

VIRAGEM DA LEPROMINO-REAÇÃO EM FUNÇÃO DE DIFERENTES ESTÍMULOS, INFLUÊNCIA DA IDADE, NESTA VIRAGEM, NO GRUPO ETÁRIO DE 6 A 43 MESES

SOUZA CAMPOS, N.*

LESER, W.**

BECELLI, L. M.***

QUAGUATO, R.****

ROTBURG, A.*****

(Instituto de Medicina Preventiva, Escola Paulista de Medicina; Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; Departamento de Profilaxia da Lepra de São Paulo).

OBJETIVO

A presente investigação teve como objetivo estudar a viragem da lepromino-reação de Mitsuda em função dos estímulos relacionados com os seguintes antígenos:

- 1 — BCG administrado por via oral
- 2 — BCG administrado por via intradérmica
- 3 — a própria lepromina

O trabalho desenvolveu-se em duas fases que serão descritas separadamente.

PRIMEIRA FASE

PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Material de estudo — 112 crianças internadas na creche Carolina M. Silva, sendo 56 de cada sexo e com idades que, ao iniciar-se a experiência, variavam entre 6 e 34 meses completos; tôdas apresentavam resultado negativo à tuberculino-reação de Mantoux na diluição de 1/100.

* Ex-Diretor do Departamento de Profilaxia da Lepra de São Paulo.

** Professor de Higiene da Escola Paulista de Medicina.

*** Professor de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, U.S.P.

**** Médico-Delegado do Departamento de Profilaxia da Lepra de São Paulo, em Campinas.

***** Professor de Dermatologia da Escola Paulista de Medicina.

Fatores relevantes — Foram admitidos como tais, para fins de planejamento e análise, o sexo e a idade.

Constituição de grupos — Resolveu-se organizar blocos de 4 crianças, do mesmo sexo e com idades ocupando postos sucessivos na ordenação por idade e sexo. Cada bloco incluía 4 crianças, para os três tratamentos previstos, e uma testemunha. Para isso, as crianças de cada sexo foram ordenadas por idade; as quatro mais velhas, do mesmo sexo, foram atribuídas, por sorteio, a um de quatro grupos: A, B, C e D; o mesmo processo repetiu-se para cada 4 crianças seguintes, até às 4 mais novas. Constituíram-se, assim, 14 blocos para cada sexo.

Sorteou-se, em seguida, que tratamento receberia cada um dos grupos A, B, C e D, assim constituídos. Como resultado desse processo de casualização, as médias de idades, para cada tratamento, em cada sexo, foram as constantes do quadro 1:

QUADRO 1 — Médias de Idades das crianças, em meses completos, segundo o sexo e o tratamento.

Tratamento Sexo	A BCG intradérmico	B lepromina	C BCG oral	D testemunha	Total
	Masculino	20,5	20,9	19,9	20,4
Feminino	20,2	20,5	20,7	20,4	20,5
Total	20,4	20,7	20,3	20,4	20,5

As crianças foram mantidas nos mesmos quartos e leitos que ocupavam no momento do sorteio.

Doses dos antígenos - BCG intradérmico : 0,1 ml de suspensão de BCG contendo 0,0001 g de bacilos (dose única). BCG oral: dose total de 600 mg, dividida em três partes, ministradas com intervalos de uma semana. Lepromina: três inoculações intradérmicas de 0,1 ml com intervalos de 1 mês.

As suspensões de BCG utilizadas, tanto para a via oral como para a via intradérmica, foram fornecidas pela Seção de BCG do Instituto Butantã, sob a direção da Dra. Jandira Planet Amaral; todas tinham controle positivo de viabilidade, tendo sido usadas no dia imediato ao do fornecimento. A lepromina foi preparada segundo a técnica de Mitsuda-Hayashi, utilizando-se, porém, a proporção mais recomendada presentemente, isto é, a de 1 g de tecido lepromatoso para 30 ml de salina fenicada; preparou-se uma grande partida, empregada em todas as fases da observação.

Fêz-se a leitura tardia, adotando-se o critério proposto pela II Conferência Panamericana de Leprologia (Rio de Janeiro, 1946) e ratificado pelo VII Congresso Internacional de Leprologia (Tôquio, 1958):

Negativa: ausência de qualquer reação local.

Duvidosa: endureção com diâmetro inferior a 3 mm.

Positiva fraca (+): endureção franca, de 3 a 5 mm.

Positiva moderada (++) : endureção nodular maior do que 5 mm.

Positiva forte (+++) : qualquer endureção que ulcere.

Em certo número de observados, por se tratar de crianças pequenas que dificultavam as injeções, estas não puderam ser feitas estritamente na derme; disso resultaram reações nodulares profundas, bastante acentuadas para que fôsem classificadas como +++, embora sem ulceração; em lugar desta, observou-se, porém, grau variável de flutuação, podendo-se extrair líquido por punção.

Seqüência experimental — A 23-8-60, cada criança do grupo A recebeu a dose única de BCG intradérmico; a cada criança do grupo B foi ministrada a primeira dose de lepromina e a cada uma do grupo C foi ministrada a primeira dose de BCG oral.

A 30-8 e 6-9 foram ministradas às crianças do grupo C a segunda e a terceira doses de BCG oral.

A 26-9 e 28-10, tôdas as crianças do grupo B foram inoculadas com a segunda e a terceira doses de lepromina.

A 24-11, tôdas as crianças, dos quatro grupos, foram inoculadas com a dose de lepromina para a reação de Mitsuda, cuja leitura foi realizada a 26-12.

Critério de leitura das reações de Mitsuda. Contrôles da subjetividade — Inexistindo a possibilidade de influência subjetiva dos tratamentos sobre as crianças, não havia necessidade de um planejamento duplamente cego; para afastar a possibilidade de influência subjetiva no que toca à leitura das reações, foram adotadas as seguintes cautelas:

a) todo o trabalho, até a inoculação final de lepromina, ficou a cargo de apenas um dos integrantes do grupo (R. Q.);

b) tôdas as inoculações parenterais de antígenos, com exceção da final de lepromina, foram feitas na região escapular; a inoculação final foi feita no antebraço, de forma que, por ocasião da leitura da reação de Mitsuda, não fôsse possível observar eventuais sinais de inoculações anteriores;

c) as leituras da reação de Mitsuda foram realizadas por três outros componentes do grupo (L. M. B., N. S. C. e A. R.); cada um anotou separadamente seus resultados, sendo as poucas divergências observadas resolvidas por reexame dos casos em que se verificaram.

RESULTADOS

Foram obtidos os resultados constantes do quadro 2, onde se encontram as leituras da reação de Mitsuda e a idade de cada criança, bem como a sua classificação segundo o sexo e o grupo experimental a que pertenciam.

O comportamento da reação de Mitsuda em função dos diferentes tratamentos, em cada sexo, pode ser melhor apreciado no quadro 3.

QUADRO 2 — Leituras da reação de Mitsuda e idade de crianças (em meses completos) classificadas segundo o sexo e o grupo experimental a que pertenciam.

MASCULINO							
A BCG intrad.		B lepromina		C BCG oral		D testemunha	
Idade	Leitura	Idade	Leitura	Idade	Leitura	Idade	Leitura
33	+	33	+	32	+	32	+
32	+++	32	++	31	$\begin{array}{c} + \\ \\ - \end{array}$	31	+
31	+	30	$\begin{array}{c} + \\ \\ - \end{array}$	30	+	31	+
30	+	30	++	29	+	29	$\begin{array}{c} + \\ \\ - \end{array}$
28	+++	28	+	28	++	29	$\begin{array}{c} + \\ \\ - \end{array}$
28	+	27	$\begin{array}{c} + \\ \\ - \end{array}$	27	+	27	+
19	+	25	+	17	+++	22	$\begin{array}{c} - \\ \\ - \end{array}$
16	+	16	$\begin{array}{c} - \\ \\ - \end{array}$	16	+++	17	$\begin{array}{c} - \\ \\ - \end{array}$
16	+++	16	+	15	+++	15	$\begin{array}{c} + \\ \\ - \end{array}$
14	$\begin{array}{c} - \\ \\ - \end{array}$	15	$\begin{array}{c} + \\ \\ - \end{array}$	14	++	14	$\begin{array}{c} + \\ \\ - \end{array}$
13	++	12	$\begin{array}{c} + \\ \\ - \end{array}$	12	+	11	$\begin{array}{c} - \\ \\ - \end{array}$
11	++	11	$\begin{array}{c} - \\ \\ - \end{array}$	11	+++	11	$\begin{array}{c} - \\ \\ - \end{array}$
10	+	10	$\begin{array}{c} + \\ \\ - \end{array}$	9	+++	10	$\begin{array}{c} - \\ \\ - \end{array}$
6	+	8	$\begin{array}{c} + \\ \\ - \end{array}$	8	+	7	$\begin{array}{c} - \\ \\ - \end{array}$

FEMININO							
A BCG intrad.		B lepromina		C BCG oral		D testemunha	
Idade	Leitura	Idade	Leitura	Idade	Leitura	Idade	Leitura
32	+++	32	+	32	+	34	$\left\{ \begin{array}{c} + \\ - \end{array} \right\}$
29	+++	31	+	30	+++	29	++
28	+	29	$\left\{ \begin{array}{c} - \\ - \end{array} \right\}$	28	+++	28	$\left\{ \begin{array}{c} - \\ - \end{array} \right\}$
26	+++	26	+	27	+	26	+
24	+	24	+	24	+	25	+
24	+	24	$\left\{ \begin{array}{c} + \\ - \end{array} \right\}$	23	$\left\{ \begin{array}{c} + \\ - \end{array} \right\}$	23	$\left\{ \begin{array}{c} + \\ - \end{array} \right\}$
23	+++	23	$\left\{ \begin{array}{c} + \\ - \end{array} \right\}$	23	+++	22	$\left\{ \begin{array}{c} - \\ - \end{array} \right\}$
18	$\left\{ \begin{array}{c} + \\ - \end{array} \right\}$	19	$\left\{ \begin{array}{c} + \\ - \end{array} \right\}$	21	+++	18	$\left\{ \begin{array}{c} + \\ - \end{array} \right\}$
18	+	18	$\left\{ \begin{array}{c} - \\ - \end{array} \right\}$	18	+++	17	$\left\{ \begin{array}{c} - \\ - \end{array} \right\}$
16	+++	16	+	17	+++	16	$\left\{ \begin{array}{c} - \\ - \end{array} \right\}$
14	+	14	$\left\{ \begin{array}{c} - \\ - \end{array} \right\}$	15	+++	16	$\left\{ \begin{array}{c} - \\ - \end{array} \right\}$
13	++	13	+	13	++	13	$\left\{ \begin{array}{c} - \\ - \end{array} \right\}$
11	++	10	$\left\{ \begin{array}{c} - \\ - \end{array} \right\}$	10	++	12	$\left\{ \begin{array}{c} + \\ - \end{array} \right\}$
7	+++	8	$\left\{ \begin{array}{c} + \\ - \end{array} \right\}$	9	+++	7	$\left\{ \begin{array}{c} - \\ - \end{array} \right\}$

QUADRO 3 — Crianças da creche, segundo o sexo, o tratamento e o resultado da reação de Mitsuda.

Tratamento Mitsuda	MASCULINO					FEMININO				
	A	B	C	D	Total	A	B	C	D	Total
—	1	2	0	7	10	0	4	0	7	11
+										
—	0	6	1	3	10	1	4	1	4	10
+	8	4	6	4	22	5	6	3	2	16
++	2	2	2	0	6	2	0	2	1	5
+++	3	0	5	0	8	6	0	8	0	14
Total	14	14	14	14	56	14	14	14	14	56

Tendo-se em vista, ainda, que as reações de maior intensidade (++ ou +++) constituiriam uma expressão mais significativa de resistência, os dados do quadro 3 podem ser condensados de forma a organizar-se o quadro 4, em que, convencionalmente, a expressão "Positiva" significa reações ++ ou +++ e a expressão "Negativa" inclui todos os demais resultados.

QUADRO 4 — Crianças da creche, segundo o sexo, o tratamento e o resultado da reação de Mitsuda.

Tratamento Mitsuda	MASCULINO					FEMININO				
	A	B	C	D	Total	A	B	C	D	Total
"Negativa"	9	12	7	14	42	6	14	4	13	37
"Positiva"	5	2	7	0	14	8	0	10	1	19
Total	14	14	14	14	56	14	14	14	14	56
% de "positivas"	35,7%	14,3%	50,0%	0,0%	25,0%	57,1%	0,0%	71,4%	7,1%	33,9%
Límites de confiança 95%	15,0% e 63,0%	3,0% e 39,0%	21,0% e 79,0%	0,0% e 21,0%	—	31,0% e 79,0%	0,0% e 21,0%	39,0% e 90,0%	0,0% e 31,0%	—

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Dada a natureza da variável, a que não se pode atribuir nível de mensuração superior ao ordinal, foram utilizados, exclusivamente, testes não paramétricos.

O nível de rejeição das hipóteses de nulidade foi fixado em 5%, incluído este valor na zona de aceitação.

Interessava, antes de mais nada, a comparação entre os quatro tratamentos, em cada sexo; com o planeamento adotado, impunha-se o teste de Friedmann, que forneceu os seguintes resultados para os dados do quadro 2:

$$\text{em meninos: } X_r^2 = 14,16 \text{ (P<0,01)}$$

$$\text{em meninas: } X_r^2 = 21,96 \text{ (P<0,001)}$$

Deixando de lado o grupo testemunha e efetuando o mesmo teste para os resultados dos três grupos que receberam antígenos, encontramos:

$$\text{em meninos: } X_r^2 = 7,96 \text{ (P<0,02)}$$

$$\text{em meninas: } X_r^2 = 12,96 \text{ (P<0,01)}$$

Assim, pode-se rejeitar a hipótese de igualdade de resultados da reação de Mitsuda nos quatro grupos experimentais, bem como nos três grupos que receberam antígenos.

QUADRO 5 — Comparação entre pares de tratamento: teste do sinal.

Sexo	Comparações	Nº de pares em que houve reações mais intensas no grupo				Nº de pares em que houve reações de igual intensidade nos dois grupos	P
		A	B	C	D		
Masculino	A × B	10	2	—	—	2	0,019
	A × C	3	—	5	—	6	0,363
	B × C	—	2	11	—	1	0,011
	B × D	—	8	—	2	4	0,055
Feminino	A × B	12	0	—	—	2	0,0002
	A × C	3	—	4	—	7	0,500
	B × C	—	0	10	—	4	0,001
	B × D	—	5	—	2	7	0,227

Para as comparações entre pares de tratamentos recorreremos, simplesmente, ao teste do sinal, confrontando resultados de reações, em cada bloco, para os dois tratamentos em causa. Os resultados são apresentados no quadro 5, para as comparações que interessavam.

Os valores encontrados para P são de ordem a permitir que se conclua que, ao nível de rejeição de 5%, os resultados da reação de Mitsuda são significativamente mais intensos nas crianças que receberam BCG do que nas que receberam repetidas injeções de lepromina.

Por outro lado, não diferem significativamente os resultados observados nas crianças que receberam BCG por via oral ou por via intradérmica; também não diferem significativamente os resultados apresentados pelas crianças do grupo testemunha dos verificados nas que receberam repetidas inoculações do antígeno de Mitsuda.

Passamos, em seguida, à comparação, ainda pelo teste do sinal, entre resultados em crianças de um e de outro sexo, em cada tratamento; para tanto, consideramos como pares as crianças que ocupavam, em cada sexo, postos iguais na ordenação de idades.

QUADRO 6 — Comparação entre os dois sexos, para cada tratamento.

Tratamento	Nº de pares em que houve reações mais intensas no sexo		Nº de pares em que houve reações de igual intensidade nos dois sexos	P
	Masculino	Feminino		
A	4	6	4	0,377
B	7	3	4	0,172
C	4	5	5	0,500
D	5	5	4	0,623

Não pode, assim, ser rejeitada a hipótese de igualdade de comportamento da reação, nos dois sexos, em cada um dos tratamentos.

Poderia acontecer, entretanto, que houvesse uma interação entre sexos e idade, ou seja, que reações mais intensas, em um sexo, ocorressem nas crianças mais jovens e as mais intensas, no outro sexo, nas crianças mais idosas; recorreremos ao teste do "chorrilho" (run test), obtendo as seguintes seqüências para as reações mais intensas:

Grupo A: F — F — M — F — M — M — F — M — F — F

Grupo B: M — M — M — M — F — M — F — M — F — M

Grupo C: F — F — M — M — F — F — M — M — F

Grupo D: M — F — M — F — F — M — F — M — M — F

Não pode ser rejeitada, em qualquer dos grupos, a hipótese de que as reações mais intensas, em um e outro sexo, ocorram em ordem casual.

Em face de tais resultados e tendo em vista o que já foi referido quanto ao significado das diferentes intensidades da reação, podemos resumir o quadro 4, alcançando o que se apresenta no quadro 7.

QUADRO 7 — Crianças da creche, segundo o tratamento e o resultado da reação de Mitsuda.

Tratamento Mitsuda	A	B	C	D	Total
"Negativa"	15	26	11	27	79
"Positiva"	13	2	17	1	33
Total	28	28	28	28	112
% de "positivos"	46,4%	7,1%	60,7%	3,6%	29,5%
Limites de confiança 95%	26,0% e 64,0%	1,0% e 22,0%	38,0% e 78,0%	0,0% e 17,0%	—

A análise dos dados do quadro 7, tanto para o valor total de χ^2 como para as parcelas de sua decomposição aditiva, encontra-se no quadro 8.

QUADRO 8 — Decomposição aditiva de χ^2 para os resultados da reação de Mitsuda nos quatro grupos.

Componentes	Graus de liberdade	χ^2	P
(A + C) × (B + D)	1	31,3188	< 0,001
A × C	1	1,3748	> 0,20
B × D	1	0,0859	> 0,70
Total	3	32,7794	< 0,001

Confirma-se, assim, que, no que toca ao percentual de reações de ++ ou +++ :

1) é significativamente maior nas crianças que receberam BCG (grupos A e C) do que nas que não receberam esse antígeno;

2) não é significativa a diferença entre as que receberam BCG por via oral ou por via intradérmica;

3) não é significativa a diferença entre as que receberam repetidas inoculações prévias do antígeno de Mitsuda e as do grupo testemunha.

Até este momento não se tomara em conta, na análise, a influência da idade, dado o tipo de planejamento em blocos.

Para abordar este aspecto, foram reunidas as crianças dos dois sexos em um só grupo, de acordo com as conclusões anteriores. Para cada um dos tratamentos foi calculado o coeficiente de correlação entre postos, de Spearman, entre idade e resultado da reação de Mitsuda, obtendo-se os resultados constantes do quadro 9:

QUADRO 9 — Coeficientes de correlação entre postos, de Spearman (r_s) entre idade e resultado da reação de Mitsuda, segundo os diferentes tratamentos.

Tratamentos	r_s	Significância
A (BCG intradérmico)	0,078	Não significativa
B (lepromina)	0,537	Significante ao nível de 1%
C (BCG oral)	-0,394	Significante ao nível de 5%
D (testemunha)	0,720	Significante ao nível de 1%

Estes resultados foram, em seu conjunto, surpreendentes; de fato, o planejamento deliberadamente não incluíra uma reação prévia de Mitsuda, exatamente para que não se pudessem atribuir a esse estímulo antigênico as positivas da reação que se verificassem nos grupos que viessem a receber BCG. A reação negativa à tuberculina excluía a possibilidade de uma tuberculinização prévia que se constituísse em estímulo antigênico evidenciável por essa prova, tendo-se porém incluído o grupo testemunha para averiguar a freqüência de positivas espontâneas, entendendo-se por tal as que ocorressem na ausência de estímulo antigênico conhecido. Não causa, então, surpresa, a correlação positiva encontrada no grupo testemunha entre idade e resultado da reação, sendo plausível que, com o aumento da idade, maiores sejam as oportunidades para a ocorrência de possíveis estímulos inespecíficos. De qualquer forma, tais estímulos não se traduziriam senão pelas reações ± ou + observadas nesse grupo, uma única vez encontrando-se uma reação ++.

Em tais condições, é perfeitamente compreensível, também, que o eventual estímulo decorrente das repetidas inoculações do antígeno de Mitsuda,

no grupo B, somando-se aos de ocorrência espontânea, forneça reações de intensidade crescente com a idade, ou seja, um coeficiente de correlação também positivo.

Com relação aos grupos A e C, que receberam o BCG por via intradérmica e oral, respectivamente, dever-se-ia esperar igual comportamento; eventualmente, se a eficiência do estímulo fôsse de tal ordem que conduzisse a reações de grande intensidade (+++) em tôdas ou quase tôdas as crianças, poder-se-ia compreender a inexistência de correlação.

Ora, no grupo C, observamos uma correlação negativa, significativa ao nível de 5%; no grupo A, sem que ocorra o alto percentual de reações de grande intensidade que explicaria o fato, o valor encontrado não difere significativamente de zero.

Fomos, assim, levados a apreciar a questão por outra forma; considerando a idade como a variável, dividimos as crianças de cada um dos grupos A e C em duas classes, uma incluindo as que apresentavam resultado "Positivo" (++) ou (+++) e a outra as que forneceram resultado "Negativo" (|-|, +|-| ou +).

Recorrendo ao teste U, não paramétrico, de Mann-Whitney, verificamos que:

- 1) não pode ser rejeitada, ao nível de 5%, a hipótese de que as idades das crianças com reação "Positiva" sejam iguais às das crianças com reação "Negativa", quando o BCG foi ministrado por via parenteral;
- 2) a idade das crianças com reação "Positiva" é significativamente menor, ao nível de 5% ($P = 0,02$), do que a das crianças com reação "Negativa", quando o BCG foi ministrado por via oral.

QUADRO 10 — Crianças da creche, segundo o tratamento (grupos A e C) e o resultado da reação de Mitsuda.

Idade \ Reação	Grupo A (BCG intradérmico)					Grupo C (BCG oral)				
	"Positiva"	"Negativa"	Total	% de "positivos"	Limites de confiança 95%	"Positivo"	"Negativo"	Total	% de "positivos"	Limites de confiança 95%
Menos de 24 meses	8	8	16	50%	27% e 73%	14	3	17	82%	58% e 95%
De 24 a 33 meses	5	7	12	42%	18% e 71%	3	8	11	27%	8% e 63%
Total	13	15	28	46%	—	17	11	28	61%	—

Uma apreciação genérica, resumida, dos principais fatos observados com relação a este aspecto é apresentada no quadro 10, em que as idades foram divididas em duas classes, a primeira incluindo as crianças dos grupos A e C com menos de 24 meses e a segunda as restantes, até 33 meses.

Antes de procurar formular hipóteses para explicação dos achados, pareceu conveniente uma segunda experiência confirmatória, pois poderia tratar-se da ocorrência casual de um evento raro.

Infelizmente, não havia disponível outro grupo de crianças nas condições das utilizadas, de forma que decidimos reaproveitar as que tivessem apresentado resultado "Negativo", independentemente do tratamento, concentrando a atenção no fato mais importante, ou seja, a relação entre idade e resultado da reação de Mitsuda após ministração de BCG por via oral.

SEGUNDA FASE

PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Material de estudo — Das 79 crianças com resultado "Negativo" puderam ser novamente utilizadas 64, por terem as demais abandonado a creche.

Fatores relevantes — Em função do que foi visto na experiência anterior, não se fez distinção entre sexos.

Seqüência experimental — A 20-5-61 tôdas as crianças receberam, por via oral, uma dose de BCG igual à anteriormente utilizada; a 27-5-61 foi ministrada a dose; a 3-6-61 deveria ser ministrada a 3ª, mas, por não ter sido a partida aprovada quando do contrôle, só o foi a 10-6-61. A 17-6-61 foi feita a reação de Mitsuda, com o mesmo antígeno anteriormente empregado. Foram feitas três leituras da reação — a 11-7-61, 23-8-61 e 209-61 — nos mesmos moldes da experiência anterior, não sendo levado em conta o problema da subjetividade, dado o fato de estarem tôdas as crianças no mesmo grupo, interessando agora, apenas, a relação do resultado com a idade.

RESULTADOS

No quadro 11 vemos os dados referentes a cada uma das 64 crianças, incluindo-se a idade (em meses completos) na data da primeira dose de BCG, o grupo a que haviam pertencido, o resultado da reação na primeira fase e, finalmente, o resultado apresentado na segunda fase.

Idade	Grupo na 1ª fase	Resultado na 1ª fase	Resultado na 2ª fase	Idade	Grupo na 1ª fase	Resultado na 1ª fase	Resultado na 2ª fase
15	A	+	++	17	C	+	+++
19	A	+	+++	21	C	+	++
22	A	+	++	32	C	[+]	++
23	A	[—]	++	33	C	+	++
27	A	+	++	36	C	+	+
27	A	[+]	++	36	C	+	+
28	A	+	+++	40	C	[+]	+
33	A	+	+++	40	C	+	+
33	A	+	+	16	D	[—]	+++
36	A	+	+++	16	D	[—]	+++
38	A	+	[+]	18	D	[—]	+++
17	B	[+]	+++	19	D	[—]	+++
17	B	[+]	++	20	D	[—]	++
19	B	[—]	+++	21	D	[+]	+++
19	B	[+]	++	21	D	[—]	++
20	B	[+]	+++	23	D	[+]	+++
22	B	+	++	24	D	[+]	+++
23	B	[—]	+++	24	D	[—]	+
24	B	[+]	+	25	D	[—]	+++
24	B	+	++	25	D	[—]	+++
25	B	[—]	+++	26	D	[—]	+++
25	B	+	+	27	D	[+]	+++
27	B	[—]	+++	31	D	[—]	++
28	B	[+]	+	31	D	[—]	+++
31	B	[+]	+	32	D	[+]	+++
32	B	[+]	+	34	D	+	+
33	B	+	+	35	D	+	+++
33	B	+	+	35	D	+	+++
34	B	+	++	36	D	[—]	[+]
36	B	[+]	[—]	37	D	[+]	[+]
37	B	+	+++	43	D	[+]	+
37	B	[—]	[+]				
41	B	+	+				

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Procuramos verificar, de início, se havia diferença de comportamento, na segunda fase da experiência, entre os resultados das crianças que haviam ou não recebido BCG na primeira; os dados foram, para isso, tabulados no quadro 12.

QUADRO 12 — Crianças da creche, segundo o tratamento recebido na primeira fase e o resultado da reação de Mitsuda na segunda fase.

Tratamento na 1ª fase	Mitsuda		Total	% de «positivos»
	«Positiva»	«Negativa»		
Receberam BCG	13	6	19	68,4%
Não receberam BCG	30	15	45	66,7%
Total	43	21	64	67,2%

Não é significante a diferença observada entre os percentuais de positividade na segunda fase.

Estudamos em seguida a associação entre os resultados da reação de Mitsuda na primeira e na segunda fase, como se vê no quadro 13.

QUADRO 13 — Crianças da creche, segundo os resultados da reação de Mitsuda ao fim da primeira e da segunda fase.

Mitsuda 1ª fase	Mitsuda 2ª fase		Total	% de «positivos»
	«Positiva»	«Negativa»		
—	16	3	19	84,2%
+	11	8	19	57,9%
—	16	10	26	61,5%
Total	43	21	64	67,2%

Sendo, neste caso, $\chi^2=3,618$, a hipótese de homogeneidade não pode ser rejeitada ($P>0,20$).

Feitas estas verificações preliminares, calculamos o coeficiente de correlação entre postos, de Spearman, obtendo: $r_s = -0,513$; a hipótese $p_s = 0$ pode ser rejeitada ao nível de 0,001.

Finalmente, comparamos as idades das crianças que apresentaram reação "Positiva" com as das que a tiveram "Negativa"; recorremos, para isso, ao teste U, de Mann-Whitney, verificando que a idade das crianças com reação "Positiva" é significativamente menor ($P < 0,001$) do que a das crianças com reação "Negativa".

Como foi feito para os dados da primeira fase, no quadro 10, podemos obter uma apreciação genérica dos fatos dividindo as idades em classes, agora três porque há crianças no 3.º ano de vida; temos, assim, o quadro 14.

QUADRO 14 — Crianças da creche, incluídas na segunda fase da pesquisa, segundo a idade e o resultado da reação de Mitsuda.

Idade \ Reação	«Positi- va»	«Negati- va»	Total	% de «positivos»	Limites de confiança 95%
Menos de 24 meses ...	21	0	21	100,0%	86% e 100%
De 24 a 35 meses	20	10	30	66,7%	48% e 83%
De 36 a 43 meses	2	11	13	15,4%	3% e 43%
Total	43	21	64	67,2%	—

RESUMO E COMENTÁRIOS

112 crianças, 56 de cada sexo, com idades variando de 6 a 34 meses, tuberculina-negativas, foram alotadas em quatro grupos experimentais, a saber:

Grupo A — recebeu uma dose de BCG por via intradérmica;

Grupo B — recebeu três inoculações do antígeno de Mitsuda com intervalos de 1 mês;

Grupo C — recebeu três doses de BCG por via oral, com intervalo de 1 semana;

Grupo D — testemunha.

O alotamento foi feito sorteando-se pelos quatro grupos as 4 crianças mais velhas de cada sexo, em seguida as 4 mais velhas das restantes e assim por diante.

Um mês após a última inoculação do antígeno de Mitsuda, foi feita a reação de Mitsuda em tôdas as crianças, sendo os resultados lidos por três leprólogos experimentados, independentemente, e sem conhecimento do grupo experimental a que pertencia cada criança.

Tôda a análise estatística foi feita por métodos não paramétricos. Seus resultados mostraram, desde logo, que não pode ser aceita, ao nível de 5% pré-fixado, a hipótese de igualdade de intensidade da reação nos quatro grupos. Verificando-se que pode ser aceita a hipótese de igualdade, quanto

à intensidade da reação, entre os sexos, e considerando que, do ponto de vista prático, interessa primordialmente a distinção entre reações expressas por ++ ou +++, de um lado, e por |—|, |—| ou +, de outro, os resultados da experiência podem ser resumidos como segue:

QUADRO 15

Grupo	Nº de crianças	% de reações (++ ou +++)
A — BCG intradérmico	28	46,4%
B _c — Lepromina	28	7,1%
C — BCG oral	28	60,7%
D — Testemunha	28	3,6%

Não são significantes as diferenças entre os percentuais nos grupos A e C, nem entre os percentuais nos grupos B e D; toda a diferença entre grupos reside, então, essencialmente, na presença ou ausência do BCG.

Este resultado fornece, para o grupo etário de 6-34 meses, uma contribuição bastante sólida para afirmar-se a capacidade de posituação da reação de Mitsuda, empregando-se como antígeno o BCG, sem que se possa atribuir tal posituação a injeções prévias de lepromina.

Mais interessante se nos afigura, porém, o resultado da análise, quando foi posta em foco a relação entre intensidade da reação e idade; a despeito da aparentemente pequena variação desta, pôde-se encontrar coeficientes de correlação positiva, significantes, tanto para o grupo B ($r_s = 0,537$), como para o grupo D ($r_s = 0,720$), fato este que, à luz dos conhecimentos existentes, não provoca surpresa.

Algo surpreendente foi o não encontrar-se correlação significativa entre as duas variáveis no grupo A ($r_s = 0,078$); maior foi a surpresa, porém, quando se achou, no grupo C, um coeficiente de correlação negativa, significativa ($r = -0,394$). Desta forma, a intensidade seria tanto maior, nas crianças tratadas com BCG por via oral, quanto menor fosse a idade.

Como primeira hipótese explicativa para esse resultado inesperado, foi sugerida a da ocorrência casual de um evento raro; a probabilidade de tal ocorrência casual, se não houver correlação entre intensidade e idade, é menor do que 5%; menor será essa probabilidade se, na realidade, houver, como seria de presumir, uma correlação positiva entre as duas variáveis.

Resolveu-se, então, reutilizar todas as crianças, dos quatro grupos, cujas reações não tivessem ultrapassado a intensidade correspondente a +; eram, ao todo, 64, por haverem algumas abandonado a creche; 45 recebiam BCG pela primeira vez, pois haviam abandonado aos grupos B ou D; 11 já haviam recebido BCG intradérmico e 8 tomavam uma segunda série de 3 doses de BCG por via oral.

Os resultados da nova reação de Mitsuda não mostraram relação significativa nem com o resultado da reação anterior (|—|, |—| ou +), nem com o tratamento recebido pela criança na primeira fase da experiência. Novamente foi encontrado, porém, um coeficiente de correlação negativa signifi-

cante, agora igual a $-0,513$; é menor do que 1% a probabilidade de ocorrência casual de um tal valor, na hipótese de serem independentes as duas variáveis.

O resumo dos resultados desta segunda fase da experiência, agrupando-se a variável idade em 3 classes, é o seguinte :

QUADRO 16

Idades	Nº de crianças	% de reações (+ + ou + + +)
Menos de 24 meses	21	100,0%
De 24 a 35 meses	30	66,7%
De 36 a 43 meses	13	15,4%

Somos levados, então, a admitir a hipótese de existência de correlação negativa, pelo menos para as nossas condições experimentais. Dentro destas, o fato de ter sido usada dose igual de BCG para todas as crianças pode conduzir a uma hipótese explicativa baseada em menor capacidade de absorção do antígeno pelo trato intestinal, nas crianças de mais idade. Corroboraria tal sugestão o fato de não ter sido encontrada a correlação negativa no grupo que recebeu o BCG por via intradérmica; de qualquer forma, subsistiria a dificuldade para explicar o porquê de não se observar nesse grupo a correlação positiva que seria esperada, a não ser que nos apegássemos outra vez à casualidade.

Evidentemente, impõe-se o prosseguimento desta linha de investigação, podendo ser mencionados os seguintes pontos específicos:

- 1) novas observações para estudo da relação entre intensidade da reação e idade, com BCG intradérmico;
- 2) influência da dose de BCG oral na relação entre intensidade da reação e idade;
- 3) comportamento de outros grupos etários, especialmente o de menores de 6 meses.

Parece-nos de capital importância, para a utilização prática do BCG, na profilaxia da lepra, o esclarecimento de tais pontos, sendo dispensável a exposição das razões que nos levam a assim pensar.

CONCLUSÕES

1. Em crianças de 6 a 34 meses de idade, tuberculino-negativas, a intensidade da reação de Mitsuda foi significativamente maior nas que receberam previamente BCG, em dose igual para todas, do que nas que não o receberam.
2. A intensidade da reação não diferiu significativamente quando o BCG foi ministrado por via intradérmica ou por via oral.
3. Nas crianças que não receberam BCG, não houve diferença significativa,

quanto à intensidade da reação, entre as que foram inoculadas previamente, por três vezes com intervalos de um mês, com a própria lepromina, e as que não receberam essas inoculações.

4. Em nenhum dos grupos em que foram divididas as crianças verificou-se diferença significante de intensidade da reação entre os dois sexos.
5. Nas crianças que não receberam BCG, tanto do grupo testemunha como do grupo inoculado com a lepromina, a intensidade da reação aumentou significativamente com a idade.
6. Nas crianças que receberam BCG por via intradérmica não se observou correlação significante entre a intensidade da reação e a idade.
7. Nas crianças que receberam BCG por via oral a intensidade da reação diminuiu significativamente com o aumento da idade.
8. Crianças, dos quatro grupos, com reações de intensidade expressa pelos símbolos |—|, |—| ou +, tendo recebido, a seguir, quando contavam 16 a 43 meses de idade, BCG por via oral, apresentaram depois reações de Mitsuda cuja intensidade não dependeu significativamente do tratamento prévio nem da intensidade da reação anterior; houve, porém, mais uma vez, uma correlação negativa, altamente significante, entre a intensidade da reação e a idade.

CONCLUSIONS

1. Amongst tuberculin negative children of 6 to 34 months of age, the intensity of the lepromin reaction was significantly greater in those previously receiving BCG — equal doses for all — than in those who did not receive it.
2. The intensity of the reaction did not differ significantly when BCG was administered intradermally or orally.
3. In children who did not receive BCG, there was no significant difference as to intensity of reaction amongst those who were previously inoculated with lepromin — 3 times at intervals of 1 month, and those of the control group.
4. In none of the groups into which the children were divided was there a significant difference in intensity of reaction between the sexes.
5. Children not receiving BCG — either in the control group or amongst those inoculated with lepromin — showed that the intensity of the reaction increased significantly with age.
6. Children receiving BCG intradermally did not show any significant correlation between the intensity of reaction and age.
7. Children receiving BCG orally showed a significant decrease in reaction with the increase of age.
8. Children belonging to the four groups (in which the intensity of reaction was expressed by the symbols —, ± or +) having received oral BCG later, when 16-43 months old, showed Mitsuda reactions whose intensity did not significantly depend on earlier treatment or previous reaction; once more there was a negative correlation which was highly significant between the intensity of reaction and age.