann. Pathol.*, 1983. [no prelo]
- 21 MICHALANY, N.S. *Histopatologia da reação de Mitsuda em adultos sadios não comunicantes de hansenianos*. São Paulo, 1983. 124p. [Tese (mestre em anatomia patológica) — Escola Paulista de Medicina]
- 22 MITSUDA, K. Les lépreux maculo-nerveux, d'une part, les tubéreux, d'autre part, se comportent différemment à la suite d'une inoculation d'emulsion de tubercule lépreux. In: CONFERENCE INTERNATIONALE DE LA LÉPRE, 3, Strasbourg, 1923. *Communications et débats*. Paris, 1924. p.219-220.
- 23 MITSUDA, K. On the value of a skin reaction to a suspension of leprous nodules. *Int. J. Lepr.*, 21(3) :347-358, 1953.
- 24 NAGAI, K. Histopathologische Befunde nach Anstellung der Mitsuda's chen Reaktion. *Leprosy*, 9:26, 1938.
- 25 NOLASCO, J.O. The lepromin test in lepra reaction. II. Histology of the reaction lesions and persistence of the injected bacilli. *Int. J. Lepr.*, 8 (3) :285-296, 1940.
- 26 PETRI, V. *Comparação entre as leituras clínica e histológica da reação de Mitsuda em indivíduos sadios não comunicantes de hansenianos*. São Paulo, 1982. [Tese. Escola Paulista de Medicina]
- 27 PIÑERO RODRIGUEZ, R. Reacción de Mitsuda: estudio histopatológico. *Bol. Soc. Cuba. Derm. Sif.*, 7(1) :1-16, 1950.
- 28 RABELLO JÚNIOR & ROTBERG, A. Nota preliminar sobre a alergia histológica na lepra. *Arq. Derm. Sif. São Paulo*, 1 (2) :140-141, 1937.
- 29 RIDLEY, D.S. & JOPLING, W.H. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *Int. J. Lepr.*, 34 (3) :255-273, 1966.
- 30 SCHUJMAN, S. Histopatologia de la reacción de Mitsuda: estudio progresivo y comparativo de las fracciones tisulares que provoca en las diversas formas clínicas de lepra. *Rev. Bras. Leprol.*, 4(4) :469-478, 1936.
- 31 TACHIKAWA, N. The histological figures of two cases of tuberculoidal maculae caused by skin test (Mitsuda's reaction). *Leprosy*, 10(3) :55, 1939.
- 32 THOMAS, J.; JOSEPH, M.; RAMANUJAM, K.; CHACKO, C.J.G.; JOB, C.K. The histology of the Mitsuda reaction and its significance. *Leprosy Rev.*, 51(4) :329-339, 1980.