

## TERCEIRO TEMA

### "OBSERVAÇÕES FORNECIDAS PELA EXPERIMENTAÇÃO APLICADA"

#### RELATORES:

*PROF. W. HADLER*

*PROF. R. D. AZULAY*

#### COMENTÁRIOS:

*DR. ALFREDO BLUTH*

*PROF. PAULA SOUZA*

#### RESPOSTAS DOS RELATORES:

*PROF. W. HADLER*

*PROF. R. D. AZULAM*

## "OBSERVAÇÕES FORNECIDAS PELA EXPERIMENTAÇÃO APLICADA"

Prof. W. A. HADLER\*

*Crítérios de leitura da reação da lepromina:* A leitura da reação da lepromina pode ser efetuada sob 2 critérios: 1) critério clínico, baseado no aspecto macroscópico e, especialmente, nas dimensões da lesão papulosa formada no local da inoculação; 2) critério histológico, baseado no tipo de estrutura microscópica da lesão.

O critério clínico, ou macroscópico, que é o mais empregado, fundamenta-se na observação clínica, tendo sido uniformizado em Congressos Leprológicos <sup>(66)</sup>. É considerado satisfatório para fins práticos.

O critério histológico tem sido usado em leprologia experimental, para fins de pesquisa <sup>(23,26)</sup>. Tem se mostrado mais exato que o critério clínico <sup>(26)</sup> e, por este motivo, se impõem em circunstâncias que exigem precisão de resultados.

*Fundamentos do critério histológico de leitura da reação da lepromina:* Baseiam-se na experimentação animal e na investigação clínica. A experimentação demonstra que a inoculação de *M. leprae* ou de *M. lepraemurium*, em animais de laboratório, provoca lesões de dois tipos diferentes, a julgar pelos caracteres citológicos e citofisiológicos dos elementos que as compõem <sup>(23,27)</sup>; o tipo de estrutura das lesões é independente da viabilidade e da vitalidade das micobactérias <sup>(15,27)</sup>. No rato, no camundongo e no hamster <sup>(31)</sup>, as lesões, em seu período de estado, são constituídas pela reunião de células leprosas que contém, no citoplasma, numerosos bacilos; identificam-se às lesões verificadas na forma lepromatosa da lepra humana <sup>(23)</sup>. Caracterizam-se pela presença da célula leprosa, cuja citogênese pode ser assim resumida: a introdução de bacilos, nos tecidos, estimula "células conjuntivas em repouso", que se tornam "ativadas" e se transformam, posteriormente, em macrófagos. Estes fagocitam as micobactérias, que não são lizadas e por isso permanecem no seu citoplasma; em seguida, se transformam na célula leprosa. Neste tipo de lesão o caráter mais importante é a ausência de lise dos bacilos; além disso, são pouco intensas as alterações degenerativas das células do hospedeiro.

Nos tecidos do cobaio e do coelho, ao contrário, os bacilos inoculados são fagocitados e lizados pelo macrófago <sup>(23,27)</sup>. Este elemento, de modo idêntico, se origina a partir da "célula conjuntiva em repouso", através da fase de "célula conjuntiva ativada", porém, após a destruição das micobactérias o macrófago se transforma na célula epitelióide, isenta de bacilos em seu citoplasma. A lesão, nestas circunstâncias, é abacilar ou paucibacilar e apresenta estrutura tuberculóide, idêntica à das lesões da forma tuberculóide da lepra humana. As lesões deste tipo caracterizam-se pela lise das micobactérias efetuada pelos macrófagos; estes últimos, ao mesmo tempo, apresentam intensas alterações de caráter degenerativo.

Para caracterização destes dois tipos de lesão tem mais valor a avaliação da atividade funcional do macrófago, que o aspecto morfológico das células que constituem as lesões <sup>(23,27)</sup>, porquanto, há semelhanças morfológicas entre a

---

\* (Depart. Histologia e Embriologia, Fac. Medicina de Ribeirão Preto, S.P.)

célula leprosa do rato e a célula epitelióide do cobaio. Esta semelhança ocorre, também, em relação a alguns tipos de células de lesões de lepra humana.

Os dois tipos de lesões assinalados, que correspondem a dois tipos diversos de estrutura histológica, são observados tanto em animais inoculados com *M. leprae* por via intraperitoneal, como por via intradérmica (reação da lepromina).

No homem, o estudo histológico do local injetado com lepromina, efetuado no 20.º-30.º dia que sucede à inoculação, revelou, também, tipos diversos de estrutura histológica. Em casos cuja leitura clínica indicava reação negativa à lepromina a lesão histológica apresentava-se discreta e constituída por células leprosas isoladas, <sup>(42,35,23,36,5)</sup>, ou numerosas <sup>(59)</sup>, contendo bacilos no citoplasma. Êste tipo de lesão caracterizaria, também, a reação negativa a lepromina na espécie humana.

Ao lado de lesões contendo células leprosas (com numerosos bacilos) têm sido descritas, porém, no local correspondente à reação clinicamente negativa à lepromina, estruturas "inespecíficas", destituídas de bacilos <sup>(53,1,6)</sup>, ou contendo número variável de micobactérias <sup>(43,5)</sup>, as quais por vêzes são numerosas <sup>(43)</sup>. Excetuando as lesões abacilares, as restantes não devem ser consideradas "inespecíficas", uma vez que contém micobactérias. Estas lesões não possuem elementos com os caracteres da célula leprosa; no entanto, revelam que o macrófago não determina a lise dos bacilos fagocitados. Todavia, baseado no conceito exposto anteriormente, estas lesões não definem a reação histologicamente negativa à lepromina. Seu significado ainda permanece obscuro, uma vez que os elementos que tomam parte na reação inflamatória evoluem até o macrófago, sem dar origem à célula leprosa.

O encontro de estruturas "inespecíficas", isentas de bacilos, é passível de duas interpretações: a) representaria realmente a lesão; b) ocorreria por não ter sido atingida, pelo corte histológico, a região central da lesão. Há argumentos que sugerem ser a segunda interpretação a mais provável. O *M. leprae* quando inoculado, por via intradérmica, em animais que reagem negativamente à lepromina, é rapidamente fagocitado e permanece longo tempo no interior do macrófago (mais de 90 dias), antes de ser destruído; por sua vez, o macrófago, ou a célula leprosa que dêle deriva, permanece no local até a cura total da lesão <sup>(23,30,27)</sup>. Êste fato ocorre, também, em relação ao homem, sendo responsável pela presença de células contendo bacilos, verificadas em lesões retiradas de casos clinicamente lepromino negativos. Por êste motivo, é difícil supor que, por outro processo, diferente da lise a cargo do macrófago, os bacilos possam ser eliminados dos tecidos; na eventualidade de haver lise dos bacilos haveria formação da célula epitelióide. Além disso, em ausência de lesão macroscópica evidente, que serviria para indicar a área inoculada, é difícil a localização exata do ponto de inoculação. Assim sendo, parece mais apropriado considerar a presença de estruturas "inespecíficas", isentas de bacilos, como representando áreas que envolvem a verdadeira lesão, a qual, por sua vez, tem geralmente pequenas dimensões. Nas proximidades de lesões lepromino negativas de animais há área cuja estrutura histológica é "inespecífica" e isenta de bacilos; êste fato, porém, não ocorre na região central da lesão <sup>(23)</sup>. Nestas circunstâncias, é aconselhável efetuar-se corte seriado de tôda área lesada, com a finalidade de diminuir esta causa de êrro.

No momento atual é, portanto, preferível considerar a reação histologicamente negativa à lepromina, inclusive no homem, como constituída por lesão cujos macrófagos não lizam o *M. leprae* e se transformam na célula leprosa. Esta seria a reação tipicamente negativa, cujo significado é facilmente interpretado. Êste conceito é suportado pela experimentação animal, e, em parte, pela experimentação clínica. De acôrdo com êle não há relação íntima entre a extensão, ou a intensidade, da lesão e a leitura histológica da reação da lepromina.

O estudo histológico da lesão papulosa, correspondente à reação clinicamente positiva à lepromina, revelou, tanto no homem (<sup>39,40,33,53,50,42,61,7,8,48,5</sup>) como em animais (<sup>62,63,16,17,35,26</sup>), a presença de estruturas constituídas por células epitelióides, isentas de bacilos, ou paucibacilares. Nestas circunstâncias, é maior a concordância entre os resultados da experimentação clínica e animal, talvez por ser mais fácil a localização da lesão que se forma no local injetado. Há apenas raros dados discordantes, que constam da ausência de estruturas tuberculóides em reações clinicamente positivas (<sup>53,5</sup>). É, portanto, permitido relacionar a positividade da reação de lepromina, inclusive no homem, com a lise dos bacilos efetuada pelo macrófago, a qual é responsável pelo aparecimento das células epitelióides.

*Relação entre a estrutura da lesão verificada no local injetado com lepromina e a das lesões que ocorrem nos órgãos internos:* A experimentação animal permite verificar que há sempre identidade de estrutura histológica, quando se compara a lesão provocada pela lepromina, com lesões produzidas pelo *M. leprae* em órgãos internos (<sup>27</sup>); êste mesmo fato ocorre em relação ao *M. lepraemurium* (<sup>23,24,30</sup>). Com esta base concluiu-se que a reação da lepromina revela, experimentalmente, o tipo geral de estrutura histológica que o organismo exhibe quando *M. leprae* atinge os tecidos, natural ou experimentalmente (<sup>23</sup>). Verifica-se a referida identidade tanto em animais cujas lesões são de tipo lepromatoso (rato), como nos que apresentam lesões de estrutura tuberculóide (cobaio, coelho). Por analogia, é permitido supor que na espécie humana ocorra fato idêntico. Nestas circunstâncias, é provável que no homem possam ser encontrados, em lesões provocadas pela inoculação da lepromina, estruturas do tipo "transicional" ou "dimorfo". Esta suposição, se bem que não tenha sido averiguada convenientemente, é apoiada em verificações isoladas (<sup>49,5</sup>), nas quais assinalou-se, no local injetado com lepromina, lesão do tipo "dimorfo".

*Relação entre os resultados da reação da lepromina baseados na leitura clínica e histológica:* A lepromina usualmente empregada contém menos de 1 mg. de *M. leprae* por ml. (<sup>26</sup>). Nestas condições, sendo pequena a dose de bacilos injetados (menos de 0,1 mg), é muito mais freqüente o aparecimento de nódulo macroscópico nos casos em que a lesão histológica possui estrutura tuberculóide, em relação aos indivíduos cuja lesão é constituída por células leprosas. Isso porque as lesões em que ocorre lise dos bacilos são mais intensas e extensas. Há, então, certa concordância entre os resultados obtidos pelos dois critérios de leitura, sendo possível a utilização prática do critério clínico.

A referida concordância, no entanto, não ocorre em várias eventualidades, tanto no homem como em animais de laboratório (<sup>26</sup>). Em animais demonstrou-se que o critério clínico de leitura é falho, havendo circunstâncias em que a discordância em relação à leitura histológica é total (<sup>23,26</sup>). A reação macroscópica é influenciada pelo desenvolvimento de hipersensibilidade, o que não ocorre com a estrutura histológica, do que advém erros de interpretação quando se efetua apenas a leitura clínica (<sup>26</sup>).

No homem, apesar de não haver estudo sistematizado neste sentido, tem sido assinaladas discordâncias entre a leitura clínica e a histológica (<sup>53,49,5</sup>). A referida discordância verificou-se tanto em casos cuja leitura clínica positiva não era confirmada pelo critério histológico (<sup>53,49,5</sup>), como casos nos quais a reação macroscópica era negativa, ou duvidosa e a estrutura histológica não correspondia (<sup>5</sup>). As discordâncias citadas não são desprezíveis, pois, podem atingir níveis até de 35% (<sup>5</sup>).

Por analogia com o que ocorre com animais, é possível supor que em ausência de hipersensibilidade seja freqüente o encontro de reações macroscòpicamente negativas e histologicamente positivas (<sup>26</sup>).

Baseado nos fatos apontados, não é permitido empregar-se o critério clínico de leitura em trabalhos de pesquisa; todo resultado baseado nesse critério está sujeito a grandes causas de êrro.

*Comparação entre a reação da lepromina e a efetuada com a inoculação intradérmica de M. tuberculosis:* A injeção intradérmica de suspensões de BCG, em cobaios previamente sensibilizados por essa micobactéria, produz reação local intensa, com formação de nódulo que evolui em ritmo acelerado, comparando-se com animais não sensibilizados. A sensibilização prévia aumenta a intensidade e o ritmo evolutivo da lesão. Estes fatos têm grande significado em fisiologia experimental e nêles se baseia a interpretação dos resultados.

Todavia, tanto nos animais não sensibilizados, como nos que apresentam hipersensibilidade experimentalmente induzida, as lesões que se formam no local injetado com a suspensão de BCG apresentam sempre estrutura tuberculoide, sendo constituídas, predominantemente, por células epitelióides, isentas de bacilos. Fatos idênticos são verificados quando, nas mesmas condições, substitui-se a suspensão de BCG por lepromina<sup>(24,25)</sup>.

Inoculando-se experimentalmente, no homem, suspensão de BCG, por via intradérmica, as lesões suscitadas no local injetado também apresentam sempre um único tipo de estrutura histológica: a estrutura tuberculoide. Seu aparecimento é independente da presença ou ausência de hipersensibilidade e revela que há sempre lise dos bacilos inoculados, a qual ocorre no interior do macrófago. Nestas circunstâncias, os caracteres e o ritmo evolutivo da lesão determinam o significado da reação; a estrutura da lesão não tem valor na interpretação dos resultados.

No que concerne à reação da lepromina os fatos assinalados, se bem que tenham o mesmo significado patológico geral, são destituídos de importância na interpretação dos resultados. Êstes, no caso da reação de lepromina, baseiam-se na capacidade funcional do macrófago, da qual depende a lise do *M. leprae*; baseiam-se então no tipo de estrutura histológica das lesões. A intensidade e o ritmo evolutivo da lesão tem significação secundária. Por este motivo, os resultados da reação da lepromina, mesmo quando baseados na leitura clínica, em certas circunstâncias discordam dos fornecidos pela inoculação intradérmica de BCG<sup>(11,12,19,20,21)</sup>. Esta discordância melhor se verifica estudando-se a estrutura histológica da lesão<sup>(65)</sup>.

Baseado nestes elementos, é fácil verificar que a reação da lepromina é de natureza diferente da reação provocada pela injeção intradérmica de BCG. Depreende-se que não é permitido estabelecer comparação entre êstes dois tipos de reação. Não só sua natureza como o significado dos resultados são diversos.

As diferenças apresentadas pelas estruturas histológicas, que caracterizam as reações positiva e negativa à lepromina, são qualitativas<sup>(23)</sup>. Refletem a presença ou ausência de lise dos bacilos. Nas lesões tuberculosas, naturais ou experimentais, há variações de estrutura histológica das lesões, relacionadas com a virulência e a dose de bacilos, com o grau de resistência e de hipersensibilidade do hospedeiro. As variações referidas são, porém apenas quantitativas, representando oscilações de um único tipo de lesão fundamental: a lesão tuberculoide<sup>(55,56,47,60,44,57,52)</sup>. Inclusive na tuberculose tipo Yersin<sup>(64)</sup> as diferenças são quantitativas<sup>(51)</sup>. Apenas revelam inibição ou ativação parcial da atividade funcional do macrófago, o qual em tôdas as eventualidades, tem aptidão de lizar o *M. tuberculosis*.

*Significado fisiopatológico das lesões histológicas que definem as reações positivas e negativas à lepromina:* Será analisado o significado fisiopatológico e não o significado prático.

A experimentação e a patologia comparada revelam que a capacidade do macrófago, em lizar o *M. leprae*, não possui relação com a resistência natural ou a adquirida ou com a hipersensibilidade<sup>(23,26)</sup>. Constitui caráter de espécie, em animais de laboratório, estando sempre presente (cobaio, coelho), ou sempre ausente (rato). Depreende-se que a lise do *M. leprae* pelo macrófago, revelada através da estrutura microscópica da lesão, depende da espécie animal e não é essencial para que se manifeste a resistência natural à lepra<sup>(23)</sup>.

Na espécie humana, porém, são observadas lesões de dois tipos; em um deles ocorre lise bacilar (lesão tipo tuberculóide), ao contrário do outro (lesão lepromatosa). Por analogia, pode-se supor que inclusive nesta espécie o tipo de lesão não apresenta relação direta com a resistência natural ou com a adquirida, ou com a hipersensibilidade.

Os dois tipos de lesão histológica, tanto no homem como em animais, parecem refletir particularidades reacionais dos tecidos, as quais, apenas indiretamente podem ter influência no complexo mecanismo da resistência. A presença de ambos os tipos de estrutura, no homem, revela que eles não estão obrigatoriamente relacionados ao fator espécie animal; todavia, os fatores que condicionam a presença de cada um dos tipos de estrutura são desconhecidos, tanto no homem como em animais.

No caso especial da lepra humana, devido provavelmente à particularidades biológicas do *M. leprae*, a lise dos bacilos pelos macrófagos desempenha papel de relêvo no mecanismo da resistência<sup>(23)</sup>. Por êste motivo, a reação da lepromina tem significado prático, especialmente quanto ao prognóstico.

*Conceito de "viragem" da reação da lepromina:* A definição de "viragem" da reação da lepromina, com base no que foi discutido previamente, deve basear-se na modificação do tipo de estrutura histológica da lesão. Nestas circunstâncias, a "viragem" equivale a modificação qualitativa da reação histológica e os resultados devem basear-se, principalmente, ou exclusivamente, no aspecto microscópico e na baciloscopia da lesão. Consiste na transformação de estruturas que caracterizam a reação negativa, em positiva, ou vice-versa.

*Ação do BCG sobre a reação da lepromina:* 1) *Trabalhos clínicos experimentais:* Todos os trabalhos clínicos-experimentais sobre o assunto baseiam-se exclusivamente na leitura clínica da reação da lepromina; apenas raras vezes estudou-se a estrutura histológica da lesão, mas somente após a vacinação pelo BCG. Depreende-se, de acordo com o que foi exposto anteriormente, que os referidos trabalhos não se apoiam em base experimental.

Ultimamente tem surgido trabalhos nos quais tem sido efetuada a leitura histológica da reação em grupo vacinado pelo BCG, o qual é comparado a grupo controle<sup>(54,49)</sup>. Os estudos baseados neste método, revelam proporção relativamente pequena de "viragens" da reação da lepromina, especialmente em doentes da forma indeterminada<sup>(49)</sup>; revelam também que na forma lepromatosa a "viragem" é transitória e não tem interesse prático<sup>(54)</sup>. Como, no entanto, a histologia da lesão provocada pela lepromina, no homem, apresenta variações e constitui assunto ainda mal investigado, seria mais conveniente, por estar menos sujeito a causas de erro, estudar a estrutura histológica da lesão em um mesmo indivíduo, antes e após a vacinação.

No estado atual da questão não é permitido concluir, em fase de experimentação clínica, que o BCG promove "viragem" da reação da lepromina. Também não é permitido concluir o contrário. O campo está inteiramente aberto à investigação.

2) *Trabalhos experimentais em animais:* A maioria dos trabalhos efetuados em animais de laboratório foi também baseada na leitura clínica da reação de lepromina<sup>(9,10,45,14,46)</sup> e, por êste motivo, não tem base experimental.

Estudos fundamentados na leitura histológica da reação<sup>(23,26,30)</sup> revelaram: a) A inoculação prévia do BCG, em animais que normalmente reagem positivamente à lepromina (cobaio), modifica a reação dos tecidos ao *M. leprae*; esta modificação manifesta-se por aumento da lesão macro e microscópica e, por maior interação bacilos-células do hospedeiro. Este fato é revelado pela intensificação das alterações degenerativas das células do hospedeiro e pela lise mais rápida dos bacilos, com formação acelerada da lesão tuberculóide<sup>(26)</sup>. Estas modificações da reatividade dos tecidos, que ocorre em concomitância com o aparecimento de hipersensibilidade tuberculínica, indicam sensibilização à lepromina, induzida pela vacinação com o BCG. As alterações histológicas da lesão provocada pela lepromina, que decorrem da modificação da reatividade dos

tecidos, são apenas quantitativas e, por êste motivo, não significam "viragem" da reação da lepromina. O tipo de estrutura histológica da reação não sofre alteração. A reação macroscópica apresenta maiores dimensões após a vacinação, o que tem sido imprópriamente interpretado como indicativo de "viragem".

b) A inoculação prévia de BCG a animais que normalmente reagem negativamente à lepromina (rato), também produz modificação da reatividade dos tecidos, em face da injeção intradérmica de suspensão de *M. leprae* (<sup>30</sup>). Há também, nestas circunstâncias, aumento das dimensões da lesão macro e microscópica e, maior intensidade das alterações tóxico-degenerativas das células que tomam parte da constituição da lesão. A estrutura histológica da lesão, porém, não sofre alteração qualitativa, porquanto, mesmo após a vacinação pelo BCG continua a ser constituída por células leprosas, contendo numerosos bacilos. Êste fato revela que o macrófago, nestas condições, não adquire a propriedade de lizar o *M. leprae*, apesar de ter sido induzida hipersensibilidade, a julgar pela intensidade dos fenômenos necróticos verificados tardiamente. Depreende-se que inclusive nos animais que normalmente apresentam reação negativa à lepromina, não se verifica "viragem" da reação, motivada pela vacinação pelo BCG.

*Ação da vacinação pelo BCG sôbre a evolução da lepra murina:* A êste respeito os resultados são discordantes, havendo AA. que assinalam que a vacinação prévia não altera a evolução da moléstia (<sup>41,29</sup>), ao contrário de outros que verificam que a inoculação do BCG inibe parcialmente a evolução das lesões (<sup>2,3,34,32</sup>). Apesar da discordância um fato está bem estabelecido: a vacinação pelo BCG não altera a estrutura das lesões (<sup>29,3</sup>) e os bacilos não são lizados pelos macrófagos (<sup>29</sup>). Êste fato indica que a vacinação pelo BCG não modifica o tipo de reação dos tecidos e, na eventualidade de haver inibição da evolução da moléstia, esta deve estar na dependência de outros fatores.

A lepra murina corresponde à forma lepromatosa da lepra humana e por êste motivo, os resultados obtidos na primeira podem ser comparados aos verificados no homem. A administração de BCG a lepromatosos não altera a evolução das lesões (<sup>22,58,37,38</sup>), mesmo que induzam positividade da reação da lepromina, baseada na leitura clínica, em certa percentagem de casos (<sup>13,4</sup>).

Os trabalhos efetuados sôbre êste assunto não permitem, até o momento atual, estabelecer conclusão definitiva.

*Relação entre os trabalhos experimentais em animais e a patologia da lepra humana:* Nos animais de laboratório estudados o tipo de estrutura da lesão é único para uma dada espécie, não havendo variações individuais. Isto se verifica tanto na eventualidade das lesões serem do tipo tuberculóide (cobaio, coelho) ou do tipo lepromatoso (rato, lesões tardias do hamster). Apenas no hamster verificou-se que a estrutura das lesões iniciais tem caracteres que permitem diferenciar das lesões tardias (31).

Na espécie humana, ao contrário, a presença de lesões dos dois tipos estruturais sugere ser menor a estabilidade da reação dos tecidos, suscitada pelo *M. leprae*. Esta suposição é confirmada pela presença de lesões cuja estrutura apresenta caracteres "ambíguos", as quais recebem várias denominações (lesões dimorfas, transacionais, "borderline", etc.). Assim sendo, na espécie humana o tipo de estrutura não parece ter caráter tão estável, como nos animais de laboratório, o que sugere maior possibilidade de modificação estrutural induzida experimentalmente, em relação aos animais.

Baseado nestes elementos, é permitido supor que os resultados obtidos em experimentação animal não se aplicam diretamente à espécie humana. É provável que os indivíduos cuja estrutura das lesões naturais ou provocadas pela lepromina, seja tipicamente lepromatosa, ou nitidamente tuberculóide, se comportem de forma idêntica aos animais. Porém, os casos cujas lesões possuem estruturas menos típicas poderão se comportar de forma diferente. Estas hipóteses, porém, necessitam confirmação experimental.

*Tentativas de modificação experimental do tipo de estrutura das lesões, em animais:* Tendo sido verificado que a vacinação pelo BCG não modifica o

tipo da estrutura das lesões, em animais, foram experimentados outros processos, com a mesma finalidade.

A lise do *M. leprae*, efetuada pelo macrófago, parece ter relação com a intensidade da lesão e com o grau das alterações celulares de caráter degenerativo; por isso seria verificada no cobaio e não no rato. De acordo com esta hipótese a lise dependeria da intensidade do estímulo exercido pelos bacilos inoculados, principalmente sobre o macrófago.

Para comprovar esta hipótese foram efetuados dois tipos de experimentação: 1) — Inoculação de micobactérias, no rato, em concomitância com substâncias capazes de intensificar a reação inflamatória, atuando especialmente sobre o macrófago. Foram empregadas, com esta finalidade, suspensões de partículas coloidais eletronegativas e desoxicorticosterona; 2) — Tratamento de cobaios, inoculados com micobactérias, por substâncias que deprimem o metabolismo celular, ou particularmente, a reação inflamatória. Usou-se mistura de clorpromazina-fenergan ou hidro-cortisona.

As partículas coloidais (suspensão de azul da Prússia), se bem que atuem como irritante fraco para os tecidos, são atocitadas pelos mesmos elementos que fagocitam os bacilos. A somação dos estímulos devido às micobactérias e decorrentes das partículas eletronegativas, determina modificações da estrutura das lesões do rato (<sup>27</sup>). Estas se verificam em áreas limitadas das lesões, nas quais os macrófagos apresentam evidências de lise do *M. leprae*, ao mesmo tempo que adquirem a propriedade de metabolizar as partículas coloidais. Devido a ocorrência da modificação do tipo de estrutura se verificar em áreas limitadas das lesões, estes resultados têm significação também limitada; demonstram, no entanto, que estímulos "inespecíficos", atuando sobre o macrófago, são dotados de maior influência sobre a capacidade Titica em relação ao *M. leprae* que a vacinação pelo BCG.

A injeção de desoxicorticosterona, em concomitância com a suspensão de *M. leprae* determina, no rato, grande intensificação da reação inflamatória, a qual é acompanhada de lise das micobactérias pelo macrófago (<sup>27</sup>). A lesão passa a ser constituída por células com os caracteres da célula epitelióide, isenta de bacilos. Neste caso a modificação do tipo de estrutura atinge a totalidade da lesão.

Cobaios inoculados com suspensão de *M. leprae* ou de *M. lepraemurium*, por via intradérmica e, tratados com clorpromazina-fenergan, apresentam lesões muito menos intensas, em relação aos animais controle, nas quais se verificam profundas alterações do tipo de estrutura (<sup>28</sup>). Estas alterações ocorrem por perder o macrófago a capacidade de lizar as micobactérias fagocitadas, do que advém a formação de células com todos os caracteres da célula leprosa. A modificação da estrutura da lesão atinge a sua totalidade.

Modificações idênticas da estrutura das lesões, em cobaios, são obtidas quando se injeta hidro-cortisona, em concomitância com a suspensão de *M. leprae* (<sup>27</sup>). Estes resultados confirmam os obtidos no homem (<sup>18</sup>), no qual verificou-se que a hidro-cortisona inibe a formação de lesões com estrutura tuberculoide, no local injetado com lepromina.

Os resultados apresentados revelam que, em animais de laboratório, é possível modificar o tipo de estrutura das lesões suscitadas pelo *M. leprae*, quando se empregam substâncias que ativam ou inibem a reação inflamatória. As substâncias referidas parecem atuar sobre o macrófago, cuja atividade funcional é responsável pela lise das micobactérias.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALAYON, F. L. — Rev. Brasil. Leprol. 7 (n:esp.) 3, 1939.
2. AZULAY, R. D. — Rev. Brasil. Leprol. 21: 285, 1953.
3. AZULAY, R. D. — Intern. J. Leprosy 22: 61, 1954.



4. AZULAY, R. D., MOURA, A. & MOURÃO, G. — Rev. Brasil. Leprol. 20: 178, 1952.
5. BECHELLI, L. M., RATH de SOUZA, P. & QUAGLIATO, R. — Rev. Brasil. Leprol. 25: 21, 1957.
6. BÜNGELER, W. & ALAYON, F. L. — Hospital 21: 151, 1942.
7. BÜNGELER, W. & FERNANDEZ, J. M. M. — Arch. path. Anat. 305: 236; 473; 593, 1939.
8. BÜNGELER, W. & FERNANDEZ, J. M. M. — Rev. Brasil. Leprol., 8: 157; 231; 355, 1940.
9. CHAUSSINAND, R. — Ann. I Cong. Intern. BCG, Paris, 1948, pag. 66.
10. CHAUSSINAND, R. — Intern., J. Leprosy, 16: 431, 1948.
11. CHAUSSINAND, R. — Acta Trópica 5: 160, 1948.
12. CHAUSSINAND, R. — Bull. Acad. Med., 132: 486, 1948.
13. CONVIT, J., RASSI E., RODRIGUEZ, F. C. & CONTRERAS, R. — Intern. J. Leprosy 20: 347, 1952.
14. CONVIT, J., LAPENTA, P. & JORGENSEN, J. — Intern. J. Leprosy 23: 162, 1955.
15. ELEK, S. D. & HILSON, G. R. S. — J. Path. & Bact. 72: 427, 1956.
16. FELDMAN, W. H., KARISON, A. G. & GRINDLAY, J. H. — Mem. V Cong. Intern. Lepra. Habana, 1949, pag. 621.
17. FELDMAN, W. H., KARISON, A. G. & GRINDLAY, J. H. — Ann. N. York Acad. Sci., 54: 53, 1951.
18. FERNANDEZ, J. M. M., APPEL, B. & DOUGHERTY, E. — Intern. J. Leprosy 22: 129, 1954.
19. FLOCH, H. — Arch. Inst. Pasteur Guyane Franc., n. 249, 1951.
20. FLOCH, H. — Ann. Inst. Pasteur 82: 517, 1952.
21. FLOCH, H. — Arch. Inst. Pasteur Guyane Franc., n. 262, 1952.
22. FLOCH, H. & LAJUDIE, P. — Arch. Inst. Pasteur Guyane Franc., n.º 44, 1942.
23. HADLER, W. A. — Rev. Brasil. Leprol. 21: 165, 1953.
24. HADLER, W. A. — Rev. Brasil. Leprol. 21: 315, 1953.
25. HADLER, W. A. — Rev. Brasil. Leprol. 22: 109, 1954.
26. HADLER, W. A. — Bol. Serv. Nac. Lepra 15: 5, 1956.
27. HADLER, W. A. — em publicação.
28. HADLER, W. A. & FERREIRA, A. — em publicação.
29. HADLER, W. A. & ZITI, L. M. — Rev. Brasil. Leprol. 22: 124, 1954.
30. HADLER, W. A. & ZITI, L. M. — Rev. Brasil. Leprol. 23: 53, 1955.
31. HADLER, W. A. & ZITI, L. M. — Intern. J. Leprosy 24: 297, 1956.
32. HANKS, J. H. & FERNANDEZ, J. M. M. — Intern. J. Leprosy 24: 65, 1956.
33. HAYASHI, F. — Intern. J. Leprosy 1: 31, 1933.
34. KAWAGUCHI, Y. — La Lepra, 24: 64, 1955.
35. LOPES DE FARIA, J. — Monog. Serv. Nac. Lepra, Rio de Janeiro, 1951.
36. LOPES DE FARIA, J. — Monog. Serv. Nac. Lepra, Rio de Janeiro, 1953.
37. LOWE, J. & McNULTY, F. — Leprosy Rev., 24: 61, 1953.
38. LOWE, J. & McNULTY, F. — Intern. J. Leprosy 21: 173, 1953.
39. MARIANI, G. — Patologica. 16: 471, 1924.
40. MARIANI, G. — Gloria Ital. Dermat. Sif. 66: 402, 1925.
41. MUIR, E. & HENDERSON, J. M. — Indian J. Med. Research 15: 807, 1928.
42. NAGAI, K. — La Lepra 9: (suppl.) : 26, 1938.
43. NOLASCO, J. O. — Intern. J. Leprosy 8: 285, 1940.
44. OATWAY, W. H. Jr. & STEENKEN, W. Jr. — J. Infect. Dis. 59: 306, 1936.
45. OLMOS, CASTRO, N. — Intern. J. Leprosy 20: 221, 1952.
46. PEREIRA FILHO, M. J. & NERY-GUIMARAES, F. — Mem. Inst. Oswaldo Cruz 53: 609, 1955.
47. PETROFF, S. A. & STEENKEN, W. Jr. — J. exp. Med. 51: 831, 1930.
48. PIÑEYRO RODRIGUEZ, R. — Bol. Soc. Cubana Dermat. Sif. 7: 18, 1950.
49. RABELO NETO, A. V., AZULAY, R. D., SILVA, C. & ANDRADE, L. M. C. — Cong. Intern. Alergia Rio de Janeiro 1956, pag. 97.
50. RABELO, F. E. A. & ROTBERG, A. — Arq. Dermat. Sir., S. Paulo, 1: 140, 1937.
51. RICH, A. R. — The pathogenesis of Tuberculosis, Springfield 1951, Ch. Thomas.
52. SABIN, F. R. — The pathology of Tuberculosis. Symposium series 1: 34, 1938.
53. SCHUJMAN, S. — Rev. Brasil. Leprol. 4: 469, 1936.
54. SCHUJMAN, S. — Semana Med. 106: 307, 1953.
55. SEIBERT, C. — Dtsch. Med. Wochensh. 40: 535, 1914.
56. SMITH, T. — J. A. M. A. 68: 689, 1917.
57. SMITHBURN, K. C. — An. Rev. Tuberc. 36: 659, 1937.
58. SOUZA LIMA, L., SOUZA CAMPOS, N., ROSEMBERG, J. & AUN, J. N. — Rev. Brasil. Leprol. 21: 59, 1953.
59. SOUZA LIMA, M. — Rev. Brasil. Leprol. 10: 305, 1942.
60. STEENKEN, W. Jr., OATWAY, W. H. J. & PETROFF, S. A. — exp. Med. 60: 515, 1939.
61. TACHIKAWA, N. — La lepra 10: 55, 1939.
62. WADE, W. H. — Intern. J. Leprosy 9: 39, 1941.
63. WADE, W. H. — Mem. V Cong. Intern. Lepra, Habana, 1949, pag. 617.
64. YERSIN, A. — Etude sur le développement du tubercle experimental. These, Paris, 18B8.
65. YOKOTA, T. — La Lepra 22: 232, 1953.
66. Relação da comissão de classificação da II Confer. Pan Amer. Lepra, Rio de Janeiro, 1946. Arq. Serv. Nac. Lepra, 3: 185, 1947.

## OBSERVAÇÕES FORNECIDAS PELA EXPERIMENTAÇÃO APLICADA

PROF. R. D. AZULAY\*

Louvando a iniciativa da A. B. L. em promover um Simpósio sobre assunto de tão relevante importância como seja "FUNDAMENTOS PARA A UTILIZAÇÃO DO B. C. G. NA PROFILAXIA DA LEPROSA" desejo inicialmente agradecer a honra que me coube de ser um dos relatores sobre o item D — "OBSERVAÇÕES FORNECIDAS PELA EXPERIMENTAÇÃO APLICADA".

Para maior clareza dividiremos este relatório em 4 partes:

### I — INTRODUÇÃO

Quando nos iniciamos em leprologia, em 1942, aprendemos que 70% a 80% da população sadia, entre nós, apresentava positividade lepromínica; a interpretação que então se dava era a de que essa positividade seria decorrente de uma inoculação prévia com o *M. leprae*, visto tratar-se de área de endemia leprótica.

Em 1944, nos Estados Unidos, Convit, Bechelli e nós, comentávamos o trabalho de Fernandez <sup>(1)</sup> realizado em 1939; surgiu então, a idéia de repetirmos o mesmo, visto estarmos em condições ideais para tal tipo de trabalho; tínhamos experiência leproológica e trabalhávamos em área indene de lepra. Nosso primeiro trabalho <sup>(2)</sup> foi feito em Cleveland; mostramos então que 75 adultos, de ambos os sexos, sem nenhum contato com lepra, 74% apresentavam positividade lepromínica. Era evidente então, que o teste lepromínico poderia ser influenciado por outros fatores que não o *M. leprae*. Pensamos, então, seguindo a mesma linha de Fernandez <sup>(1)</sup> que o fator *M. tuberculosis* poderia ser responsabilizado por essa positividade. Então realizamos uma série de experiências <sup>(3)</sup> cujos resultados foram os seguintes:

a) — Em 9 casos de tuberculose da pele, testados com lepromina, houve 100% de positividade lepromínica quanto à reação precoce (48h) e 87% de positividade quanto à reação *tardia*;

b) — Em 7 casos de sarcóide de Boeck, testados com lepromina, deram 100% de negatividade de reação precoce e 86% de negatividade de reação *tardia*; chamamos a atenção para o fato seguinte — O único caso que apresentava positividade lepromínica *tardia* era também o único tuberculino-positiva.

c) — 42 crianças, de 0 a 5 anos de idade, residentes em Nova York, internados no Seaview Hospital com complexo primário tuberculoso, apresentaram 45% de positividade lepromínica, índice êsse mais alto do que o habitualmente encontrado nesse grupo de idade, mesmo nas áreas altamente endêmicas de lepra.

---

\* Catedrático de Clínica Dermatológica e Sifilográfica na Faculdade Fluminense de Medicina. Encarregado da T. A. P. do I. L.

Ao regressarmos ao Brasil resolvemos completar nossas experiências sôbre a influência do *M. tuberculosis* sôbre o teste lepromínico.

No Preventório Santa Maria, Rio de Janeiro, selecionamos 23 crianças tuberculino e lepromino — negativas; 15 receberam 100 mg. de BCG por via oral e 8 serviram de contrôlo. Retestados, verificamos que:

- 80% se tornaram tuberculina-positivas.
- 66% apresentaram positividade da reação lepromínica precoce.
- 80% apresentaram positividade da reação lepromínica tardia.

Nesse trabalho <sup>(4)</sup> apresentado ao VI Congresso Internacional de Lepra (Havana-1948) propuzemos a inclusão do BCG na profilaxia da lepra, proposição essa que não encontrou ressonância no referido Congresso.

Com base em nossa experiência pessoal, estávamos convencidos da existência da co-sensibilização. Não obstante, exigimos de nós um maior rigor científico, o que nos levou a experimentar em animais.

## II — NOSSAS EXPERIÊNCIAS EM ANIMAIS

Em 1946 iniciamos os nossos trabalhos experimentais em um pequeno Laboratório do S. N. L. Essas primeiras experiências não puderam ser levadas a efeito em tôda a sua plenitude pelas condições inadequadas de trabalho de então. Não obstante êsses primeiros resultados, não publicados por serem numericamente inexpressivos, reforçaram em nós a idéia de que o *M. tuberculosis* virulento ou atenuado seria capaz de induzir à positividade lepromínica.

Mais tarde, em 1952, no Instituto de Leprologia, em ambiente portanto de melhores condições técnicas, reiniciamos os trabalhos interrompidos.

Inoculamos por via hipodérmica 17 cobaios com 10 mg de BCG na pata posterior direita, 4 meses após, testamos os mesmos com lepromina e BCG a 1%o preparado AD MODUM Dharmendra para a lepromina bacilar; 10 cobaios serviram de testemunhas; obtivemos, então, os seguintes resultados:

- a) — 53,5% reagiram positivamente à lepromina (leitura tardia)
- b) — 58,8% reagiram positivamente ao antígeno BCG a 1%o (leitura tardia)
- c) — a concordância das respostas foi de 70,5% (41,1% de positividade e 29,5% de negatividade)
- d) — a discordância de respostas foi de 29,5%, sendo 17,6% de BCG (+) e lepromina (—) e 11,9% de BCG (—) e lepromina (+).

Êsses resultados <sup>(5)</sup> foram comunicados ao VI Congresso Internacional de Leprologia (Madrid-1953). Ainda nesse Congresso apresentamos um trabalho <sup>(6)</sup> sôbre "O papel protetor do BCG na lepra murina". Essa experiência foi realizada da seguinte maneira:

*Animais e técnica* — Foram usados ratos brancos, aproximadamente da mesma idade e mantidos sob o mesmo regime alimentar e de ambiente. Serviram para a experiência — 77 ratos — que foram classificados da seguinte maneira:

GRUPO 1 — 19 ratos inoculados com 20 mg do BCG na pata posterior direita; 115 dias após foram inoculados na mesma pata com o *M. lepraemurium*.

GRUPO 2 — 19 ratos inoculados com 20 mg de BCG na pata posterior direita; 115 dias após foram inoculados na pata posterior esquerda com o *M. lepraemurium*.

GRUPO 3 — 9 ratos inoculados com 20 mg de BCG na cavidade peritoneal; 115 dias após foram inoculados, pela mesma via, com o *M. lepraemurium*.

GRUPO 4 — 10 ratos inoculados com 20 mg de BCG na cavidade peritoneal; 115 dias após foram inoculados na pata posterior esquerda, com o *M. lepraemurium*.

GRUPO 5 — (contrôle) — 13 ratos inoculados com o *M. lepraemurium* na pata posterior direita no mesmo dia das inoculações dos ratos provas.

GRUPO 6 — (contrôle) — 7 ratos inoculados com *M. lepraemurium* na cavidade peritoneal, no mesmo dia das inoculações dos ratos provas.

NOTA — Em tôdas as experiências o inóculo do *M. lepraemurium* foi feito com 0.5 cc de uma suspensão de um leproma de 4 meses, rico em germes.

AVALIAÇÃO DA EXPERIÊNCIA — A avaliação foi feita em bases clínica, bacteriscópica e anátomo-patológica.

AVALIAÇÃO CLÍNICA — Foi realizada pela inspeção periódica dos animais; condensamos na tabela I os resultados dos que sofreram inoculações do *M. lepraemurium* por via subcutânea (grupos 1, 2, 4 e 5) e na tabela II os resultados dos que foram inoculados por via peritoneal com o *M. lepraemurium* (grupos 3 e 6).

TABELA I

ALTERAÇÕES CLÍNICAS ENCONTRADAS NOS RATOS PROTEGIDOS PELO BCG E NOS TESTEMUNHOS, APÓS 4 e 6 MESES À INOCULAÇÃO DO *M. LEPRAEMURIUM* POR VIA SUBCUTÂNEA.

Alterações no local da inoculação com <i>M. lepraemurium</i>	Animais protegidos				Animais não protegidos			
	Leitura feita 4 meses após a inoculação do <i>M. lepraemurium</i>		Leitura feita 6 meses após a inoculação do <i>M. lepraemurium</i>		Leitura feita 4 meses após a inoculação do <i>M. lepraemurium</i>		Leitura feita 6 meses após a inoculação do <i>M. lepraemurium</i>	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
Normal .....	24	57.1	1	2.7	2	16.6	0	—
Infiltrado .....	8	19.0	13	35.51	2	16.6	2	18.1
Nódulo .....	5	11.9	8	21.6	—	—	—	—
Tumor não ulcerado .....	4	9.5	8	21.6	4	33.3	4	36.3
Tumor ulcerado .....	1	2.3	7	18.9	4	33.3	5	45.4
TOTAL .....	42	99.9	37	99.9	12	99.8	11	99.8

TABELA II

ALTERAÇÕES CLÍNICAS ENCONTRADAS NOS RATOS PROTEGIDOS PELO BCG e NOS TESTEMUNHOS, APÓS 4 e 6 MESES À INOCULAÇÃO DO *M. LEPRÆMURIUM* POR VIA PERITONEAL.

Alterações encontradas à inspeção	Animais protegidos				Animais não protegidos			
	Leitura feita 4 meses após a inoculação do <i>M. lepræmurium</i>		Leitura feita 6 meses após a inoculação do <i>M. lepræmurium</i>		Leitura feita 4 meses após a inoculação do <i>M. lepræmurium</i>		Leitura feita 6 meses após a inoculação do <i>M. lepræmurium</i>	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
Normal .....	9	100	7	100	7	100	—	—
Com lesão infiltrada da parede abdominal .....	—	—	—	—	—	—	7	100

Conforme vemos pela análise dessas tabelas, a evolução da lepra murina se processou mais lentamente nos animais protegidos pelo BCG do que nos não protegidos.

**AVALIAÇÃO BACTERIOSCÓPICA** — Do ponto de vista morfo-tintorial não encontramos nenhuma diferença nos germes dos ratos provas e dos testemunhos. Do ponto de vista de distribuição dos germes, entretanto, as diferenças foram acentuadas, conforme mostra a tabela III.

TABELA III

POSITIVIDADE BACTERIOSCÓPICA NOS ÓRGÃOS DOS RATOS PROTEGIDOS PELO BCG E DOS TESTEMUNHOS.

Local da pesquisa	Ratos não protegidos		Ratos protegidos	
	N.º ex.	Positivos	N.º ex.	Positivos
Ponto de inoculação ....	12	12 (100%)	7	7 (100%)
Gânglio .....	12	1 (8.3%)	7	4 (57.1%)
Baço .....	12	3 (25%)	7	3 (42.8%)
Fígado .....	12	2(16.6%)	7	3 (42.8%)
Pulmões .....	12	2(16.6%)	7	3 (42.8%)

Dos dados dessa tabela deduz-se que nos animais não protegidos parece ter havido uma maior tendência à disseminação da infecção.

**AValiação Anátomo-Patológica** — Do ponto de vista macroscópico observou-se, à necropsia, uma extensão maior do processo, nos animais que não tomaram BCG; do ponto de vista microscópico, entretanto, não foram observadas diferenças na reatividade dos tecidos nos dois grupos de animais.

Com êsses resultados acreditamos em uma ação protetora do BCG frente à infecção pelo *M. lepraemurium*.

Em 1955, apresentamos ao Congresso Internacional de Alergia (<sup>7</sup>) um novo trabalho experimental. Essas experiências foram divididas em três partes:

### 1.ª PARTE

**OBJETIVO** — Verificar em animais a possibilidade da viragem do teste lepromínico pela ação do BCG. Acreditamos ser interessante esta experiência porque concede, ao investigador, um melhor controle biológico, visto permitir comparação com um mesmo tipo de experiência em seres humanos.

#### EXPERIÊNCIA:

- a) — 45 cobaios adultos, de ambos os sexos, foram inoculados com 0,033 g de BCG na coxa direita.
- b) — 45 dias mais tarde, os mesmos animais foram inoculados por via intradérmica com 0,1 cc de lepromina integral na parede abdominal.
- c) — Neste mesmo dia, 20 cobaios adultos, de ambos os sexos, foram inoculados intradêrmicamente com 0,1 cc de lepromina integral na parede abdominal (grupo controle).
- d) — as leituras das reações intradérmicas foram feitas no 2.º dia, 7.º, 14.º e 21.º dias.
- e) — os resultados foram avaliados como se segue: Reação positiva recente (Fenômeno de Fernandez) — Eritema ou infiltração com um diâmetro superior de 3 mm, em leitura de 48 horas. Reação tardia positiva (Fenômeno de Mitsuda) — Infiltração com ou sem necrose, tendo um diâmetro de 3 mm, ou mais, em leituras efetuadas nos 14.º e 21.º dias.

#### OBSERVAÇÃO

Êste critério de positividade foi baseado nos seguintes fatos: Dos 20 animais controles, somente 4 mostraram 1 e 2 mm de reação no 2.º e no 7.º dia. Esta é a razão porque nós consideramos como positivos somente aquelas reações tendo um diâmetro de 3 mm ou mais. Somente 39 dos animais testados sobreviveram a experiência, enquanto todos aqueles incluídos no grupo controle permaneceram vivos até o fim da experiência.

#### RESULTADOS

- a) — O grupo teste mostrou os seguintes resultados:

Reação precoce .....N.º de casos ..... (21) (+) % (+) 53,8

Reação tardia .....N.º de casos ..... (37) (+) % (+) 94,0

- b) — O grupo controle foi 100% negativo em tôdas as leituras.
- c) — Todos os animais, exceto 1, com reação precoce positiva, também mostraram uma reação tardia positiva.

Em 14 animais (37%) do total dos positivos, a reação positiva tardia não foi procedida de reação precoce positiva.

### CONCLUSÕES DA EXPERIÊNCIA

A administração de BCG em cobaios, produz a viragem do teste lepromínico de negativos para positivo.

#### 2.ª PARTE

**OBJETIVO** — Verificar si a primeira inoculação com antígeno lepromínico sensibilizaria os cobaios a uma segunda inoculação com o mesmo antígeno.

#### EXPERIÊNCIA:

Dez (10) animais mencionados do grupo contrôle os quais foram injetados com 0,1 cc de lepromina integral, foram reinoculados intracutâneamente com 0,1 cc do mesmo antígeno, 47 dias após a primeira inoculação.

#### RESULTADO

Nenhum dos animais mostrou uma reação positiva.

#### CONCLUSÃO

O antígeno lepromínico não sensibiliza os cobaios a uma 2.ª inoculação.

#### 3.ª PARTE

**OBJETIVO** — Verificar a reativação da 1.ª reação positiva após uma segunda inoculação com BCG.

#### EXPERIÊNCIA:

Dez (10) cobaios que tinham mostrado um teste lepromínico positivo, após inoculação com BCG, e nos quais as reações haviam desaparecido, foram novamente inoculados com 0,33 g de BCG na coxa.

#### RESULTADO

Nenhum dos animais mostrou a reativação da reação lepromínica durante observação por um período de 30 dias.

#### CONCLUSÃO

A reativação remota do teste lepromínico após uma nova inoculação com BCG não foi observada no cobaião.

Em maior escala essas experiências vieram confirmar as anteriores. Até então a administração do BCG havia sido feita por via hipodérmica, o que poderia parecer a outros pesquisadores um ponto criticável, si quiséssemos tomar como elemento comparativo com a experiência humana levada a efeito no Brasil, visto ser usado exclusivamente a via oral, entre nós.

Decidimos, então, realizar juntamente com o nosso assistente, Dr. René Garrido Neves, a administração do BCG a cobaios, por via oral. Êste trabalho será motivo de uma publicação a parte.

Entretanto, achamos conveniente antecipar, neste Simpósio, os resultados que encontramos. A experiência processou-se da seguinte maneira:

#### 1.º — DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS — IDENTIFICAÇÃO — PESAGEM.

Cem cobaios foram divididos em 5 lotes de 20 animais. Os cobaios pertencentes a cada lote foram colocados em 7 gaiolas. As gaiolas, alem de numeradas de 1 a 7, receberam a côr distintiva de cada lote.

A marcação dos cobaios foi feita com contas coloridas e prêsas à orelha direita com arame fino. Os caracteres próprios de cada animal foram anotados, na ficha correspondente (pêso, côr, aspecto do pêlo, sinais peculiares, etc.).

## 2.º — ADMINISTRAÇÃO DO BCG.

O BCG foi ministrado por entubação gástrica aos cobaios após um jejum de 12 horas. Apenas 20 animais pertencentes ao lote testemunha não tomaram BCG.

A dose de BCG variou nos diferentes lotes, obedecendo ao seguinte critério:

LOTE A (VERDE) — 20 cob: 1 mg. BCG p/kg. peso corp.

LOTE B (AMARELO) — 20 cob: 3 mg. BCG p/k. peso corp.

LOTE C (VERMELHO) — 20 cob: 15 mg. BCG p/kg. peso corp.

LOTE D (AZUL) — 20 cob: 30 mg BCG p/k. peso corp.

LOTE E(PRETO) — 20 cobaios testemunhas: não tomaram BCG.

Escolhemos essas doses por serem aproximadas das doses usuais, administradas entre nós.

A dose para o homem adulto é aproximadamente de 3,3 mg. por quilo de pêso; nós usamos para os cobaios do lote B a dose aproximada de 3 mgr. por Kg.

Os animais do lote D receberam BCG na dose de 30 mg. por quilo de pêso, dose praticamente igual a que se dá usualmente para a criança (28 mg. por kg.).

*OBSERVAÇÕES* — A técnica utilizada foi reconmendada por J. Dumas no livro "Les animaux de laboratoire". Diluimos o BCG em sôro fisiológico e usamos uma sonda de nelaton n.º 14 e uma seringa de 10 mls. Empregamos uma pequena régua de madeira com orifício central, pelo qual passava a sonda e cuja finalidade primordial era manter a bôca entreaberta, durante a operação.

## 3.º — TESTE LEPROMÍNICO.

Dois meses após ter sido dado o BCG procedeu-se ao teste lepromínico. Os animais foram depilados na véspera (Depilatório Kahitz) e a área de escolha foi o quadrante inferior direito. A lepromina foi inoculada por via intradérmica (0,1 ml) utilizando-se uma agulha bem fina de bixel curto. A inoculação da lepromina foi praticada nos cobaios de todos os lotes, inclusive os do lote testemunha.

## 4.º — LEITURA DAS REAÇÕES.

As alterações locais do teste lepromínico foram verificadas com os seguintes intervalos, após a data da inoculação: 48 horas, 7 dias, 10 dias, 15 dias, 25 dias, 30 dias e 40 dias.

Consideramos positivas tôdas as reações que apresentaram um caráter de persistência (alterações macroscópicas ainda presentes com 14 ou mais dias), independentemente do tamanho, apresentando em geral necrose, com determinação de cicatriz perceptível macroscópicamente.

## RESULTADOS:

Chegaram ao final da experiência apenas 48 cobaios. A mortalidade de mais de b0% dos cobaios foi devida a intercorrências.

Os resultados estão tabulados na tabela IV.



TABELA IV

LOTE	N.º COBAIOS	Lepromina positiva	
		N.º	%
A	12	4	30%
B	11	7	63%
C	11	7	63%
D	8	7	87%
E	6	0	0%

## CONCLUSÃO DAS EXPERIÊNCIAS:

1.<sup>a</sup> — O BCG por via oral induz à positividade lepromínica.

2.<sup>a</sup> — O percentual de positividade variou de acordo com a dose administrada. A cifra mais elevada foi de 87% para o grupo D que tomou 30 mg. de BCG por via oral, dose essa praticamente idêntica a que recebe a criança entre nós.

## III — EXPERIÊNCIA DE OUTROS AUTORES

É possível que haja algumas omissões neste particular, o que se justifica pela dificuldade existente no Rio de Janeiro para a consulta bibliográfica.

Parece ter sido Chaussinand (<sup>8</sup>) o 1.<sup>o</sup> a ter publicado experiências em animais de laboratório, mostrando a viragem da reação lepromínica pelo *M. tuberculosis*.

Esse autor utilizou em suas experiências 40 cobaios, 10 coelhos, 6 macacos e 2 cachorros tuberculino-negativos e lepromino-negativos; após a inoculação do *M. tuberculosis* virulento ou atenuado constatou que o teste lepromínico tornou-se positivo em 40 cobaios, 6 coelhos, 3 macacos e 2 cães. Chaussinand demonstrou ainda que 10 cobaios e 3 macacos enxertados com leproma humano eram capazes de reagir positivamente à injeção intradérmica de *M. tuberculosis* morto pelo calor, muito embora se mantivessem insensíveis à tuberculina.

Olmos de Castro (<sup>9</sup>), trabalhando com um grupo de 6 cobaios vacinados com BCG, verificou existirem três períodos diferentes de reatividade à lepromina: período pré-alérgico (1 semana após a inoculação do BCG); período de hipersensibilidade (2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> semanas) e período de hipersensibilidade e resistência (após a 3.<sup>a</sup> semana de inoculação do BCG). Seria neste período que, a reação precoce lepromínica evoluiria lentamente à reação nódulo-necrótica tardia.

Além disso confirmou, experimentalmente, o fenômeno de "positividade remota", fato biológico esse que se estabeleceria entre os 24 e 28 dias, após a vacinação.

Convit, Lapenta e Jorgensen (<sup>10</sup>) estudaram o assunto em hamsters e cobaios; as inoculações com BCG foram praticadas por via oral, intradérmica e intracardíaca. Os hamsters mostraram-se insensíveis à lepromina, o oposto ocorreu aos cobaios. Verificaram ainda esse autores que 7 de 9 cobaios, de um sub-grupo controle, tornaram-se espontaneamente Fernandez e Mitsuda positivos; interpretaram o fato como decorrente da idade dos cobaios.

Constataram ainda, que muito embora todos os cobaios apresentassem provas de reações lepromínicas precoces e tardias positivas, apenas os inoculados com BCG por via intradérmica apresentaram sensibilidade tuberculínica.

Pereira Filho e Nery Guimarães <sup>(11)</sup> constataram 91,7% de viragem lepromínica em Rhesus, inoculados com BCG por várias vias.

Hadler e colaboradores em uma série de interessantíssimos trabalhos <sup>(12,13,14,15 e 16)</sup> estudaram as reações lepromínicas de cobaios e ratos inoculados ou não com BCG, as quais poderiam ser sumariadas assim:

- 1.º — Os cobaios e ratos inoculados intradêrmicamente com lepromina apresentam reações negativas do ponto de vista macroscópico; não obstante, a histologia mostra, no cobaio, a presença de células epitelióides e uma estrutura granulomatosa "not typically tuberculoid", ao passo que no rato só é observada a presença de "célula leprosa".
- 2.º — "A vacinação de cobaios pelo BCG determina modificações macro e microscópicas na reação de lepromina, porém não provoca alterações fundamentais na estrutura e na citologia das lesões, as quais permanecem análogas e são formadas por elementos idênticos, antes e após a vacinação", daí concluir o autor que o termo "viragem" é inadequado; não obstante, constatara a existência de uma "aceleração do ritmo evolutivo da lesão histológica suscitada pela lepromina, em cobaios vacinados pelo BCG, ou seja a formação acelerada tuberculóide".
- 3.º — "A inoculação prévia de BCG ou de *M. lepraemurium* produz, no rato, modificações de reatividade dos tecidos em face da injeção intradérmica de suspensões de micobactérias. Nestas circunstâncias, a lesão nodular, que se forma no local injetado com suspensão de bacilos, possui maiores dimensões". Não obstante, microscopicamente não foi encontrada "viragem" do ponto de vista citológico.
- 4.º — A vacinação BCG prévia não altera a evolução das lesões produzidas pelo *M. lepraemurium*. Recentemente, Hanks e Fernandez <sup>(17)</sup> mostraram que tanto o *M. lepraemurium* morto pelo calor, como o BCG ou a mistura dos dois, conferem uma nítida proteção à infecção do rato inoculado com *M. lepraemurium*, confirmando assim os nossos achados, aos quais se opõem os de Hadler e Ziti <sup>(14)</sup>. Por outro lado os trabalhos de Hadler e Ziti <sup>(12,13 e 15)</sup> e os de Fernandez e colaboradores <sup>(13)</sup> concordam no que diz respeito à capacidade de sensibilização tuberculínica de cobaios por inoculações prévias com *M. leprae* e *M. lepraemurium*.

#### IV — DISCUSSÕES E CONCLUSÕES

Na base das nossas experiências e das dos autores acima citados, deduz-se que não há discordância quanto à ação modificadora do BCG sobre a reação lepromínica, em animais de laboratório. Entretanto, há uma certa discordância, que me parece mais aparente que real, quanto à interpretação dada a essas modificações induzidas pelo BCG.

O termo "viragem", usado por todos os autores para essas modificações induzidas, é segundo Hadler <sup>(16)</sup> inadequado visto não corresponder a modificações citológicas, qualitativas; segundo Hadler <sup>(16)</sup> tanto o cobaio não vacinado como o vacinado com BCG apresentaram o mesmo tipo citológico reacional; a diferença estaria em uma "formação acelerada da lesão tuberculóide".

Ao aceitarmos a veracidade dos trabalhos de Hadler neste particular, não obstante, fica de pé o fato de que o cobaio vacinado pelo BCG reage diferentemente ao teste lepromínico, e, essa reação diferente se caracteriza por: formação de nódulo macroscopicamente nítido com necrose e formação de verdadeiro granuloma tuberculóide. O fato científico existe, não importa o nome que se lhe dê: VIRAGEM ou REAÇÃO ACELERADA.

Tanto o rato como o cobaio têm uma maneira própria de reagir; não cremos que possa haver meio biológico capaz de modificar basicamente essa maneira específica desses animais de reagir. O rato jamais fará granuloma tuberculóide do mesmo modo que o cobaio jamais deixará de fazer granuloma tuberculóide quando excitado adequadamente. Entretanto, pode-se artificialmente, por meios biológicos (BCG por exemplo), acelerar a reatividade peculiar para cada caso. É essa reação ou modificação que buscamos e conseguimos, conforme o consenso unânime de todos os autores, sem excessão.

O homem tem a sua maneira peculiar de reagir. No caso de infecção leprosa pode reagir, ora LEPROMATIZANDO-SE (semelhança à maneira de reagir do rato) ora TUBERCULOIDIZANDO-SE (semelhança à maneira de reagir do cobaio). Si bem que na grande maioria dos casos, estas estruturas sejam antagônicas e incompatíveis, não obstante, em casos raros, como na forma "borderline", a compatibilidade das duas estruturas é indiscutível. Mais ainda — e aí vai o nosso maior argumento em favor da ação benéfica do BCG — as nossas experiências (19,20 e 21) confirmadas já por outros pesquisadores<sup>(22)</sup> mostram que um ser lepromatoso, recuperado pela terapêutica sulfônica, é capaz de, sob a ação do BCG, produzir estrutura tuberculóide quando excitado pelo *M. leprae* (lepromina). TRATA-SE AQUI DE UMA INDUBITÁVEL VIRAGEM, MESMO PARA OS MAIS CÉTICOS, VISTO TER HAVIDO ALTERAÇÕES CITOLÓGICAS QUALITATIVAS.

Ninguém pode negar a êsse SER a capacidade em potencial de fazer estrutura tuberculóide. Não obstante, quando em face do *M. leprae* reagiu mal, isto é, lepromatosamente. Tivesse êle sido preparado previamente pela vacinação do BCG faria, provavelmente, uma estrutura tuberculóide frente à infecção leprótica, a julgar pelos dados científicos de que dispomos no momento. Assim sendo, cremos que o BCG é útil e deve ser usado na profilaxia contra a lepra.

#### BIBLIOGRAFIA

1. — FERNANDEZ, J. M. M. — Estudio comparativo de la reaccion de Mitsuda con las reacciones tuberculínicas. Rev. Arg. Dermatosis. 23:425, 1939.
2. — AZULAY, R. D. & CONVIT, J. — The Mitsuda test in non-leprosy persons in a non-endemic country. Int. J. Leprosy 15:264, 1947.
3. — CONVIT, J., AZULAY, R. D., BERMUDEZ D. & SALGADO, P. — The lepromin test in tuberculous persons in non-endemic area. Int. J. Leprosy 12:60, 1944.
4. — AZULAY, R. D. — A ação do BCG sobre a reação lepromínica. Memória del V Congresso Int. de la Lepra — Havana 1948.
5. — AZULAY, R. D. & AZULAY J. D. — A viragem da lepromina-reação pela administração do BCG. Bol. Serv. Nac. Lepra 4 (4) : Dez. 1953.
6. — AZULAY, R. D. — The protective role of BCG in murine leprosy. Int. Jour. Leprosy 22 (1): 61, 1954.
7. — AZULAY, R. D. — Our experience with the lepromin test from 1944 to 1955. New experiments with guinea pigs. Apresentado ao II Congresso Int. de Alergia (Rio de Janeiro, 1955).
8. — Chaussinand, R. — Prémunition relative antilepreuse par la vaccination au BCG. Ann. I Congr. Internat. BCG. Paris 1948, pg. 66.
9. — CASTRO, N. O. — Sensibilização a la lepromina inducida experimentalmente com BCG. III Conf. Panam. Lepra. Memoria 1: 292, 1954.
10. — CONVIT, J., LAPENTA, P. & JORGENSEN, J. The Mantoux and Mitsuda reactions in hamsters and guinea-pigs before and after vaccination with BCG. Int. Journal Leprosy 23 (2) : 162, 1955.
11. — PEREIRA FILHO, M. J. & NERY GUIMARAES, F. — Mitsuda's reactions induced by BCG in the normal Rhesus. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 53: 609, 1955.

- HADLER, W. A. — Comportamento do cobaio e do rato normais, injetado com lepromina por via intradérmica. Rev. Bras. Leprol. 21 (3) : 165, Set. 1953.
- RADLER, W. A. — Estudo comparado das lesões provocadas por suspensões de *M. leprae* e de *M. tuberculosis* injetados por via intradérmica, em cobaios previamente vacinados pelo BCG. Rev. Bras. Leprol. 22 (2) : 109, Junho 1954.
- HADLER, W. A. & ZITI, L. M. — Efeito da vacinação pelo BCG sobre a evolução da lepra murina, observação em ratos inoculados, por via peritoneal, com pequena dose de *M. lepraemurium*. Rev. Bras. Leprol. 22 (2) : 124, Junho 1954.
- HADLER, W. A. & ZITI, L. — Estudo da reação da lepromina no rato previamente inoculado com *M. lepraemurium* e com *M. tuberculosis* (BCG). Rev. Bras. Leprol. 23 (1-4) : 53, Jan-Dez. 1955.
- HADLER, W. A. — Influência da inoculação prévia de BCG sobre os resultados da reação da lepromina em cobaios. Bol. Serv. Nac. Lepra 15 (1) : 5, Março 1956.
- HANKS, J. H. & FERNANDEZ J. M. M. — Enhancement of resistance to murine leprosy by BCG plus specific antigen. Int. J. Leprosy 24 (1) : 65, 1956.
- FERNANDEZ, J. M. M. & CABANILLAS, L. Sensitization to tuberculin induced by lepromin (Leprosy Review 26 (4) : 163, Oct. 1955).
- AZULAY, R. D., MOURA, A. & MOURÃO, G. — A viragem da reação lepromínica pelo BOG administrado aos doentes lepromatosos em condições clínico-bacterioscópico histopatológicas de "Transferência para Dispensário". Rev. Bras. Leprol. 20 (3/4) : 178, 1953.
- ALONSO, A. M. & AZULAY, R. D. — Lepromino-reações positivas e lepra lepromatosa. Bol. Serv. Nac. Lepra. (15 (2): III, Junho 1956).
- RABELO, A. V., AZULAY, R. D., OLIVEIRA, C. S. & ANDRADE L. M. C. — Verificação da ação do BOG em doentes de lepra em tratamento. Bol. Serv. Nac. Lepra 15 (2) : 115, Junho 1956.
- CONVIT, J. RABI, E., RODRIGUEZ, F. C. & CONTRERAS, R. — Variaciones de las reacciones a la lepromina y tuberculina en enfermos de lepra, despues de la vacunación BCG. Bol. Hospitales 51 (1): 13, 1952.

### **COMENTÁRIOS AOS TRABALHOS APRESENTADOS PELOS RELATORES DO 3.º TEMA**

*DR. A. BLUTH*

Reconheço que me falta capacidade para falar sobre assuntos de experimentação animal, mas o Dr. Azulay no seu relatório avançou um pouco e expendeu umas considerações que são mais clínicas do que experimentais e também entrou num terreno que pode ser classificado como especulativo, para não usar a palavra que ele usou para com o Dr. Rotberg — filosofia. Especulação ou filosofia, apesar da minha falta de competência neste assunto, quero dizer umas palavras. Como já disse, não vou discutir o trabalho em si e, sim, o seu final, porque acho que as conclusões são um pouco avançadas. Não posso concordar com a conclusão de que se o doente a que se refere o relator tivesse sido preparado previamente pela vacinação com BCG, faria provavelmente uma estrutura tuberculóide frente à infecção leprótica, a julgar pelos dados científicos de que dispomos no momento. Acho que isso é pura hipótese e ainda não vejo um fato científico que justifique essa hipótese. Nós sabemos que o lepromatoso reage negativamente ao lepromino-teste, mas também sabemos que em certas oportunidades ele pode reagir positivamente. Sabemos mais, pelos trabalhos de Schujman, que esta viragem — e eu aceito este termo viragem porque psicologicamente está justificado — que esta viragem sob o ponto de vista clínico e da evolução da doença não quer dizer muita coisa. Agora, se ainda resta

neste indivíduo uma certa potencialidade de reagir com granuloma tuberculóide, então é muito estranho que êle não tenha reagido de comêço porque há outros fatos que não estão de acôrdo com aquilo que o Prof. Azulay disse. Ele disse que, "um ser lepromatoso, recuperado pela terapêutica sulfônica, é capaz de, sob a ação do BCG, produzir estrutura tuberculóide quando excitado pelo *M. leprae* (lepromina)". Ora, isto está então condicionado à aplicação do BCG. Mas não é assim, e eu tenho aqui um trabalho de Hale e Mollesworth, que aliás foi extensamente citado pelo Prof. Rabelo, que chega a conclusões muito estranhas, como por exemplo de que a reação de Mitsuda não tem valor específico, é uma reação inespecífica e que a lepra só ataca o grupo selecionado de Mantoux negativo. Mas neste trabalho há uma tabela mostrando que entre os internados nos leprosários da Malaia, que eram Mantoux e lepromina negativos, um certo número (é verdade que não é muito grande, são 5 num grupo de 38, mas também com BCG não viram todos os lepromatosos) que êste grupo depois de 18 meses de residência no leprosário fêz o Mitsuda positivo, sem BCG. Quer dizer: se está provado que o lepromatoso pode fazer o Mitsuda positivo, sem a aplicação do BCG, então acho que esta conclusão não pode ser mantida pelo menos com essas palavras: que depois, só depois da aplicação do BCG o lepromatoso curado, tratado, branqueado, como quizermos chamar isto, pode reagir positivamente e que por isto se pode ou se poderia concluir que se êle tivesse sido tratado anteriormente com o BCG teria, quase com certeza, ou provavelmente, reagido "tuberculoidamente" contra a infecção leprosa. Só isto quiz dizer porque achei que esta conclusão está um pouco avançada.

*PROF. PAULA SOUZA*

Gostaríamos apenas de lembrar algumas experimentações em animais, especialmente em cachorros e que, não foram referidas aqui, inclusive as feitas na Faculdade de Medicina de S. Paulo, no Departamento de Anatomia Patológica pelo Dr. Lopes de Faria e que são realmente de bastante interesse. Ao lado dessas nos parecem de muito valor as pesquisas sugeridas por Wade nas Filipinas, em que cachorros vivendo dentro de leprosários foram experimentados com repetidas provas de Mitsuda; observam-se viragens unicamente com a repetição da lepromina nas negativas, independentemente da associação com qualquer outro elemento. Devido ao fato de serem cachorros vivendo em ambiente leproso, foram feitas pesquisas também em cães de Minnesota, junto às clínicas Mayo, localidade onde não há lepra. Os resultados foram semelhantes, quer dizer, à medida que foram repetidas novas provas nos Mitsuda negativos, o número de viragens também aumentava. São êsses, uns tantos trabalhos que reputamos de suma importância para o tema aqui discutido, onde não foram empregados outros elementos a não ser a própria lepromina e em animais de experimentação, como o cão, que para o caso, também apresenta interesse.

### **RESPOSTAS DOS RELATORES:**

*PROF. WALTER HADLER*

Queríamos antes discutir alguns pontos que fazem parte do relatório do Dr. Azulay.

Temos a impressão que o primeiro ponto a ser discutido é a questão da viragem, isto é, o conceito de viragem da reação da lepromina. Admite-se que viragem seja a transformação de uma reação negativa em positiva, ou vice-versa. Define-se a reação positiva — e a êste respeito os leprologistas são unânimes na definição — como sendo a lesão cuja estrutura histológica possui aspecto da lesão tuberculóide, ou seja, uma lesão constituída por células epite-

lióides isentas de bacilos. Deve ser bem frizado este caráter, isentas de bacilos, porque os aspecto geral da lesão, isto é, a formação ou não de um nódulo, tem significação secundária. A presença da estrutura nodular tem relação com a espécie animal; é o caso do cobaio, no qual não há lesões de tipo estritamente tuberculóide, estritamente nodular. As lesões são mais difusas, se bem que em certas zonas haja tendência à formação de nódulos. Em geral são mais difusas que as lesões humanas, o que parece relacionado com o fator espécie.

No que diz respeito à viragem da reação da lepromina, mesmo que baseada na leitura macroscópica (que é o critério clínico), deve também ser considerada a estrutura histológica da lesão, porquanto a definição da reação positiva é baseada na estrutura histológica. Com a reação negativa não se dá o mesmo, pois, ainda os dados são insuficientes para uma conclusão definitiva; no entanto, a reação tipicamente negativa é bem definida histologicamente. Em relação à reação positiva os resultados são quasi unânimes. Quando Mitsuda descreveu a reação positiva assinalou o tipo de estrutura encontrada na lesão histológica.

Outro ponto que requer discussão é a questão do efeito do BCG na evolução da lepra murina. Todos que trabalham em lepra de rato sabem que as variações quanto à sobrevivência, apresentadas pelos animais inoculados com *M. lepraemurium*, são muito amplas. Traçando a curva de distribuição de frequência de ratos inoculados com dose bem estabelecida de bacilos (5 mg de *M. lepraemurium*), iremos verificar grandes variações. Usando um grupo grande de animais e projetando em gráfico a distribuição de frequência da mortalidade, iremos ter valores que naturalmente se agrupam em torno da média, mas cujos limites de variação atingem desde 2 meses até 18 meses. Observam-se variações tão grandes que o número apresentado pelo Prof. Azulay não permite conclusão definitiva. Temos um trabalho em andamento, em S. Paulo, sobre este mesmo assunto. O primeiro trabalho por nós publicado a este respeito sobre o qual o Prof. Azulay teve a oportunidade de se referir, constou da inoculação de dose muito pequena de bacilos; devido a isso não foi possível estudar a sobrevivência, sendo os ratos assim inoculados estudados quanto a evolução das lesões, comparando-se os vacinados pelo BCG com os controles. Atualmente está em andamento outro trabalho em que foi usada dose bem maior de bacilos (5 mg de bacilos), dose esta que produz curva de mortalidade bem estabelecida, a qual foi estudada em trabalhos de quimioterapia experimental. A linha de regressão da sobrevivência sobre o tempo é uma linha reta, dentro dos limites observados, nestas condições experimentais; os desvios da linealidade são insignificantes, o que permite bem julgar a evolução da moléstia em grupo pequeno de animais. O plano desse trabalho é comparar animais inoculados previamente com BCG com animais não inoculados, ambos tendo recebido a mesma dose de *M. lepraemurium*, (5 mg), por via intraperitoneal. Os resultados ainda são inconclusivos, porquanto estão incompletos. Temos a impressão que desta maneira, comparando as duas linhas de regressão, isto é, os dois coeficientes de regressão, o dos animais tratados e o dos não tratados pelo BCG, vai ser possível estabelecer uma diferença, ou uma analogia, entre os dois grupos. É este o método que temos usado para a avaliação de quimioterápicos, o qual parece dar resultados interessantes.

Outro ponto a discutir é a presença de "verdadeiro granuloma tuberculóide", ao qual se refere o Prof. Azulay quando cita experiências feitas em cobaios, depois da vacinação pelo BCG. Realmente não se trata de "verdadeiro granuloma tuberculóide" e ele não poderia assim ser chamado. É um granuloma que tem muito mais aspecto da lesão tuberculóide do que antes da vacinação. Mas, tanto antes como após a vacinação pelo BCG as lesões são constituídas pelos mesmos tipos de células, isentas de bacilos. Deve ser frizado que tem mais valor a presença ou a ausência de bacilos, do que o próprio aspecto geral do granuloma; este último tem relação com a espécie animal.

Merece comentário a modificação experimental da maneira particular de reação dos tecidos de algumas espécies animais em face de micobactérias. O

prof. Azulay não acredita existir meio biológico capaz de modificar basicamente a maneira específica de reação dos tecidos, nessas espécies. Nós também pensávamos desta maneira, mas, depois de efetuarmos trabalhos com desoxicorticosterona e com suspensão de partículas coloidais, fomos obrigados a mudar de opinião. Achávamos que a reação dos tecidos estivesse relacionada com a espécie animal e por isso dificilmente seria modificada. No entanto, com o emprêgo da desoxicorticosterona, da cortisona, de partículas colóidais e do cloroanfenicolfergan, mostrou-se que é possível essa transformação e que a estrutura da lesão depende mais da capacidade funcional do macrófago, isto é, dos sistemas enzimicos que estão em atividade no macrófago, do que propriamente da sensibilização específica ou inespecífica.

Quanto à questão da viragem da reação da lepromina em casos lepromatosos negativados após tratamento, existem dados discordantes a êsse respeito. Assim, Lowe e McNulty trabalhando neste assunto concluíram que após a vacinação pelo BCG havia, em pequena percentagem de casos, "viragem" da reação, "viragem" no sentido macroscópico. Todavia esta "viragem", que se observava em percentagem pequena de casos, era transitória e desaparecia depois de determinado tempo. A mesma conclusão chegou Schujman. Temos a impressão de que êsse fato ainda não está perfeitamente estabelecido. As fotomicrografias apresentadas pelo Prof. Azulay, que mostram a estrutura de lesões desses casos que apresentaram viragem da reação da lepromina, parecem ter sido julgadas por critério diferente do nosso. Uma das microfotografias, cuja lesão apresenta células com vacúolos, sendo alguns grandes, apesar de haver infiltrado de células de tipo linfocitário, formando halo periférico, apesar disso, nós consideraríamos essa lesão como do tipo lepromatoso em regressão. É claro que estamos nos baseando apenas no aspecto de uma fotomicrografia e não em uma lâmina e, além disso, não sabemos qual é o aspecto dos bacilos nessa lesão. Pediríamos ao Prof. Azulay que esclarecesse esses pontos.

Quanto à verificação da eventual presença de lípidos nas lesões dos ratos tratados pela desoxicorticosterona, não foi efetuada; aliás, esta verificação está prejudicada, porquanto a desoxicorticosterona foi injetada juntamente com a suspensão de bacilos e o hormônio usado encontrava-se em solução oleosa.

Voltando aos comentários do Prof. Azulay queríamos esclarecer quanto à dose de desoxicorticosterona necessária para provocar modificação da reação dos tecidos. A dose empregada, apesar de ter sido grande, não foi exagerada. Usamos 1 mg de desoxicorticosterona uma única vez, que foi injetado juntamente com a suspensão de bacilos; posteriormente não foi mais injetado hormônio. Essa dose para o rato é uma dose média; em relação ao peso do homem é realmente uma dose grande.

Em relação à DOCA ainda não é permitido sugerir aplicação prática ao homem; estamos ainda muito atrasados, numa fase estritamente experimental.

No que se refere ao Prof. Paula Souza quanto aos trabalhos sobre lepromina efetuados em cães, são realmente trabalhos muito interessantes. Não tivemos oportunidade de citá-los, porquanto todos os que se referem à "viragem" da reação da lepromina se baseiam na leitura macroscópica da reação, critério êsse que, a nosso vêr, não parece aconselhável.

*PROF. R. D. AZULAY*

Ao Dr. Bluth, inicialmente agradeço os comentários que fez ao meu trabalho. Achou que eu avancei muito porque fui além do problema do laboratório, entrei também na parte clínica e por isso mesmo eu me felicito porque dei margem a que um companheiro de serviço pudesse comentar o meu trabalho, ainda que discordando. Não sou como o Dr. Hadler, um homem puramente do laboratório. Sou um homem clínico e faço também laboratório, talvez não seja nem clínico nem laboratorista, por não ser justamente uma coisa só, mas em todo caso eu vou fazendo da maneira como posso; é possível, Dr. Bluth, que a

minha conclusão seja um pouco avançada; admitiria isso. Mas que ela tem um fundamento baseado em dados científicos, tem. Porque? Porque se êsse indivíduo que era lepromatoso — mexendo aqui com o Rotberg novamente — e portanto era um fator N ausente, e por isso é que ale ficou lepromatoso, se depois de curado e tratado e de ter tomado o BCG êle faz no ponto da inoculação do Mitsuda um granuloma tuberculóide, então isso é um dado científico que mostra que o cidadão tem aquela aptidão. Se êle tem aquela aptidão poderia ser provável, é o que eu digo, que quando êle tivesse tido êsse contacto com o BCG teria sido provável que êle tivesse desenvolvido o granuloma tuberculóide protegendo-o contra a infecção leprótica. Quer dizer, é uma especulação, mas baseada em elementos de ordem científica, dados concretos. Poderia não ocorrer isso. Poderia até ocorrer aquilo que o Dr. Rotberg disse hoje: que o BCG, a infecção tuberculosa e o BCG poderiam até agravar uma lepra. Poderiam, mas tudo leva a crer que não, baseado nesses dados. O problema de se encontrar também nos lepromatosos (êsse trabalho que eu desconhecia) granuloma tuberculóide em um indivíduo tratado, sem tomar BCG, também daria margem a uma série de outras investigações, que poderia estar em contacto com alguma fonte de tuberculose, recebendo seus bacilozinhos e reagindo então dessa maneira. Mas que só o tratamento fôsse capaz, ainda assim era interessante mostrar que o indivíduo não é nunca um lepromatoso condenadamente lepromatoso. Agora, se eu disse que o BCG faria isso, e faz realmente, foi baseado no seguinte fato: tomei os doentes lepromatosos, fiz lepromina, está claro que êles vinham sempre tomando lepromina; no leproário de vez em quando a gente faz lepromina, mesmo nos doentes lepromatosos, várias vezes, e nunca a lepromina deu positivo. Então eu vou começar minha experiência no dia 1.º. A lepromina é negativa, Dou o BCG. Com um mês depois faço novo teste de lepromina, já começa a ser positivo, sou obrigado por mais que não queira a aceitar que foi o BCG o responsável pela viragem. Quer dizer, é uma experiência em função do tempo. Se eu tivesse dado o BCG e êle ficasse lepromino negativo, e daí a dois anos êle se tornasse lepromino positivo, e atribuisse o fato ao BCG, então eu poderia ser criticado. Mas é uma experiência em função de um tempo determinado, quer dizer, é uma transformação muito rápida, muito profunda, que teria que ocorrer nesses tecidos em tão pouco tempo, a não ser que houvesse um outro fator intervindo na gênese dessa formação. Por isso é que atribuo ao único fator que introduzi na experiência, o elemento que fêz aquela modificação. Ao Prof. Paula Souza digo também: esqueci-me das experiências de Wade apesar de conhecê-las e se não me falha a memória êle fêz histologia. Agradeço sua colaboração e por mera coincidência os 2 relatores esqueceram disse trabalho que realmente é um trabalho fundamental. O problema da viragem, Dr. Hadler, na qual nós estamos perfeitamente de acôrdo; posso até deixar de chamar viragem, quer dizer, nos cobaios. No homem não. Porque no homem, nesses casos específicos que eu mostrei, houve viragem, o Dr. Hadler concorda conosco. Agora, no cobaio eu poderia aceitar, dizer reação acelerada, não teria maior importância. Mas um ponto para o qual eu queria chamar atenção, e que se a presidência da mesa permitir eu gostaria de ouvir algumas opiniões de leprólogos é o seguinte: o problema de se situar a reação de Mitsuda em termos de histologia poderia ser mais científico. Entretanto, desde quando o Mitsuda foi apresentado até o presente momento em que êle é estudado no homem, todos os trabalhos com exceções para confirmar a regra, são baseados em leitura macroscópica. De maneira que o critério de positividade da reação de Mitsuda em leprologia é a leitura macroscópica, não há para onde fugir. Se cientificamente estaria certo que seria granuloma tuberculóide, entretanto tudo o que se escreveu daqui para trás, foi baseado na macroscopia. Então nós temos que argumentar de que a leitura é macroscópica e que se entende por viragem o aparecimento de um papel persistente e superior a 3 mm. Quero dizer o seguinte que o critério em que se têm baseado os leprólogos na profilaxia, no prognóstico e em leprologia em geral, é sempre o critério macroscópico. Eu



não digo que êle seja o mais científico, mas essa é que tem sido a verdade. Ela pode ser empírica, mas foi nesse empirismo que se estabeleceram os esteios da leprologia. De maneira que aceitando, por uma questão de convicção científica, o fato de que deveria ser granuloma tuberculóide, entretanto gostaria de fazer essa ressalva, porque do contrário, se nós por exemplo verificarmos em 100 casos e vamos encontrar 50 granulomas tuberculóides, 50 não granulomas tuberculóides nós vamos destruir tudo. Então rasga-se tudo e começa-se tudo outra vez. Mas no entanto, certo ou errado, com ou sem granuloma tuberculóide, tudo aquilo que ficou se mantém de pé. É o que eu dizia no princípio hoje à tarde: que eu não dou ao granuloma tuberculóide o valor que se lhe quer dar. Ele é a expressão de uma maneira de reagir no organismo. Coincide, isso é uma impressão, coincide que quando êle faz o granuloma tuberculóide também na lepra há resistência, uma certa resistência. Coincide; é um mero acidente. Uma mera coincidência, porque os fenômenos biológicos se orientam naquele sentido, mas é possível que mais tarde a gente venha a mostrar que a resistência não tenha nada a ver com o granuloma tuberculóide, êle apareceu porque tinha que aparecer mesmo. Os bacilos são insolúveis, a célula do sistema retículo endotelial tem que fagocitá-los e acabou organizando o granuloma. Mas o que estava mostrando a resistência era êsse fatorzinho X, Y ou Z, nós desconhecemos. As vezes há êsse fator e às vezes não há êsse fator. Esta é minha impressão. Era relação com a viragem transitória nos lepromatosos, de que falou o Dr. Radler também, observei isso. Nós temos até publicado um caso, Dr. Avelino e eu; era um lepromatoso negativo, foi tratado, tomou BCG, virou Mitsuda positivo macroscòpicamente. Histològicamente granuloma tuberculóide. O doente continuou no ambulatório e depois foram feitos mais 4 ou 5 Mitsudas, todos negativos. Isso vem mostrar que um organismo pode ou não reagir desta ou daquela maneira, tem essa capacidade dual de reagir. Há muitos aspectos, evidentemente, que nos escapam.