

Contribuição do Laboratório ao diagnóstico da Lepra. Exames de rotina

Moacyr de Souza Lima

Chefe do Laboratório da Inspeção de Profilaxia da Lepra — S. Paulo

Não venho expor, aqui, pesquisas novas; apenas, catalogar o que se acha esparso pelos livros e que é do domínio de todos. Este trabalho não mereceria a honra de ser lido nesta augusta assembléa, si não desse a oportunidade de se estabelecer um processo unico, na rotina a seguir, nos exames de Laboratório.

O diagnóstico da leprose, no laboratório, é feito ou pela procura diréta do *Mycobacterium leprae*, ou pela pesquisa das modificações por ele produzidas no organismo.

A pesquisa diréta é baseada em uma propriedade tintorial característica: quando fortemente impregnados pela fusina básica os bacilos não se descoram pelos ácidos fortes diluídos.

É natural que o bacilo de HANSEN só seja encontrado nos lugares em que devam estar, isto é, no muco-nasal, nas lesões cutâneas, nos ganglios, nervos e sangue, lugares acessíveis, pois já foram encontrados nas visceras e mesmo no cérebro; mas estas últimas localizações pouco adiantam para o diagnóstico do laboratório.

MUCO-NASAL - As estatísticas dos resultados positivos no muco-nasal variam enormemente; quasi que se pode afirmar que cada autor dá uma percentagem. Na I. P. L., a percentagem positiva é de 73 %.

A que atribuir esta diversidade de resultados? A mim me parece que as divergências são devidas ao modo de colheita do material. A colheita do muco-nasal, por uns, é feita com um estilete, tendo uma mecha de algodão na extremidade. Com este estilete limpam as fossas nasais, fazendo em seguida o esfregaço. Outros adotam a cureta: fazem uma curetagem da mucosa nasal e com o material obtido preparam o esfregaço. Este último método é, sem dúvida,

o que dá melhores resultados, mas tem o inconveniente de sangrar e de não ser bem recebido pelo paciente.

Um processo que dá ótimos resultados, aproximando-se da curetagem, sem os seus inconvenientes, consiste em limpar bem as fossas nasais com estilete e fazer a colheita, em seguida, com outro. Por este processo, o material colhido, nos indivíduos com coriza,

não terá tanto muco e nos atacados de *rinite sicca* produz uma exsudação da mucosa, bastante rica em bacilos. A tecnica, na colheita do material, tem grande importância, para os resultados.

Um exemplo, para o demonstrar: a percentagem dos exames positivos do muco, nos doentes do Sanatorio Padre Bento durante o ano de 1933, variou, de Janeiro a Agosto, de 45 a 50 %, em Setembro baixou para 26 %, subindo, nos mezes seguintes, a 46 % (média). Essa baixa chamou-me a atenção e, procurando explicar o fato, verifiquei que, exatamente em Agosto, o funcionario encarregado da colheita do material fora substituido por um outro que não tinha pratica desse serviço; daí a diminuição dos exames positivos.

A percentagem dos exames positivos pôde ainda melhorar, si o individuo, na vespera do exame, ingerir uma dose forte de iodureto de potassio. Esta substância produz exsudação da mucosa, maior e muito mais rica em bacilos.

LESÕES CUTÂNEAS — Nas lesões cutâneas, a colheita do material, ás vezes, tambem não é feita «secundum artem». E' sabido que os bacilos da lepra ficam no derma; assim, simples raspagem da epiderme quasi sempre dá resultado negativo. E' comum retirar material de uma lesão, produzindo-se pequena incisão na epiderme, colhendo por compressão, uma gota de serosidade misturada com sangue, para fazer o esfregaço. E' tambem um metodo defeituoso. O sangue prejudica a coloração da lamina e a serosidade é pobre em bacilos. O material deve ser colhido por raspagem do derma e quanto menos sangue existir, mais perfeito será o exame. Nas maculas, o material deve ser colhido nas lesões novas e sempre na periferia; a percentagem de positivos é de 42 %; nos tuberculos, a serosidade deve ser aspirada por uma pipeta capilar, o que dá uma percentagem de 100 % de positivos. Nas lesões cutâneas ulceradas, difficilmente é encontrado o *Mycobacterium leprae*, parecendo que os germens de infecção secundada fazem-no desaparecer.

GANGLIOS — Nos ganglios, o *Mycobacterium leprae* é sempre encontrado em pequena quantidade. Na minha opinião, esta pesquisa deveria ser sempre acompanhada da prova cultural e mesmo inoculações em cobaias, pois o bacilo de KOCH é encontrado com maior frequencia nos ganglios e a coexistencia das duas infecções não é improvavel. A pesquisa do bacilo de Hansen no ganglio, atualmente, talvez seja o unico processo que permita um diagnostico precoce da lepra. Em 2 ou 3 casos positivos, acompanhados de prova cultural, poude a I. P. L. diagnosticar lepra, com muco- nasal negativo e sem lesões cutâneas aparentes. A punção do ganglio permite ainda, em casos de lesões «tuberculoides» ou lesões «lupoides», firmar o diagnostico de lepra.

SANGUE — A pesquisa do bacilo no sangue, quer na circulação profunda, quer na periferica, tem sido feita. Na circulação profunda os casos positivos parecem bem raros; mas na circulação periferica são mais comuns e em percentagem bem maior do que se acredita.

Penso que a pesquisa do bacilo no sangue não pode ainda constituir um metodo corrente de Laboratorio para o diagnostico da lepra.

NERVOS — A punção do nervo cubital em certas fórmãs de lepra dá resultados positivos, si bem que a colheita do material, nestes casos, seja delicada e difficil.

CULTURAS E INOCULAÇÕES — A pesquisa dirêta de um germen é, ás vezes, dificultada pelo seu pequeno numero, sendo o laboratorio obrigado a lançar mão de artificios de tecnica para comprovar a sua existência. Estes artificios consistem ou no enriquecimento do material ou procedendo a culturas do germen ou ainda fazendo inoculações em animaes, que são verdadeiros reativos indicadores. E' o que acontece com a pneumonia, tuberculose, difteria, etc.

E' possivel, em determinadas circunstâncias, enriquecer o material para a pesquisa do bacilo de Hansen. O processo é o mesmo usado na tuberculose, isto é, pela antiformina.

A sua cultura até hoje não foi possivel e os resultados obtidos por varios autores não foram confirmados.

Quanto á inoculação em animaes, experiências foram tentadas em coelhos (camara anterior), em ratos, cobaios, etc. Os resultados não corresponderam á esperança neles depositada.

ANATOMIA PATOLOGICA — A histo-patologia presta serviço não só mostrando a existência de bacilos em certas lesões, mas tambem determinando sua estructura histologica. Ha, mesmo, uma classe de lesões de natureza nitidamente tuberculoide, não apresentando bacilos, cujo diagnostico só é feito pelo exame anatomopatologico.

CAUSAS DE ERROS — Mesmo na pesquisa dirêta do bacilo de Hansen, ha varias causas de erros. Saprophytas da mucosa nasal e mesmo da pele são acido-resistentes e no ozena encontra-se freqüentemente um bacilo acido resistente que, para muitos, é o causador da molestia. O diagnostico diferencial é facil: são maiores e mais grossos que o *Mycobacterium leprae*; são facilmente cultivaveis em gelose glicerizada, o que não acontece com o bacilo de Hansen. Na Inspetoria, tivemos 4 casos de esfregaços do muco nasal com bacilos acido-resistentes, que foram cultivados.

Alguns cogumelos apresentam o micélio ligeiramente ácido-resistente e quando se processa o esfregação do material, pode-se fragmentar, tomando o aspecto de bacilos.

E' conhecido aqui em São Paulo o caso do filho de um dos potentados da nossa industria que foi dado como tuberculoso, com escarro positivo; entretanto, tinha uma micose pulmonar.

Na Inspetoria deu-se um caso idêntico. Um empregado de hospital, do interior, foi notificado como portador do mal de Hansen, pois em lesões que apresentava em torno das unhas, foram encontrados bacilos ácido-resistentes. O exame clinico, procedido na I. P. L., foi completamente negativo e as laminas examinadas não mostraram bacilos.

O encarregado do laboratorio desse hospital veio a São Paulo, trazendo laminas com o material colhido por ele, e, de fato, em muitos campos, encontravam-se formações ácido-resistentes idênticas a bacilos, talvez um pouco mais longas que o bacilo de Hansen; mas o exame de outros campos mostrava extensos filamentos, corados em azul com pequenas porções coradas em vermelho. A cultura desse material, feita na Inspetoria, revelou a existência de um cogumelo não patogênico, que não foi identificado.

B. GRAM POSITIVOS - A pesquisa direta do *Mycobacterium leprae*, é, atualmente, o processo mais seguro para o diagnóstico da lepra, pelo laboratorio; é feita baseada na propriedade tinctorial de ácido-resistência. Estudos modernos pretendem atribuir esta propriedade a uma fase do seu ciclo evolutivo: em outras fases, o bacilo não apresentaria esta propriedade sendo, entretanto, fortemente Gram positivo.

Estes trabalhos acham-se em começo e, caso sejam confirmados, teremos uma verdadeira revolução na parte bacteriológica da lepra e, possivelmente, um processo que nos permita diagnosticar-la mais facilmente, sobretudo com mais precocidade.

OUTRAS PESQUISAS - Além da pesquisa direta do bacilo de Hansen, o laboratorio lança mão de outros exames que podem facilitar o diagnóstico da lepra.

Um deles, de técnica fácil, consiste na *albumina-reação do muco nasal*. Esta prova consiste em precipitar a albumina do muco diluído em água (solução a 1/5), pelo ácido azótico. No muco nasal leproso a reação é fortemente positiva, sendo negativa ou fracamente positiva no muco nasal normal. O autor dá uma estatística de 77 % de reações positivas e afirma que, quando a albumina reação do muco nasal é negativa, constitui uma quasi certeza de diagnóstico negativo de lepra.

Indice de VELEZ — VELEZ, estudando os elementos figurados do sangue, verificou que, na tuberculose, lepra e blastomas malignos, os granulocitos neutrofilos apresentam um fenomeno patologico que denominou de inversão nuclear.

Os nucleos dos granulocitos neutrofilos apresentam as mais caprichosas variações de forma, mas o seu numero só varia de um a cinco em cada globulo. Devem ser contados como independentes, sómente os nucleos que, ou não tenham entre si ligação visivel ou tenham apenas um filamento perceptivel. Em 100 neutrofilos contados, VELEZ estabeleceu o seguinte indice (média):

| | | |
|----------|-------------------|----|
| globulos | com 1 núcleo..... | 22 |
| » | » 2 »..... | 26 |
| » | » 3 »..... | 43 |
| » | » 4 »..... | 7 |
| » | » 5 »..... | 2 |

Normalmente, os globulos com 3 nucleos são em numero maior, quasi o dobro, dos com 2 nucleos. Quando os netrofilos de 2 nucleos aumentam de numero, ultrapassando os de 3, VELEZ diz que ha inversão nuclear. Para que o indica de VELEZ seja positivo, isto é, para que haja inversão nuclear, os globulos binucleados devem exceder, pelo menos, de 11, aos trinucleados. O indice de VELEZ positivo indica lepra, tuberculose ou blastomas malignos. O diagnostico diferencial deve ser feito quer pela clinica, quer por outras provas de laboratorio. Quando a diferença entre os binucleados e trinucleados for 10 ou menos, o indice de VELEZ será duvidoso, exigindo uma repetição da prova 30 dias mais tarde. O indica de VELEZ ainda está sendo estudado na I. P. L.; nada posso adeantar, portanto, quanto á estatistica, nos casos positivos.

DESVIO DO COMPLEMENTO — Toda molestia infecciosa, agindo como antígeno, determina, no meio sanguineo, modificações ou, melhor, faz desaparecer propriedades que atribuímos aos anticorpos. As relações existentes entre anticorpos e antígenos são utilizadas para estabelecer o diagnostico de diferentes molestias.

Quando se põe em contacto um sôro sanguineo, contendo o anticorpo especifico, com o antígeno correspondente, e se junta um soro fresco, contendo, portanto, alexina e antígeno se satura do seu anticorpo e a alexina é fixada. E' o que se chama fixação ou desvio do complemento. A dificuldade para o laboratorio consiste em achar uma antígeno que seja verdadeiramente especifico. O soro leproso tem um grande poder de desviar o complemento em relação aos antígenos os mais variados o que fez JEANSELME dizer que os soros leprosos são polifixadores.

A reação de WASSERMANN foi uma das primeiras a ser utilizada no diagnostico da lepra. Muitos autores dão-na como positiva em 80 a 92 % dos casos, sendo que, nas formas tuberosas ou mixtas, dão 100 %; outros acham que é sempre negativa. No laboratorio da I. P. L., a reação de WASSERMANN é sistematicamente feita e cheguei á conclusão que, quando se usa um antígeno rico em colessterina, a reação de WASSERMANN é negativa em 62 % dos casos e quando é positiva, o é em casos de lepra mixta ou tuberosa.

Abro aqui um pequeno parêntesis. O laboratorio da Inspetoria, para diagnosticar a sífilis em doentes de lepra, usa varias reações, principalmente a de KAHN e a clarificação de MEINICK, que são negativas para a lepra.

Outras reações de fixação de complemento foram propostas para o diagnostico da lepra. A mais antiga é a reação de EITNER, que usa como antígeno um macerado de leproma ou um órgão rico em bacilos. E' francamente positiva em 50 % dos casos; é nitidamente mais sensível na lepra tuberosa em periodo evolutivo, menos sensível nas formas mixtas com predominância nervosa. E' quasi sempre negativa ou fracamente positiva nas formas de lepra antiga não evolutiva. Nos sífilíticos, sem lepra, a reação de EITNER apresenta tambem uma percentagem de 50 % de positivos, o que dá pouco valor a esta reação.

Outros antígenos foram usados no desvio do complemento, na lepra: bacilos da tuberculose, bacilos acido-resistentes saprofitas, etc.

Atualmente, a Inspetoria usa apenas a reação de GOMES, que emprega como antígeno o streptothrix de Deycke desengordurado. Da uma percentagem de positivos, realmente alta, perto de 100 %, nos casos de lepra mixta e tuberosa; 70 a 75 % na lepra nervosa e maculo-anestésica. Infelizmente, em outras molestias, que não a lepra (tuberculose, sífilis, paludismo, eczema, etc.), tambem apresenta uma percentagem alta de reações positivas. E' uma reação sensibilíssima e, devido talvez a isso, muito pouco específica. O seu autor afirma que a sua especificidade pode melhorar, si, dois dias antes da colheita do sangue, o paciente ingerir iodureto de potassio, em dose alta.

RUBINO estudando o soro leproso, descreve uma reação baseada no fenomeno de aglutinação e sedimentação de globulos vermelhos formolados. A reação de RUBINO é específica para a lepra, mas a meu ver, muito pouco sensível. O autor da uma percentagem de 75 % de reações positivas. Verifiquei que esta reação é de fato específica para a lepra, mas a percentagem de positivas é menor que a dada por RUBINO. Nos casos incipientes, falha completamente.

REAÇÃO DE HIRSCHFELD — E' uma coagulo-reação do soro sanguíneo em presença de um antígeno. Dá bons resultados na lepra, mas é positiva também na malária e na sífilis.

EM CONCLUSÃO: não ha, atualmente, uma reação serologica que, sósinha, firme um diagnostico de lepra, principalmente nos casos incipientes ou pouco adiantados.

REAÇÕES ALÉRGICAS — Devo ainda fazer referências, a-pesar-de não constituir propriamente uma prova de laboratorio, às cuti e intra-dermo reações, que podem auxiliar o diagnostico da lepra. Os resultados não são dos mais animadores, usando-se as tecnicas conhecidas. São mesmo contraditorios, pois, para alguns, essas reações são positivas em casos de lepra em evolução, variando a sua intensidade de acordo com a forma da molestia; para outros as cuti-reações são positivas sómente para as pessoas que estiveram em contacto, muito tempo, com lepra, ou nos casos inativos da molestia. No laboratorio da I. P. L. está em estudo uma intradermo reação com nastina - substância gordurosa retirada do streptothrix de Deycke, e que já foi empregada como vacina na cura da lepra. Foram observados casos positivos em formas de lepra adiantada, não tendo sido ainda empregada nas formas incipientes.

Para terminar:

- 1.º) O laboratorio não possui ainda um processo para fazer um diagnostico precoce da lepra;
- 2.º) confirma quando positivo, sem infirmar, quando negativo, um diagnostico clinico certo;
- 3.º) nos diagnosticos clinicos hesitantes, pode contribuir para torna-los definitivos.

.....