

VALOR DA LEPRO MURINA EM LEPROLOGIA EXPERIMENTAL*

R. D. AZULAY**

I — INTRODUÇÃO

Poucos são os técnicos e os laboratórios que têm se dedicado à investigação leproológica. Daí nosso aplauso incondicional ao Governo Argentino, pela feliz iniciativa de realizar, pela primeira vez no mundo, uma conferência sobre leprologia experimental.

Estamos certos de que esta I Conferência Interamericana de Leprologia Experimental abrirá novas e promissoras perspectivas para a solução de problema de saúde pública tão relevante como seja a lepra.

O tema que nos coube relatar, parece-nos de grande interesse doutrinário e prático. Saber se os dados fornecidos pela experimentação em lepra murina têm aplicação em lepra humana constitui, realmente, um problema do mais alto interesse em patologia comparada. Várias centenas de trabalhos sobre lepra murina têm sido publicados, não por mero diletantismo, mas sim com um objetivo bem definido — a lepra humana.

Não obstante, os autores têm divergido em relação à matéria.

Chaussinand¹³ acha que lepra humana e murina são duas infecções tão diferentes que não se justifica o mesmo nome para ambas, daí sugerir a designação de paratuberculose murina.

Em relação aos problemas de terapêutica, Domagk¹⁵ e Mudrow⁴⁶ opinam que a experimentação murina não pode servir de base para a escolha de drogas anti-lepróticas.

Por outro lado, outros autores, dentre os quais destacamos Carpenter⁹, Lurie⁴² e Rees⁵⁰, baseando-se em estudos mais recentes, são incondicionalmente favoráveis à idéia de que a lepra murina representa, até o presente, o melhor material para investigação leprótica.

II — HISTÓRICO E CONCEITO

A lepra murina foi descrita pela primeira vez por Stefansky⁵³. Ocorria em outubro de 1901, na cidade de Odessa, Rússia, um surto de peste. Stefansky, chefe do Laboratório Bacteriológico daquela cidade, impressionou-se

* Trabalho realizado no Instituto de Leprologia (Chefe: Dr. Cândido de Oliveira e Silva), do Serviço Nacional de Lepra (Diretor: Dr. João Baptista Risi), Brasil. Apresentado à I Conferência Interamericana de Leprologia Experimental, junho 1961, Buenos Aires, Argentina.

** Professor de Clínica Dermatológica e Sifiligráfica na Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Técnico do Instituto de Leprologia.

com o fato de que entre os ratos examinados, havia uns que, apesar de terem enfartamento ganglionar, não apresentavam sintomas de peste e os exames bacteriológicos mostravam-se sistematicamente negativos para aquela doença. Ocorreu-lhe então fazer colorações pelo método de Ziehl-Neelsen; ficou surpreso com a presença de grande número de bastonetes álcool-ácido resistentes em material daqueles ratos. Verificou ainda que a incidência era de 5% entre os ratos examinados. A vista dos aspectos clínicos apresentados e da presença sistemática de numerosos bastonetes álcool-ácido resistentes encontrados, Stefansky publicou esse achado novo, em 1903, sob o título "Uma doença lepróide da pele e gânglios dos ratos de esgôto".

Dean¹⁴, independentemente do conhecimento do trabalho de Stefansky, trabalhando também em profilaxia da peste, no Distrito de Elstree, Hartford, Inglaterra, teve a oportunidade de constatar o mesmo fato; os resultados da sua observação foram publicados na mesma revista, algumas semanas depois do trabalho original de Stefansky, sob o título: "Uma doença do rato causada por um bacilo Acido-resistente".

Lydia Rabinowitsch⁴⁹, que tivera a oportunidade de acompanhar os estudos de Stefansky, ao voltar a Berlim, constatou idêntica doença nos ratos de esgôto daquela cidade. O seu trabalho antecedeu de algumas semanas o de Dean.

Desde então, essa doença dos ratos tem sido encontrada em inúmeros países. A lepra murina é, pois, uma doença natural do rato, produzida pelo *Mycobacterium lepraemurium*. Em um sentido mais amplo poderíamos também defini-la como uma doença produzida pelo *Mycobacterium lepraemurium* nos ratos, in natura, e, nos camundongos e hamsters, artificialmente.

Várias centenas de trabalhos têm sido publicadas sobre essa doença que se convencionou chamar de *lepra murina*.

O interesse despertado em patologia humana, por essa doença de um roedor, decorre do fato da sua semelhança com a lepra humana, o que tem induzido uma série de investigações visando aclarar os inúmeros problemas obscuros da infecção leprótica do homem.

III — CLÍNICA

A infecção natural murina tem certos aspectos clínicos semelhantes ao da lepra humana na sua forma lepromatosa. Até o presente, entretanto, não foram descritas, in natura, formas que se pudessem superpor as outras da lepra humana. No obstante, do ponto de vista experimental já poderíamos prever a possibilidade da existência da outra forma polar, a vista da resistência apresentada por certas raças de animais. Em interessante trabalho realizado recentemente, Kawaguchi³⁹ demonstrou a existência das duas formas polares em camundongos inoculados experimentalmente. Obteve esse resultado pela seleção de ragas com sensibilidade variável frente a inoculação do *M. lepraemurium*. Os casos tuberculóides apresentavam lesões pequenas e de limites bem nítidos, além de involuarem espontaneamente. Os casos lepromatosos apresentavam lesões maiores, de limites imprecisos, infiltrações difusas e com evolução fatal em 30 semanas. Conseguiram ainda converter L em T, com BCG.

IV — BACTERIOLOGIA E METABOLISMO

Os agentes etiológicos da lepra humana e da lepra murina pertencem ao gênero *Mycobacterium* e, portanto, ao lado de outras espécies patogênicas e saprófitas, apresentam características bacteriológicas comuns ao gênero.

Não obstante, êsses dois germes apresentam características comuns que os distinguem dos demais do gênero: são as únicas do gênero que não são cultiváveis em meios laboratoriais e que não são patógenas para outros animais; o *M. leprae* é um parasito obrigatório do homem enquanto que o *M. leprae murium*, que em natureza é um parasito exclusivo do rato selvagem, pode, entretanto, ser inoculado com sucesso em outros animais afins como o camundongo e o hamster. Aliás, a julgar pelas experiências recentes de Bergel^{4,5,6 e 7} e de Chatterjee¹¹, essa distinção entre os dois desaparece, pois que o *M. leprae* seria também patógeno a ratos e camundongos.

Uma série de interessantes trabalhos realizados por Hanks e Gray^{18, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37}, mostra o valor do metabolismo bacteriano em relação à infeciosidade do *Mycobacterium*; seus estudos realizados em lepra murina abrem evidentemente uma nova avenida em leprologia experimental, pois permitem prever, pelo estudo do metabolismo do germe, a sua capacidade infectante. Assim, por exemplo, a respiração e o H.T.C. (*hydrogen transfer capacity*) são severamente alterados pela junção de soro nativo ao germe e, em consequência, a capacidade infectante do mesmo torna-se bastante diminuída; por outro lado, a adição de sero-albumina e de autolisado de lêvedo ao germe melhora o seu H.T.C. e a sua respiração e, em consequência, sua capacidade infectante aumenta de maneira indiscutível.

O conceito de "Integridade metabólica" de Hanks³⁵ representa um evidente progresso na compreensão da patogenia do parasitismo intracelular que é, em última análise, o enigma maior das infecções lepróticas, tanto do rato como do homem. Os tipos de lepra tuberculóide e lepromatosa do homem, bem como a infecção dos ratos, quer na sua forma grave quer nos seus fracassos experimentais, e também a cronicidade dessas micobacterioses poderiam, pelo menos em parte, ter sua explicação na base desse conceito.

No que concerne à possibilidade de cultura do *M. leprae murium*, destacamos o trabalho recente de Rees⁵⁰, que conseguiu multiplicação do *M. leprae murium* em duas gerações de culturas de células; apesar da limitação dessa observação há que salientar os fundamentos em que a mesma se baseia e daí tirar conhecimentos básicos para a mesma tentativa com o *M. leprae*.

V — PATOGENIA

Na doença do homem, observamos três tipos reacionais e o borderline. No rato, entretanto, existiria apenas o tipo lepromatoso. Assim, do ponto de vista histopatológico, apenas o tipo lepromatoso humano seria comparável lepra murina. Neste particular constitui exceção o trabalho de Kawaguchi³⁹, com a identificação dos dois tipos polares de lepra no camundongo.

Ambas são doenças, por assim dizer, exclusivas do SRE. É o histiócito o elemento reatígeno em ambas. A célula leprosa de ambas nada mais é que um histiócito que, fagocitando o germe, é incapaz de destruí-lo; ao invés de agredir o germe, ao contrário, serve o seu citoplasma de meio de cultura; são germes que parecem multiplicar-se exclusivamente no interior dessas células. Essa simbiose germe-histiócito decorre de qualidade inerente ao germe ou à célula? Tudo leva a acreditar ser decorrente da célula; há numerosos fatos de observação que permitem atribuir o fenômeno ao elemento celular. A maneira de reagir do histiócito humano nos vários tipos de lepra parece ser uma condição celular. A mesma fonte de infecção pode originar em dois indivíduos diferentes os dois tipos polares: o tuberculóide e o lepromatoso; ora, o germe era o mesmo, o que diferiu foi a reação celular; no primeiro caso, o histiócito tem qualidades enzimáticas que provocam a use do germe, surgindo então o granuloma tuberculóide; chamariamos essa célula de histió-cito epitelióide (E); no segundo caso, o histiócito, ao contrário, permite a multiplicação do germe no seu interior, surgindo então a célula lepromatosa

(histiócito L). Essa dualidade de reação parece-nos ser constitucional; a grande maioria das populações é portadora de histiócito tipo E; apenas uma minoria, provavelmente uns 5%, tem histiócitos tipo L. A resposta ao antígeno lepromínico mostra bem esses dois tipos reacionais independentes e específicos para cada indivíduo. Fazem exceção a essa regra os pacientes *borderline* que fazem ao mesmo tempo as duas estruturas polares; nesses indivíduos há ao mesmo tempo os dois tipos de histiócitos: o E e o L. Ora o antígeno não variou e portanto a dualidade reacional dependeu do tipo histiocitário daquele determinado indivíduo. A patologia comparada nos fornece elementos interessantes; assim o histiócito do cobaio é sempre do tipo E frente tanto ao *M. leprae* como ao *M. leprae murium*; o mesmo não acontece com o rato e o camundongo que demonstram sempre uma reação tipo L. Já o hamster fica numa posição intermediária, pois apresenta células tipo E nas lesões recentes e do tipo L nas tardias, segundo Hadler e Ziti²⁶. Esses fatos falam em favor de que as diferenças reacionais são inerentes à célula e não ao germe. Por outro lado, ha alguns dados de observação, se bem que de menor importância, que parecem evidenciar um certo papel de atividade do germe. Assim, a inoculação de várias espécies de micobactérias na cavidade geral da larva da *Calterla mellonella*¹², mostra que o *M. leprae* e o *M. leprae murium* resistem à ação enzimática dos fagócitos muito mais que as outras espécies do gênero *Mycobacterium*, o que demonstra que a sua constituição química e a sua biologia dificultam a ação lítica celular. Por outro lado, Hadler²² demonstrou 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". Trabalhando com o *M. leprae* e o *M. leprae murium* em cobaios e ratos submetidos a uma série de substância (DOCA, cortisona), pôde esse autor determinar no rato o aparecimento de histiócito tipo E e no cobaio o de tipo L.

Do mesmo modo, as interessantes experiências de Yukawa⁶⁰ mostram que a estrutura simbiótica (L) e a estrutura granulomatosa (T), depende-riam de hormônio das glândulas salivares. Experimentalmente, pôde provocar com a inoculação do *M. leprae murium*, a formação de granuloma tuberculóide, contendo apenas raros bacilos, em ratos que tinham recebido injeções de hormônio salivar (ratos com hiperfunção do SRE devido à hipersialadenismo).

VI — IMUNOLOGIA

A falta de culturas de ambos os germes não tem permitido um estudo mais apurado da imunologia, o que poderia trazer conhecimentos de real valor à patologia dessas duas infecções.

Assim sendo, estudos imunológicos têm se baseado apenas no comportamento reacional da pele frente a antígenos grosseiros. Não obstante, o comportamento do antígeno lepromínico em face do doente de lepra é um fato sobre o qual, de maneira geral, concordam os autores: negatividade no lepromatoso e positividade no tuberculóide. Esse comportamento é tão característico que, na ausência de outros critérios mais fidedignos, é o mesmo, requisito indispensável para a identificação do *M. leprae*; na base dos conhecimentos atuais, qualquer que seja a sua origem (cultura ou material de inoculação), o germe que não tiver o mesmo comportamento do antígeno lepromínico não pode ser considerado como *M. leprae*. Ora, os antígenos preparados com o *M. leprae murium* e o *M. leprae* não funcionam da mesma maneira, o que, de certo modo, é um elemento diferencial de grande valor entre esses dois germes.

Não é impossível, entretanto, que o fracionamento antigênico desses germes venha a mostrar, no futuro, a presença de antígenos comuns; até agora, entretanto, são dois germes antigênicamente diferentes.

Inúmeros têm sido os trabalhos, quer no homem quer nos animais de laboratório, que mostram que o BCG é capaz de provocar a viragem do teste lepromínico^{1, 2 e 3} ou, como quer Hadler²² a indução de uma "resposta acelerada".

Na base dessa "viragem" ou "aceleração" e do valor do teste lepromínico, muitos autores são favoráveis ao uso da premunicação pelo BCG na profilaxia da lepra, por acreditarem que o mesmo aumenta a resistência à infecção leprotica.

Ao contrário do que ocorre na espécie humana, cujos indivíduos possuem histiócitos tipo E ou tipo L e, em raros casos, os dois tipos no mesmo indivíduo, o rato só possuiria (frente ao *M. legue* ou *M. leprae murium*) o histiócito tipo L. Seria, pois, o rato um animal inadequado para estudos neste particular. Não obstante, apesar de não se procurar nesses animais a viragem no sentido qualitativo (histiócitos tipo L em T), há, de qualquer maneira, certa modificação reacional conforme os achados seguintes:

1 — Hadler e Ziti²⁴ demonstraram que nos ratos previamente preparados com o BCG ou com o *M. leprae murium* e subseqüentemente inoculados com *M. leprae murium*, a resposta histológica difere um pouco dos animais controles; nos primeiros há formação de microabscessos e o aparecimento precoce de necrose indiscutível, o que não se observa nos controles.

2 — As observações de Azulay¹, de Hanks e Fernandez³⁸ e de Tani-mura⁵⁹ mostram que o rato, previamente preparado pelo BCG, quando inoculado com o *M. leprae murium*, produz uma infecção mais benigna que nos controles.

O aumento dessa resistência induzida não pode ser explicada na base da qualidade do histiócito, visto que o rato possuiria apenas histiócitos do tipo L. Esse aumento de resistência, nesses animais, não pode, portanto, ser medido pela reação lepromínica. Outros mecanismos, por estudar, poderão melhor aclarar o problema. Os mecanismos do aumento da resistência conferida pelo BCG e outros antígenos ao homem e ao rato devem ter, pelo menos em parte, outras explicações.

Há um ponto que nos parece interessante ressaltar: é o problema da dose do antígeno imunizante. Weiss e Dubos⁶² mostram que o maior obstáculo para imunizar camundongos contra a tuberculose reside na estreita margem existente entre as doses ótima e excessiva; com 2 mg de antígeno conseguiam o ótimo de proteção; entretanto, com 3 mg a resistência, em vez de ser aumentada, era, pelo contrário, diminuída enormemente. O mesmo fato tivemos a oportunidade de constatar nas nossas experiências com BCG em cobaios³, isto é, a viragem da reação lepromínica em cobaias inoculadas com BCG, atinge o máximo com certa dose de BCG e caía quando se aumentava a dose de BCG.

Hadler e Ziti²⁸ demonstraram que "a vacinação prévia com o BCG altera o ritmo evolutivo da infecção experimental pelo *M. leprae murium* no hamster"; esse resultado paradoxal pode muito bem encontrar sua explicação no fator dose vacinante.

VII — INOCULAÇÃO EXPERIMENTAL

Inúmeras experiências têm sido realizadas no sentido da produção de lepra experimental. Das mesmas há a ressaltar os seguintes fatos :

1 — As inúmeras inoculações do *M. leprae* no homem têm sido negativas.

2 — As inoculações do *M. leprae* em inúmeros animais de laboratório têm fracassado.

3 — Bergel^{4, 5, 6 e 7} e Chatterjee¹¹, em trabalhos experimentais informam terem conseguido inoculações positivas do *M. leprae* em ratos com dieta prooxidante e em camundongos pretos híbridos, respectivamente.

4 — As inoculações do *M. leprae murium* em animais de laboratório só têm se mostrado positivas exclusivamente em ratos, camundongos e hamsters.

5 — No que diz respeito à lepra murina, tem-se observado raças de animais mais resistentes e outras mais sensíveis às inoculações.

6 — Dois soldados americanos tatuados no Pacífico, na mesma ocasião e pela mesma pessoa, tiveram *in loco* lepra tuberculóide⁴⁸.

7 — Casos de lepra humana adquirida por inoculações acidentais⁴⁶.

Não vamos discutir todos os argumentos capazes de interpretar os dados acima relatados, pois seria alongar-nos demais.

Desejamos, entretanto, chamar a atenção para os trabalhos sobre inibidores extracelulares^{31, 34, 35 e 37} e parasitismo intracelular^{33, 44, 54, 56, 57 e 61}, por parecerem básicos no que diz respeito aos problemas de inoculação experimental.

Inúmeros trabalhos demonstram que o soro nativo e os líquidos tissulares inibem o desenvolvimento do *M. leprae murium* por provocarem sérias alterações no seu metabolismo. Assim, quando se faz uma inoculação de material proveniente de outro animal, a suspensão contém, além dos germes, debris celulares, soro e líquido tecidual que têm ação agressiva imediata sobre o *Mycobacterium*; no animal inoculado essa agressão vai aumentar em consequência do contato do inóculo com o soro e líquido tecidual (inibidores extracelulares) do animal inoculado antes de se processar a fagocitose; só então é que o germe no interior do fagócito se vê protegido contra as agressões extracelulares, podendo então desenvolver-se, visto ser um germe de parasitismo obrigatoriamente intracelular. Baseado nessas interessantes observações obtidas em lepra murina experimental é que Chatterjee¹¹ conseguiu a inoculação do *M. leprae* em camundongos pretos híbridos; seu inóculo proveniente de material humano lepromatoso foi lavado e centrifugado seletivamente de modo a torná-lo livre, tanto quanto possível, dos tecidos e sucos teciduais (inibidores extracelulares); nas passagens sucessivas usou a mesma técnica.

Os trabalhos sobre parasitismo intracelular realizados com o *M. tuberculosis*^{43, 44, 45, 54, 55, 56 e 57} fornecem indubitáveis subsídios ao mecanismo das infecções leprosas, quer do rato quer do homem, por serem ambas doenças intracelulares por excelência.

Por meio de técnicas engenhosas conseguiu-se artificialmente confinar o *M. tuberculosis* a uma situação intracelular. Dos vários fatos observados nessa situação destacamos os seguintes:

1 — As amostras virulentas e atenuadas multiplicam-se com facilidade e igualmente no interior dos macrófagos, porém, a agressão à célula é mais intensa nos virulentos do que nos atenuados.

2 — As amostras avirulentas não se multiplicam intracelularmente, e também não produzem agressão celular.

3 — Fagócitos de animais vacinados inibem a multiplicação in-tracelular.

4 — Soro de animal normal ou vacinado não tem a menor influência na multiplicação do germe no interior do macrófago.

5 — Inicialmente os germes multiplicam-se no interior dos fagócitos, porém, em seguida são inibidos; êsse momento coincide com o estabelecimento da alergia tuberculínica.

Ê evidente que não podemos transportar para o campo da leprologia experimental todos êsses achados; porém, servem de base a certas interpretações. Assim, na forma tuberculóide haveria a multiplicação do germe no interior do fagócito, cuja sensibilização específica conduziria a rotura celular com liberação do germe; êste ficaria, então, em condições extracelulares, e, portanto, sujeito aos inibidores extracelulares e assim explicar-se-ia nessa forma de lepra, o seu número reduzido de germes e a sua positividade lepromínica. Na forma lepromatosa, o fagócito não se sensibilizaria por uma condição inerente ao mesmo (possivelmente genética); o germe multiplicar-se-ia sem qualquer dificuldade no interior da célula e assim explicar-se-ia, nessa forma, a tremenda quantidade de germes e a negatividade lepromínica.

Essa interpretação encontra apoio nas experiências de Hanks^{29 e 30} sôbre cultura de fibroblastos originários de lepromatosos e de tuberculóides; no primeiro caso, os fibroblastos parecem indiferentes à presença do micobactério, ao passo que no segundo caso os germes são reduzidos a fragmento álcool-ácido resistente, ao mesmo tempo que o fibroblasto assume aparência epitelóide.

Além dêsses aspectos, há que salientar os fenômenos específicos de adaptação e resistência adquiridas. Hanks³¹ demonstrou que uma amostra de *M. leprae murium* proveniente de rato, em passagens sucessivas em camundongo, tornava-se menos virulenta ao rato e vice-versa, salientando, assim, o valor dessa adaptação específica. Nesse mesmo trabalho demonstrou que "ratos infetados podem adquirir um notável grau de resistência durante o curso de uma infecção estabelecida pela inoculação de grande número de bacilos em múltiplos pontos cutâneos".

Nesta altura já podemos tentar compreender os insucessos e sucessos relativos das inoculações referidas acima.

As inoculações acidentais (tatuagem, picada de agulha infetada, etc.), verificadas em lepra humana poderiam encontrar explicações na qualidade do inoculo (poucos germes que seriam logo fagocitados) e, praticamente, ausência de debris celulares e humorais ou seja de inibidores extracelulares.

O recente trabalho de Kato^{38a}, com a técnica do MET (macrophage exsudate technique), ao mesmo tempo que corrobora as observações de Hanks, abre uma nova avenida nas inoculações experimentais em lepra. Por inoculação de glicogenia na cavidade peritoneal de cobaios, conseguiu produzir um exsudato rico em macrófagos; em seguida diminuiu a resistência do animal com um anti-histamínico ou com um inibidor do complemento. Nos cobaios assim preparados injetou o homogenizado de *M. leprae murium* (livre dos inibidores extracelulares), de modo que o germe fôsse imediatamente fagocitado pelos leucócitos e assim diminuiu ao máxima a ação dos inibidores extracelulares da cavidade peritoneal dos cobaios; com 8 semanas apenas formou-se na cavidade do cobaio um granuloma estruturalmente semelhante ao da lepra do rato. Foi mais longe : conseguiu passagens em série e retro-inoculação positiva em ratos. Assim, por um artifício de técnica, o histiócito do cobaio deixou de ser do tipo E para ser do tipo L. esta a primeira vez que se consegue a transmissão da lepra murina ao cobaio.

Segundo Domagk¹⁵, a lepra murina não serviria como teste para a pesquisa de drogas antilepróticas. Não obstante, na ausência de melhor teste, vários autores têm opinião diferente.

Tanimura e colaboradores⁵⁹, comentam que a maioria das drogas anti-lepróticas tem sido utilizada à vista de sua eficácia antituberculose, e, em conseqüência, seja possível o desperdício de algumas substâncias de provável ação antileprótica. Daí, acharem que a lepra murina deva ser usada para a descoberta de novas drogas antilepróticas.

Os resultados das observações experimentais com substâncias terapêuticas em lepra murina têm sido discordantes em muitos aspectos. O fato se deve indubitavelmente às variações de técnica: doses, vias de inoculação, quantidade de inóculo, tempo de experiência, critério de avaliação, etc., têm variado enormemente nos trabalhos sôbre o assunto. Em conseqüência, surgiram técnicas padronizadas de modo a tornar comparáveis os resultados; neste particular desejaríamos destacar as técnicas usadas por Tanimura e colaboradores⁵⁹ e por Chang¹⁰; muito embora possam elas ter suas deficiências e imperfeições, devem ser levadas na sua devida consideração, pois visam a simplificação do problema.

Sendo ambas as infecções — humana e murina — doenças de parasitismo intracelular, chamamos a atenção para os trabalhos quimioterápicos realizados com outros germes (*Salmonelas*, *W. tuberculosis* e *Brucellas*) em culturas celulares^{43, 44, 45, 51}.

Já em 1916, Rous e Jones⁵¹ haviam demonstrado que a *Salmonela typhi*, quando no interior dos fagócitos ficava protegida contra a ação bactericida do imuno-soro específico. Mais recentemente, vários trabalhos realizados com o *M. tuberculosis* e *Brucellas* demonstram a mesma ação protetora da fagocitose a certas drogas incapazes de penetrar no interior dos fagócitos, como a estreptomycin e o PAS; ao contrario, a isoniazida penetraria no fagócito e seria tão efetiva como se o germe estivesse em situação extracelular.

Essas experiências devem estar presentes na mente daqueles que se dedicam à terapêutica antileprótica; ainda mais essas experiências mostram que as combinações de agentes quimioterápicos são mais eficientes do que quando usados isoladamente.

É verdade que, se compararmos os efeitos das inúmeras drogas, utilizadas nas infecções humana e murina, verificar-se-á que nem sempre os resultados se superpõem. A isoniazida é um bom exemplo: excelente ação antileprótica no rato e de diminuta eficácia na lepra humana. Aqui, entretanto, cabe a pergunta : Seria essa diferença realmente específica ou decorreria de outros fatores ainda não bem determinados? O trabalho de Bushby e Barnett⁸ é sugestivo neste particular. Verificaram que a elevada eficácia da isoniazida na lepra murina é apenas temporária, isto é, se faz sentir nos primeiros meses; quando, porém, a observação se prolonga, todos os animais morrem vítimas de infecção maciça e isso porque, teriam os germes adquirido resistência à isoniazida. Esta conclusão obtida na experimentação murina poderia ser aplicada à lepra humana cuja falência terapêutica final com a isoniazida seria interpretada na base da instalação de resistência à droga. A ser verdade esse raciocínio, a isoniazida teria o seu valor na terapêutica antileprótica, quando associada a outros agentes, tal como aconteceu na tuberculose.

Não há dúvida de que o DDS é ativo em lepra humana; porém, a larga observação demonstra que é necessário tratamento prolongado, isto é, vários anos para que se possa alcançar algum êxito. Esses fatos encontram base em trabalho experimental na lepra murina. Hadler e Ziti²⁷, em suas expe-

riências em lepra murina, pensam que a ação do DDS se faça sentir sobre a vitalidade do germe e que essa droga tem mais ação sobre as lesões já desenvolvidas, do que sobre as lesões em formação. Em consequência, a eficiência do DDS em lepra murina só surge quando a observação é longa; essa é a razão pela qual a maioria dos trabalhos experimentais nega grande eficácia ao DDS em lepra murina. Estes fatos mostram, por outro lado que, nem sempre a avaliação terapêutica pode obedecer técnicas rápidas, como sugerem, também judiciosamente, outros autores^{10 e 59}.

RESUMO

Procuramos fazer um estudo comparativo entre lepra murina e lepra humana do ponto de vista clínico, bacteriológico, patológico, imunológico, de inoculação experimental e terapêutica.

Concluimos que, na impossibilidade de melhores meios, a lepra murina apresenta um meio de real valor para o estudo e compreensão dos vários enigmas da infecção humana.

Como elementos básicos que devem, pelo menos até certo ponto, nortear as pesquisas, destacamos os seguintes :

1 — Melhorar os conhecimentos sobre metabolismo micobacteriano, representado pela respiração, HTC e outros, visando aumentar a capacidade infectiva do germe.

2 — Descobrir novas técnicas capazes de diminuir ao máximo ou anular a ação dos inibidores extracelulares.

3 — Empregar mais largamente a técnica do MET e procurar aperfeiçoá-la.

4 — Melhorar os conhecimentos sobre parasitismo intracelular.

5 — Tentar criar, por cruzamento, espécies mais sensíveis ou mais resistentes de animais de laboratório as infecções por micobactérias.

6 — Investigar a importância das dietas prooxidantes nas inoculações experimentais.

SUMMARY

We have tried to make a comparative study between murine and human leprosy, under the following points of view: clinical, bacteriological, pathological, immunological, experimental inoculations and therapeutical.

We have concluded that, up to now, murine leprosy represents the best tool for the study and understanding of the several enigmas of the human infection.

As basic elements for future studies we emphasize the following:

1 — To improve the knowledge about the mycobacteria metabolism in order to increase the infectiuouness of the germ.

2 — To discover new techniques either to decrease or to abolish the extracellular inhibitors.

3 — To improve the macrophage exsudate technique and to try it more and more.

4 — To improve our knowledge about the intracellular parasitism.

5 — To get by inbred new strains of animals having different degrees of resistance to *Mycobacterium*.

6 — To investigate the importance of the prooxidant diet in experimental inoculations.

BIBLIOGHAFIA

1. AZULAY, R. D. — The protective role of BCG in murine leprosy. Internat. J. Leprosy, **22**: (1):61, 1954.
2. AZULAY, R. D.; MOURA, A. & MOURAO, G. — A viragem da reação lepro-mínica pelo BCG administrado aos doentes lepromatosos em condições clinico-bacterioscópico-histopatológicas de "transferência para dispensário". Rev. Brasil. Leprol. **20**(3/4):178, 1952.
3. AZULAY, R. D.; NEVES, R. G. & AZULAY, J. D. — A reação lepromínica em cobaios após previa inoculação do BCG e de *M. tuberculosis* morto por irradiação. Rev. Brasil. Leprol. **27**(2):81, 1959.
4. BERGEL, M. — Inoculación del *Mycobacterium leprae* a ratas alimentadas con dietas prooxidantes. I. Resultados bacteriológicos hasta los siete meses de la inoculación. Sem. Méd. **111**:480, 1957.
5. BERGEL, M. — Inoculación del *Mycobacterium leprae* a ratas alimentadas con dietas prooxidantes. II. Resultados bacteriológicos hasta los diez meses de la primera reinoculación. Sem. Méd. **111**:1148, 1957.
6. BERGEL, M. — Inoculación del *Mycobacterium leprae* a ratas alimentadas con dietas prooxidantes. III. A) Resultados bacteriológicos hasta los cinco meses de la segunda reinoculación. B) Especificidad biológica de los bacilos acidorresistentes hallados a los siete meses de la segunda reinoculación. Sem. Med. **111**:1313, 1957.
7. BERGEL, M. — Animal lepromin with leprosy bacilli from infected rats. Preparation and comparative study with human lepromins. Internat. J. Leprosy **27**(11):59, 1959.
8. BUSHBY, S. II. M. & BARNETT, M. — Isoniazid-resistance in murine leprosy. Intern. J. Leprosy **21**(4):467, 1953.
9. CARPENTER, C. M. — Murine leprosy; its usefulness as an experimental infection. Ann. N.Y. Acad. Sci. **54**:101, 1951.
10. CHANG, Y. T. — Chemotherapy of murine leprosy. I. The use of mouse leprosy as the chemotherapeutic test. Internat. J. Leprosy **21**(1):47, 1953.
11. CHATTERJEE, K. R. — Experimental transmission of human leprosy infection to a selected laboratory-bred hybrid black mouse. VII Internat. Cong. Leprol Tokyo, 1958, Trans. p. 67.
12. CHAUSSINAND, R. — À propos des essais de culture du bacille de la lèpre Ann. Inst. Pasteur **73**(51):433, 1947.
13. CHAUSSINAND, R. — L'infection murine due au bacilli de Stefansky n'est pas une "lepre". Bull. Acad. Nat. Med. **132**:486, 1948.
14. DEAN, G. — A disease of rats caused by an acid-fast bacillus. Zbl. Bakt. **34**:222, 1903.
15. DOMAGK, G. — The chemotherapy of tuberculosis with thiosemicarbazones. Colloquium on the chemotherapy of tuberculosis. Med. Res. Council. (Dublin) 1951, p. 136.
16. DUBOS, R. J.; PIERCE, C. H. & SCHAEFER, W. B. — Antituberculous immunity induced in mice by vaccination with living cultures of attenuated tubercle bacilli. J. Exp. Med. **97**:207, 1953.
17. GRAU TRIANA, J. — Nuevo fundamento y técnica para el cultivo del *Mycobacterium leprae*. Rev. Leprol. Derm. Sif. Marianão **1**:230, 1944.
18. GRAY, C. T. — The respiratory metabolism of murine leprosy bacilli. J. Bact. **64**:305, 1952.
19. HADLER, W. A. — Estudo histológico das lesões de lepra murina em invo-lução. Rev. Brasil. Leprol. **19**(2):75, 1951.
20. HADLER, W. A. — Comportamento do cobaio e do rato normais, injetados com "Lepromina" por via intradérmica. Rev. Brasil. Leprol. **21**(3):185, 1953-
21. HADLER, W. A. — Estudo comparado das lesões provocadas pela injeção intradérmica de suspensões de *M. leprae* e *M. tuberculosis* em cobaios normais. Rev. Brasil. Leprol. **21**(4):315, 1953.
22. HADLER, W. A. — Observações fornecidas pela experimentação aplicada. Rev. Brasil. Leprol. **25**(4):323, 1957.
23. HADLER, W. A.; CARVALHO, C. M. & MAURI, A. C. — Quimioterapia da lepra. III. Ação de compostos estruturalmente relacionados ao 4,4' - diamino-

- difenilsulfona na lepra murina (sulfóxido, sulfeto, benzofenona e amina). Rev. Brasil. Leprol. **20**(2):116, 1952.
24. HADLER, W. A. & ZITI, L. M. — Estudo da reação da lepromina no rato previamente inoculado com *M. lepraemurium* e com *M. tuberculosis* (BCG). Rev. Brasil. Leprol. **23**(1/4):53, 1955.
25. HADLER, W. A. & ZITI, L. M. — Algumas observações sobre o modo de ação do 4,4'-diaminodifenilsulfona na lepra murina. Rev. Brasil. Leprol. **24**(1/2): 56, 1956.
26. HADLER, W. A. & ZITI, L. M. — Histological reactions produced by experimental inoculation of *Mycobacterium lepraemurium* into the golden hamster (*Cricetus auratus*). Internat. J. Leprosy **24**(3):297, 1956.
27. RADLER, W. A. & ZITT, L. M. — Modo de ação da diidrostreptomocina e do 4,4'-diaminodifenilsulfona na lepra murina. Rev. Brasil. Leprol. **26**(1):33, 1958.
28. HADLER, W. A. & ZITI, L. M. — BCG action upon the evolutive rate of the disease shown by the golden hamster (*Cricetus auratus*) experimentally in-fected with *Mycobacterium lepraemurium*. Rev. Brasil. Leprol. **26**(1):11, 1958.
29. HANKS, J. H. — The fate of leprosy bacilli in fibroblasts cultivated from lepromatous lesions. Internat. J. Leprosy **15**(1):48, 1947.
30. HANKS, H. — The fate of leprosy bacilli in fibroblasts cultivated from macular and tuberculoid lesions. Internat. J. Leprosy **15**(1):31, 1947.
31. HANKS, J. H. — Three factors which may influence the experimental transmission of leprosy. Internat. J. Leprosy **18**(1):33, 1950.
32. HANKS, J. H. — Measurement of the hydrogen transfer capacity of mycobacteria. J. Beet. **62**:521, 1951.
33. HANKS, J. H. — The implications of Suter's review of Intracellular parasitism with respect to the problem of leprosy. Internat. J. Leprosy **22**(1):12, 1954.
34. HANKS, J. II. — Influence of physical and chemical factors on the hydrogen transfer capacity of murine leprosy bacilli. Internat. J. Leprosy **22**(2):162, 1954.
35. HANKS, J. H. — Relationship between the metabolic capacity and the infectiousness of *M. lepraemurium*; refrigeration studies. Internat. J. Leprosy **22**(4):450, 1954.
36. HANKS, J. H. & GRAY, C. T. — The application of metabolic studies to leprosy research. Internat. J. Leprosy **22**(2):147, 1954.
37. HANKS, J. H. & GRAY, C. T. — Extracellular inhibitors in leprotic Infections and their role as barriers to experimental transmission. Internat. J. Leprosy **22**(4):461, 1954.
38. HANKS, J. H. & FERNANDEZ, J. M. M. — Enhancement of resistance to murine leprosy by BCG plus specific antigen. Internat. J. Leprosy **24**(1):65, 1956.
- 38a. NATO, L. — Experimental transmission of murine leprosy to the guineapig by means of induced macrophage exsudate and supression of the natural defense mechanism. Internat. J. Leprosy **25**(3):193, 1957.
39. KAWAGUCHI, Y. — Classification of mouse leprosy. Jap. J. Exp. Med. **29**:651, 1959.
40. LINHARES, H. — Verificação da lepra murina na cidade do Rio de Janeiro. Mem. Inst. O. Cruz **37**(3):353, 1942.
41. LINHARES, H. — Estudo sobre a célula leprosa do rato. Mem. Inst. O. Cruz **40**(2):183, 1944.
42. LURIE, M. B. — Experimental tuberculosis, bacillus and host. Edited for the Ciba Foundation for G. E. Woestenholm. London, J. & Churchill, 1955.
43. MACKANESS, G. B. — The action of drugs on intracellular tubercle bacilli. J. Path. Bact. **64**:429, 1952.
44. MACKANESS, G. B. & SMITH, N. — The action of isoniazid (isonicotinic acid hydrazide) on Intracellular tubercle bacilli. Amer. Rev. Tuber. **66**:125, 1952.
45. MACKANESS, G. B. & SMITH, N. — The bacterial action of isoniazid, streptomycin and terramycin on extracellular and intracellular tubercle bacilli. Amer. Rev. Tuber. **67**:322, 1953.
46. MARCHOUX, R. — Un cas d'inoculation accidentale du bacille de Hansen en pays non lepreux. Internat. J. Leprosy **2**:1, 1934.
- 46a. MUDROW-REICHENOW, L. — Die Rattenlepra als chemotherapeutisches Testobjekt. Z. Tropen med. Parasit. **6**:460, 1955.
47. NOEL, R. & MARIE-SUZANNE, Soeur — Etude histologique des lesions provoquées chez le rat sauvage par l'inoculation de bacilles de Hansen. Internat. J. Leprosy **18**(4):493, 1950.
48. PORRITT, R. J. & OLSEN, R. E. — Two simultaneous cases of leprosy developing in tattoos. Amer. J. Path. **23**:805, 1947.

49. RABINOWITSCH, L. — Ueber eine durch sarefeste Bakterien hervorgerufene Hauterkrankung der Ratten. Zbl. Bakt **33**(8):577, 1903.
50. REES, R. J. W. — The study of rat leprosy in tissue culture as an approach to propagating human leprosy bacilli in vitro. VII Internat. Congr. Leprosy, Tokyo, 1958, p. 47.
51. ROUS, P. & JONES, F. S. — The protection of pathogenic microorganism by living tissue cells. J. Exp. Med. **23**:601, 1916.
52. SOUZA ARAUJO, H. C. — Morfologia do *Mycobacterium leprae hominis* e do *M. leprae maris*. Estudo baseado na microscópia eletrônica e de contraste de fases. VI Cong. Int. Leprol., Madrid, 1953. Mem., 1954, pp. 843-847.
53. STEFANSKY, W. K. — Eine Lepraähnliche Erkrankung der Haut und der Lymphdrüsen bei Wanderratten (*Mus decumanus*). Zbl. Bakt. **33**(7):481, 1903.
54. SUTER, E. — Multiplication of tubercle bacilli within phagocytes cultivated in vitro, and effect of streptomycin and isonicotinic acid hydrazide. Amer. Rev. Tuberc. **65**:775, 1952.
55. SUTER, E. — The multiplication of tubercle bacilli within normal phagocytes in tissue culture. J. Exp. Med. **96**:137, 1952.
56. SUTER, E. — Multiplication of tubercle bacilli within mononuclear phagocytes in tissue cultures derived from normal animals, and animals vaccinated with BCC. J. Exp. Med. **97**:235, 1953.
57. SUTER, E. — Some aspects of intracellular parasitism of pathogenic microorganisms. A review. Internat. J. Leprosy **22**(1):1, 1954.
58. TANIMURA, T. & NISHEVRJRA, S. — A review of recent animal inoculation studies with human and murine leprosy bacilli. Internat. J. Leprosy **21**(3):335, 1953.
59. TANIMURA, T.; NISHIMURA, S. & IWASA, K. — The screening test for chemotherapeutic agents for leprosy. Internat. J. Leprosy **27**(3):236, 1959.
60. YUKAWA, T. — Histopathological studies on the influence of salivary gland hormones upon the formation of the murine leproma. (I). Short period (7 wks) experimental observation on the large dose of subcutaneous inoculation of live muri-lepra bacilli. La Lepro **23**:201-213, 1959 (in Japanese). English abstract. Idem. (II). Moderate period (15 wks) experimental observation on the large dose of subcutaneous inoculation of live murilepra bacilli. Ibidem pp. 214-219. Idem. (III). Long period (25 wks) experimental observation on the moderate and small doses of subcutaneous inoculation of live murilepra bacilli. Ibidem pp. 220-232.
61. WADE, H. W. — Intracellular tubercle bacilli. Editorial. Internat. J. Leprosy **22**(3):349, 1954.
62. WEISS, D. W. & DUBOS, R. J. — Antituberculous immunity induced in mice by vaccination with killed tubercle bacilli or with soluble bacillary extract. J. Exp. Med. **101**:313, 1955.