

Trabalho do Departamento de Prophylaxia da Lepra de S. Paulo

RESULTADO DO "LEPROLIN-TEST" NOS PREVENTORIOS DE FILHOS DE LEPROSOS

(Estudo realizado nos Preventorios de Jacarehy e Asylo Sta. Therezinha)

NELSON SOUZA CAMPOS

Sub-Director do D P. L.

Generalidades:

No diagnostico da lepra, a clinica tem se avantajado de muito ao laboratorio. Pesquisadores de toda a parte, desde ha muito, vêm batalhando em busca de uma prova de laboratorio capaz de diagnosticar o mal nos seus primordios, na sua latencia provavel, e de fornecer ao clinico um apoio ao diagnostico dos casos incipientes e, ao mesmo tempo, orientar uma therapeutica mais energica e mais efficiente, por mais prematura.

Excusado encarecer as vantagens do diagnostico precoce da lepra. Não só sob o ponto de vista therapeutico, como sobretudo prophylactico, constitue hoje uma das armas mais poderosas no combate á endemia. Precocemente diagnosticado, as "chances" de melhoras e quiçá de cura do doente, são infinitamente maiores e com isso, será de inicio um caso estanque como fonte de contagio. Dahi o interesse que desperta essa phase de evolução do processo leproso, quer entre os leprologos clinicos, quer entre os leprologos dedicados ao laboratorio. E se aquelles têm conseguido resultados, quasi brilhantes, estes, pouco ou quasi nada têm conseguido de positivo, e o clinico é obrigado a se apoiar em suas proprias conclusões, sem auxilio seguro da serologia, da bacteriologia, ou da histologia. Esta, ultimamente, tem se avantajado bastante e se, nem sempre affirma cathegoricamente o diagnostico, todavia fornece elemento de forte suspeição, que, junto a um signal ou symptoma objectivo, permite um diagnostico com mais segurança.

A serologia na lepra, apesar de grandemente experimentada, não apresenta ainda resultados animadores. Após a phase do em-

prego do material leproso como antígeno, seguiu-se a generalização do emprego das reacções serológicas para a syphilis, cujos resultados não satisfizeram pela inespecificidade e pela discordancia dos resultados. Grande voga ganharam, depois, as reacções de *Rubino* e de *Deycke-Gomes*. Dentro as reacções serológicas para o diagnostico da lepra, a reacção de *Rubino* se impoz logo como verdadeiramente especifica, apesar de sua pouca sensibilidade. Baseando-se na agglutino-sedimentação dos globulos formolados, soffreu varias modificações, que, melhorando a especificidade, comtudo não alteraram a sua sensibilidade. Ella só é positiva onde o exame bacteriologico ou o clinico já confirmaram de sobejo o caso.

Inversamente a essa, *J. M. Gomes*, (S. Paulo), empregando o streptothrix de *Deycke*, descobriu uma reacção que tem o seu nome, extremamente sensivel, porém que se positiva em grande numero de dermatoses e estados morbidos outros, sendo destituída de especificidade.

Mais recentemente generalisou-se o uso das reacções sorologicas da tuberculose; experimentou-se para a lepra a reacção de *Witebsky-Klingstein* e *Kuhn*. "O antígeno de *Witebsky* é extraordinariamente, especifico, e não contém os lipoides ubiquitarios que fixam o complemento, como o sôro syphilitico, o que o torna particularmente recommendavel para o sôro diagnostico da lepra". (*O. Bier*). (1)

Aqui ainda, sua especificidade é apenas dependente da tuberculose, mas sua sensibilidade está em relação com a forma de molestia, tendo menos de 50% de positividade nos casos incipientes. E' evidente por isso que ella possa vir a trazer ainda um valioso auxilio ao diagnostico clinico.

Podemos dizer em resumo, que não existe ainda uma reacção serologica especifica para a lepra incipiente, que permita, já não dizemos o diagnostico de uma lepra inacessível ainda á clinica, mas dos casos incipientes, ou suspeitos, para os quaes a grande responsabilidade de diagnostico, deixa o medico frequentemente em situação embaraçosa.

As cutireacções, baseadas no principio da reacção á tuberculina, servem actualmente de motivo a uma serie grande de trabalhos, numa tentativa de applicação á lepra do que já feira conseguido em relação á tuberculose.

O estudo das reacções que se observam num organismo, em seguida á inoculação de material leproso muito rico em germens, como são os lepromas, despertou com as tentativas de *Kensuké Mitsuda* em 1916, o interesse e a attenção de uni grande numero de investigadores. E é esse o assumpto deste estudo, realizado entre as creanças internadas nos Preventorios de S. Paulo, *Asylo Sta. Therezinha* e *Jacarehy*, sob nossa vigilancia dermatologica.

Nosso trabalho versa pois, sobre a pratica da "leprolin-test", o que corresponde á verificação da allergia cutanea, servindo como antígeno o extracto de leproma lepromina — entre creanças filhas de doentes e com larga convivencia com elles.

II. O "*Leprolin-test*"; suas modificações.

Desde que Mitsuda divulgou em 1916, pelo Japanese Journal of Dermalogy and Urology, e posteriormente communicou á III. Conf. Internacional de Lepra, reunida em Strasburgo em 1923, os resultados que obteve com a inoculação com material leproso (tuberculos) em doentes de formas diversas de lepra, varios trabalhos têm apparecido, baseados em modificações do mesmo principio, ampliados no campo da Clinica, mas todos ou quasi todos, concluindo pelo alto valor prognostico da reacção á leprolina.

Observou *Mitsuda* (2), que as varias formas de lepra se comportavam differentemente em seguida a uma injeccção intradermica de uma emulsão de bacilos preparada de accordo com a seguinte technica:

“ — Fragmentos de lepromas (tuberculos) são submettidos á ebulição durante 2 horas em soro physiologico, triturando-se em seguida em 1 gral e completando-se a relação de 1 gramo de tecido para 20 cc. de soro usado na fervura, phenicado a ½%. Filtra-se em gase e aquece-se novamente o filtrado a 60° C. durante uma hora. Essa solução é injectada no derma na dose de 1 a 2 decimos de centimetro cubico.” Os resultados são lidos no fim da 1.° e 3.° semanas.

Essa foi a technica primitiva de Mitsuda segundo Fumio Hayaihf.

Marianni (3) em 1924, repetiu as experiencias de Mitsuda, empregando porém 3 typos de emulsão: aquosa, alcoolica e alcoolica com 5% de antiformina:

"A primeira e segunda emulsões de nodulos leprosos, foram submettidas duas vezes, com 48 horas de intervalo, á temperatura de 60° durante duas horas; a terceira emulsão alcoolica era submettida a uma sol. de antiformina a 5%, durante duas horas, sendo em seguida centrifugada e diluída até o aspecto opalescente do liquido."

Este auctor usou o mesmo processo de inoculação e leitura.

Bargehr (4), de Java, segundo citação de Jeanselme, assim preparava a sua lepromina:

"Lepromas duros bem deslocaveis. são enucleados e cortados em pequenas porções. Esses pedaços, a que se adiciona um pouco de agua, são levados ao banho marca durante vinte minutos e em seguida reduzidos a uma pasta á qual se junta acido phenico liquefeito na proporção de 1/2%."

Como vemos muito semelhante á suspensão de Mitsuda. Sómente Bargehr a empregou em seus estudos, preferentemente por escarificação da pelle do braço ou do antebraço, sempre fazendo uma escarificação testemunha sem material.

Langen, citado por Muir (5) em 1929, preparou um pó secco, constituído de nodulos convenientemente preparados. Com esse pó preparava-se a solução de sua lepromina, que usava segundo o methodo de Bargehr.

R. G. Ráo, (6), da India, preparava da seguinte maneira a lepromina para seus estudos:

"extrahia asepticamente um nodule de regular tamanho, triturava-o em gral com areia, ajuntando-se 20 cc. de sôro physiologico; o resultado da emulsão filtrava atravez de filtro da papel esteril, obtendo um liquido opalescente. Este é autoclavado a 120°, por meia hora, empolado, sendo a empola fechada á chamma.

Fumio Hayashi (6) e *Chyiuto* (7) empregaram em seus trabalhos a mesma technica usada por Mitsuda.

Como os resultados desses varios auctores, embora em linhas geraes nas suas conclusões não tivessem grande divergencia, apresentavam todavia certa contradição no resultado de alguns casos, *Muir* (5) em 1933, apresentou uma série de estudos baseados em technica diferente de preparação:

"Empregou lobos de orelhas de casos tuberosos, que são fortemente impregnados de bacillos, previamente esterillados com tintura de iodo, seccionados e collocados em placas de Petri; reunido assim, o material desejado, é fervido durante 45 minutos e depois cortado em pequenos pedaços que são seccados por algumas horas ao forno, e depois dissecados ao vacuo, com a presença de acido sulfurico puro. O material secco torna-se então um finissimo pó. 4 grammas de pó secco são dissolvidas em 10 cc. de sôro physiologico; decanta-se por 3 a 4 vezes sempre com sôro physiologico; a suspensão é, então, reunida em um tubo, deixando-se ainda uma vez sedimentar; retirada com uma pipeta essa solução de material lepromatoso, é completada para 100 cc. em sôro physiologico ao que se adiciona 0,5 de acido phenico; é ampaulada e aquecida a 100° por mela hora.

A lepromina controle é preparada da mesma maneira, utilizando-se fígado ou baço de rato leproso em substituição ao material de

lepromas humanos. A padronização é feita pelo exame microscopico das emulsões, segundo a riqueza bacilar,

Finalmente, mais recentemente, *J. M. M. Fernandez* (9), de Rosario, Argentina, publicou um trabalho em que empregou duas leprominas; uma preparada com a technica de Mitsuda Hayashi e outra utilizando material procedente de lesões leprosas de natureza tuberculoide, negativos para a pesquisa de bacillos nos frottis e nos preparados anatomo- pathologicos.

Como vemos, baseados sempre em material lepromatoso muito bacillifero, diversas foram as technicas de praparação do "leprolintest", empregadas pelos varios auctores. Igualmente tem sido muito variados os ensaios, praticando-se a reacção em pessoas sãs e em doentes de lepra, o que explica as discordancias das conclusões dos auctores, como veremos adiante.

III. Os resultados e sua interpretação:

Mitsuda (2) ensaiou sua lepromina em 403 pacientes; observou em todos elles uma reacção erythematosas, depois de 24 horas, no ponto da inoculação; em 279 casos de lepra tuberosa, essa reacção desapareceu após alguns dias, ao passo que ella perdurava, mais intensa ainda, nos 124 casos de lepra nervosa ou maculosa, mesmo após uma vintena de dias. Inoculou igualmente em adultos conviventes de doentes, obtendo resultado positivo em 7 sobre 10 casos. Em 3 enfermeiras de seu hospital e que tinham mais de 10 annos de serviço, obteve igualmente resultado positivo. Nasceu dahi a conclusão de que o poder refractario do organismo *vis-à-vis* á lepromina, é fraco ou nullo na lepra cutanea, forte ou muito mais accentuado nos casos de lepra nervosa e nos conviventes.

Marianni (3) primeiro empregou em 10 casos, 8 do typo nodular e 2 de typo nervoso mutilaste. Nos primeiros a reacção foi de typo erythematoso, desaparecendo do 3.º ao 6.º dia e nos segundos, a reacção foi mais intensa e mais demorada; usou a lepromina sem preparo algum. A série de experimentações com os antigenos em solução aquosa, alcoolica e com antiformina, variando em sua intensidade, confirmou, todavia, os resultados de Mitsuda: reacções minimas e fugazes nas formas nodulares e mixtas, reacções mais francas, algumas de typo suppurativo, nas formas nervosas e maculosas, de natureza tuberculoide.

Bargehr (4) empregou a escarificação de preferencia á injecção intradermica; seus primeiros resultados são assim referidos: — "Em 82 doentes, aos quaes inoculou a sua lepromina, nada verificou, porém 18, apresentaram do 3.º ao 5.º dia reacção positiva. Todos estes estavam com a molestia estacionaria, havendo apenas um caso, em que a doença se achava em franca evolução. Numa segunda série de 162 casos os resultados foram os seguintes: 82 eram porta-

dores de bacillos e apresentavam reacção negativa; dos outros 80, apesar de não serem portadores de bacilos, 45 apresentaram reacção negativa e os 35 restantes (21,6%) reacção nitidamente positiva. Todos elles eram casos de lepra inactiva, mutilados, paralyticos com atrophias, mal perfurante. anesthesias, dischromias e outros symptomas, mas nenhum signal de lepra activa. Bargehr, fez seus estudos na Colonia de Pelantugan, onde havia casos de lepra antiga, e elle procurou demonstrar com isso, apenas a cura expontanea da molestia — "deve o seu estado actual - dos 35 casos - provir, sem duvida, da cura expontanea da lepra".

Paulo Cerqueira (10) do Leprosario Sta. Isabel (E. de Minas), usando a technica de Bargehr, empregou a lepromina em 365 casos dos quaes 233 bacilliferos e 132 não bacilliferos. Vaccinou ainda 23 communicantes adultos e 15 creanças, filhas de doentes e com elles conviventes. Obteve uma porcentagem de 72 reacções positivas (17,86%), sendo 60 em doentes de formas varias de lepra, inclusive casos bacilliferos de lepra evolutiva (16,43%), 7 reacções positivas entre os communicantes (30,43%) e 2 reacções positivas em creanças (13,33%). Repetiu essa vaccinação até 6 meses, conseguindo augmentar a positividade geral para 26,7%. Essa positividade se deu igualmente em doentes de forma evolutiva, em contraposição ás conclusões de Bargehr e todos os outros experimentadores que empregaram a lepromina; estes resultados discordantes foram tambem verificados por Souza Araujo (11) em observações realisadas no Asylo Colonia Curupaity (Districto Federal) .

Os resultados de R. G. Ráo (6) inspirados nos trabalhos de Bargehr, usando, porém, a lepromina por via intra-dermica, sobre 100 casos de lepra de formas variadas, inclusive em 15 individuos sãos, revelaram 40 casos correspondentes ás formas N1 e N2 com reacção positiva.

Fumio Hayashi, (8) que se tem dedicado ao estudo da reacção de seu mestre Mitsuda, publicou um completo e minucioso trabalho sobre o assumpto. Os resultados que obteve foram os seguintes:

Dos 192 doentes em que applicou o test., 64 eram de typo maculo-anesthesico e 128 eram de typo nodular. Dos primeiros todos menos 2 (97%) apresentaram reacções positivas, emquanto que dos casos de typo nodular, 117 (91%) apresentaram reacções negativas, e apenas 11 casos (9%) apresentaram reacção positiva.

S. Chyiuto (7) empregou a lepromina em 3 grupos de individuos, preparando-a e empregando-a segundo a technica de Mitsuda. Foram os seguintes os resultados:

1.º) — 169 creanças, filhos de doentes de lepra, com idade variando de menos de 1 anno até 16 annos. Em 168 dessas 169 creanças, estavam presentes signaes de lepra, porém com exame bacteriologico negativo.

Verificou que abaixo de 2 annos todas deram resultado negativo; nos maiores de 16 annos, ao contrario, sómente 5,5% apresentavam reacção negativa: entre 2 e 16 annos os resultados eram variaveis.

2.º) — Em 97 creanças sadias, sem antecedentes familiares de lepra: abaixo de 1 anno todas eram negativas; em creanças de 3 a 14 annos os resultados da reacção foram todos positivos.

3.º) — Em 10 adultos sãos, sem antecedentes de lepra, a reacção foi positiva, sendo que em um caso apenas, ella o foi fracamente.

Muir (5) empregou a lepromina classica de Mitsuda obtida com lepromas humanos, uma outra preparada com ligado e baço de ratos inoculados com bacillos de Stefansky e uma terceira preparada com culturas do bacillo de Kedrowsky, realisando uma série de 6 experiencias, não só para determinar a especificidade da lepromina classica, com bacillos de Hansen, como tambem para estudo das relações da reacção de Mitsuda com estados allergicos ou independentes da allergia.

Em primeiro lugar fez a reacção em 84 creanças filhas de Paes leprosos, internados no Purulia Leper Colony e que elle dividiu em 5 grupos:

a) - Creanças sem symptomas apparentes de lepra, se bem que algumas dellas apresentassem anteriormente signal de lepra, de idade media de 13,4 annos; para um total de 35 casos apenas 2 apresentaram resultado negativo.

b) - Creanças nas mesmas condições, isoladas em asylo de expostos, em numero de 8, das quaes 2 foram fracamente positivas. Media de idade 3,5 annos.

c) - Meninos nas mesmas condições, em numero de 20, com a media de annos de 11,2, dos quaes 11 apresentaram resultado positivo, 7 duvidosos e apenas 2 negativos.

d) - Meninos suspeitos clinicamente, se bem que bacteriologicamente negativos em numero de 15, com a media de annos 12,2 dos quaes 7 foram positivos, 1 duvidoso e 7 negativos.

e) - 6 meninos nas mesmas condições, com media de annos de 11,1. dos quaes 4 foram positivos e 2 negativos.

Numa segunda série de experiencias, *Muir* empregando tambem o leprolin Stefansky em 29 creanças da clinica de Calcutá, com a idade de 3 a 4 anos, observou 7 resultados positivos para o leprolin Hansen e 14 para o Stefansky, chegando á conclusão de que a reacção positiva que se observa nas creanças ou individuos não leprosos, não se deve geralmente a um contacto previo com portadores de lepra humana ou murina, mas sim como uma reacção especifica do bacilo acido resistente.

Numa 3.^a série de casos, adultos, não portadores de lepra (3 de syphilis, 2 de lichen e um sem molestia) observou igualmente a reacção positiva em todos elles, quer com a lepromina com bacilos de Hansen, quer com a lepromina com bacillos de Stefansky.

4.º) - Em 3 casos de lepra nervosa e 2 de lepra cutanea praticou as mesmas reacções observando: positividade de todas á lepromina-Stefansky e só obteve reacção fortemente positiva nas formas nervosas; nas formas cutaneas os resultados foram fracamente positivo em um caso e negativo em outro.

5.º - Praticou ambas as reacções em 120 casos de lepra de todos os typos, do Gobra Hospital e da Clinica de Lepra da Escola de Medicina Tropical de Calcutá, observando 86,2% de resultados negativos nas formas cutaneas e apenas 7,2% de reacções negativas nos casos de lepra nervosa.

Finalmente, numa 6.^a série de experiencias elle dividiu uma certa quantidade de lepromina - Hansen em 3 partes, passando a primeira atravez de um filtro de Zeits, a segunda em um filtro Chamberland L2 e a 3.^a atravez de um filtro Chamberland L3. Inoculou em 8 doentes de varias formas de molestia com 2 decimos de centimetro cubico, cada um dos 3 filtrados, e tambem com lepromina-Stefansky e lepromina-Kedrowsky.

Em conclusão destas experiencias verificou o seguinte:

- a) - nenhum dos casos reagiu aos filtrados;
- b) - todos os casos nervosos e cutaneos reagiram ás leprominas preparadas com as culturas de Stefansky-Kedrowsky;
- c) - sómente as formas nervosas reagiram á lepromina classica, preparada com lepromas humanos, muitos ricos em bacillos de Hansen.

José M. M. Fernandez (9) por sua vez, estudou a lepromina Hansen nos doentes do Hospital Carrasco. Em 151 doentes de varias formas de molestia, observou para os casos de predominancia cutanea, 65% de resultados negativos, 10% de reacções duvidosas e 24% de reacções positivas; para os casos de predominancia nervosa, observou 66% de reacções positivas e 33% de duvidosas; para as formas mixtas 62% de reacções positivas. 8% de duvidosas e 28% de resultados negativos.

Estudou ainda a lepromina-Hansen em relação ao Indice de sedimentação, ao tratamento chaulmoogrico e ao sexo dos doentes. Entre os conviventes praticou a lepromina em 56 individuos adultos ou creanças, chegando á seguinte conclusão:

- 1.º) - Entre os menores de 3 annos predominaram as reacções negativas (75 a 94%) ;
- 2.º) - Na segunda infancia, a partir dos 3 annos o resultado augmenta para ambos os grupos (sãos e conviventes) 86 e 56%;

3.º) - Entre os adultos o predomino das reacções positivas foi de 77 a 75%.

Empregou ainda Fernandez a lepromina N. preparada com lesões lepromatosas de natureza tuberculoide nos 151 doentes, observando o seguinte resultado: — positivos 21 (13,9%); negativos (74,8%) e duvidosos 7 (11,2%) , concluindo que além do bacillo, no mecanismo da reacção á lepromina, igualmente intervém o factor tissular.

IV. — *Da interpretação dos resultados:* —

Em linhas geraes, as conclusões tiradas pelos auctores acerca dos resultados do *leprolin-test* são os seguintes:

a) - ella é negativa em pessoas que nunca estiveram em contacto com leprosos, porque não existe nessas pessoas nenhuma substancia especifica (anticorpos) de defesa.

b) ella é ainda negativa nos casos em que ha uma grande predominancia de antigenos sobre os anticorpos (casos cutaneos e mixtos de lepra).

c) - ella é positiva nos casos de pessoas que tiveram convivencia com doentes de lepra, embora não apresentem symptoma da molestia, o que indica a presença de anticorpos especificos, secundarios a pequenas cargas bacillares de contagio.

d) - é igualmente positiva nas formas maculo-anestheticsas e sobretudo nos casos de lepra tuberculoide: com lesões parvi ou abacillares, em que ha maior resistencia á molestia, motivada pela grande quantidade de anticorpos; a regra é de que as creanças não apresentem reacção ao "leprolin-test" o que indicaria uma resistencia fraca a infecção e dahi a frequencia da infecção na infancia.

Para o doente de lepra a reacção constitue pois um elemento de prognostico: benigno para os doentes que a positivam, indicando a presença de um factor especifico de immuidade ou allergia; nos casos de reacção negativa ha evidente ausencia dos elementos de defesa especifica, indicando uma lepra evolutiva. A curva das reacções á lepromina indicaria ainda segundo Hayashi, a tendencia da evoluçáo do caso nervoso para cutaneo por conseguinte, para mau prognostico e vice-versa.

Entre os conviventes, uma reacção positiva indicaria a existencia de immuidade, ou melhor, de uma infecção que foi dominada pelo organismo: as reacções negativas entre os communicantes de formas contagiantes indicaria uma necessidade de observaçáo mais cuidadosa, pelas possibilidades de exteriorisaçáo da doença, revelada pela ausencia de immuidade. Pelo que se deduz das observações dos diversos auctores, a lepromina tem indiscutivel valor prognostico.

As experiencias de Muir com a lepromina Stefansky e Kedrowsky, que se mantem inalteradas nas varias formas de molestia, indicam pois, que apenas a lepromina-Hansen reflecte a situação do organismo, doente ou não, em face da lepra.

V. — *Nossa experimentação:*

Lepromina — Empregamos em todos os nossos casos sómente a lepromina-Hansen, preparada segundo a technica de Mitsuda-Hayashi. Todo o material com que trabalhamos nos foi cedido pelo Dr. Abrahão Rotberg, medico do Sanatorio Padre Bento, Comissionado do Centro Internacional de Leprologia, para os estudos dos tests cutaneos na Lepra, e a quem consignamos aqui os nossos agradecimentos.

Technica de preparação: — Nodulos frescos, enucleados, dos quaes é tirada a pelle, são fervidos em uma solução physiologica, por 40 a 60 minutos, em banho-maria. São triturados em seguida em um gral e para cada gramma deste material ajuntam-se 20 cc. de solução physiologica, usada na fervura, completando-se o volume de 20 cc. com solução physiologica, esterilisada; filtra-se em gaze, e o filtrado é levado ao autoclave. A essa solução ajunta-se acido phenico crystalisado, na proporção de 0,50%. Esse material é conservado em vidros de gargalo de borracha (typo de insulina) previamente esterilizados, o que facilita o seu emprego. Pode igualmente ser conservado em vidro com rolha de vidro esmerilhada ou mesmo em ampoulas fechadas ao maçarico.

Nas creanças maiores de 12 annos e nos adultos, foi empregada a dose de 0,02, nas creanças menores 0,01 cc. de lepromina em injeção intradermica, com agulha de infiltração, fina, devendo formar-se uma papula anemica de $\frac{1}{2}$ centimetro de diametro aproximadamente.

A *reacção* foi observada por nós no 8.º dia, no 15.º e no 21.º dia; sempre foram notadas pequenas reacções erythematosas locaes passageiras, mas a maior positivação se fazia do 15.º ao 21.º dia. Reacções mais tardias foram igualmente verificadas,

Assim como não se acha padronizado convenientemente o praso de leitura da lepromina, em vista da variabilidade individual do tempo de reacção, igualmente a interpretação de seus resultados se acha ainda na dependencia da apreciação pessoal de cada um.

Diversos factores intervêm no resultado do leprolin-test, o que muito difficulta essa padronisação. Assim temos:

a) - a maior ou menor concentração bacillar da lepromina, cuja solução varia de material a material empregado na sua preparação; ainda não se conseguiu dosar a quantidade ideal de germens, limitando-se a tecnica em exigir material de lepromas humanos muito rico em bacillos;

- b) - technica de preparação;
- c) - technica de applicação da injeccão intradermica; por maior que seja a habilidade do operador, a penetração da agulha muito depende da espessura da epiderme de cada paciente, da região em que ella é applicada, e, em se tratando de creanças, da maior ou menor docilidade das mesma;
- d) - da reacção tissular individual á injeccão de lepromina, considerada segundo a intensidade e o tempo da reacção, e á quantidade de lepromina injectada.

O augmento de symbolos não resolve essas difficuldades. Sua reduccão e consequentemente, a simplificação da leitura, pela mais larga interpretação dos resultados, diminui a apreciação individual de cada um, e dahi, menor causa de erro. Procuramos simplificar, reduzindo para tres os resultados: *Negativo* (—), quando não se observa nenhuma reacção, ou mesmo quando apenas persiste uma leve infiltração subcutanea, o que constitue o resultado duvidoso (±) de Muir; *Positivo* (+), quando ha placa erythematosa bem infiltrada de 5 até 10mm. de diametro (Reacção + e ++ de Muir); *Positiva forte* (++) nos casos de forte erythema com pustulisação secundaria no ponto da inoculação, ou de zona erythematosa infiltrada de mais de 10 mm. (Reacções +++ e ++++ de Muir) .

Tivemos opportunidade de observar alguns casos de forte reacção local, com eliminacão de verdadeira escara e formacão de ulcera crateriforme de 2 a 4 cms. de diametro e de cicatriscão excessivamente lenta. Igualmente tivemos casos de se dar o apparecimento de um nodule reaccional proximo do local da innoculação, parecendo reacção lymphatica.

Material de estudo: —

Nossa experimentacão se realisou entre as creanças internadas nos Preventorios Sta. Therezinha e Jacarehy. O Asylo Sta. Therezinha vem funcionando desde 1927, tendo pois 10 annos de existencia; tem internados creanças da 1.º e 2.a infancia e adolescentes que conviveram com leprosos e mais as creanças recém-nascidas de nossos leprosaarios, separadas ao nascer. No Preventorio de Jacarehy, fundado em 1932, estão recolhidas creanças de 2 a 15 annos e adolescentes igualmente com convivencia variada com doentes de lepra de formas varias de molestia.

Ensaizando a lepromina nesses Preventorios, procuramos estudar os resultados do seguinte modo:

- 1.º) em relação ao sexo e a idade;
- 2.º) em relação ao tempo e natureza de convivencia com o progenitor ou progenitores doentes;
- 3.º) em relação á forma de molestia dos paes.

Todos esses dados que constam das fichas individuais dessas crianças internadas em qualquer desses Preventórios, foram obtidos graças á organização do Archivo do Departamento da Lepra do Estado.

Os resultados: Foram por nós praticadas 331 reacções, sendo 181 no Asylo Sta. Therezinha, e 150 no Preventorio Jacarehy, com o seguinte resultado global:

—	—	116 - (35%)
+	—	145- (40,8%)
++	—	80- (24,2%)

Sexo e idade: — Nossa experimentação foi feita em crianças de 45 dias até já quasi adultos (18 annos), que dividimos em 3 grupos: 0 a 3 annos; de mais de 3 annos até 13 annos; e de mais de 13 annos. Estabelecemos o limite de 13 annos, que é entre nós a media do estabelecimento da puberdade no sexo feminino.

Foram os seguintes os resultados:

SEXO MASCULINO.....				
IDADE	—	+	++	Total
De 0 a 3 annos	15	3	1	19
Mais de 3 a 13 annos	44	50	25	119
Mais de 13 annos	4	19	13	36
TOTAL:	63 (37,3%)	72 (40,2%)	39 (22,5%)	174

SEXO FEMININO

IDADE				
De 0 a 3 annos	9	2	1	12
Mais de 3 a 13 annos	39	47	23	109
Mais de 13 annos	5	14	17	36
TOTAL:	53 (33,7%)	63 (40,1%)	41 (26,2%)	157

TOTAL GERAL:

IDADE				
De 0 a 3 annos	24 (77,4%)	5 (16,1%)	2 (6,2%)	31
Mais de 3 a 13 annos	83 (36,4%)	97 (42,5%)	48 (21,1%)	228
Mais de 13 annos	9 (12,6%)	33 (45,8%)	30 (41,6%)	72
TOTAL:	116	135	80	331

O estudo dos resultados em relação ao sexo, nos dá uma quase identidade de positividade entre os sexos, com uma differença desprezível de maior numero de positivos entre as crianças do sexo feminino.

Já quanto á idade, os resultados são mais interessantes. De 0 a 3 annos apenas 2 creanças positivaram forte a lepromina: uma com a idade de 2 annos e 6 mezes e outra com 3 annos. Ambas foram communicantes de formas mixtas de molestia, com convivencia nos focos familiares de 12 e 18 mezes respectivamente. Das 31 creanças dessa idade, 24 negativaram a lepromina (77,4%) o que confirma a observação de quasi todos os auctores.

Nas creanças de 3 a 13 annos o indice de negatividade cæ para 36,4% e acima de 13 annos reduz-se a 12,6%. Isso parece indicar evidentemente que a positividade está em relação directa com a idade, o que suppõe maior somma de anticorpos pelo maior tempo de exposição ao contagio: a percentagem de reacções negativas é de 77,4- 36,4- 12,6 para o 1.º, 2.º e 3.º grupo ao mesmo tempo que o indice de positividade sobe inversamente para 6,2%- 21,1%- 41,6% respectivamente.

Tempo de convivencia: — O tempo de convivencia com o doente e a modalidade clinica do foco contagiante, são factores preponderantes no processo de immundade que exprime a reacção de Mitsuda,

Os nossos resultados parecem confirmar esta conclusão:

Tempo de convivência.....	—	+	++	Total
Retiradas ao nascer.....	28	—	—	28
Mais de 1 mez até 1 anno....	30	15	9	54
Mais de 1 anno até 3 annos..	25	37	16	78
Mais de 3 annos até 5 annos	15	29	14	58
Mais de 5 annos.....	16	49	38	103
Ignorada.....	2	5	3	10
	116	135	80	331

Vê-se pelos resultados acima, a relação directa entre o tempo de contagio e a positividade á reacção de Mitsuda. *Todas as creanças retiradas ao nascer*, em numero de 28, não reagiram á lepromina (1). Esta negatificação, só pode correr por conta da ausencia completa de anticorpos immunisantes nessas creanças, que não receberam nenhuma contaminação, nem nunca estiveram em contacto com doente de lepra.

Haverá todavia entre ellas, pela sua negatividade, uma maior receptividade á lepra, pela ausencia absoluta de anticorpos immunizantes?

(1) — actualmente com as seguintes idades: 2 annos 5; 2½ annos 2; 3 annos 5; 4 annos 2; 5 annos 2; 6 annos 6; 7 annos 1; 8 annos 1; 9 annos 1; 10 annos 3.

Com o tempo de convivencia, de 1 mez a um anno, para 54 creanças, 24 deram resultado positivo (45%); de 1 a 3 annos a positividade foi de 68% (37+16); de 3 a 5 annos ella sobe a 74,2% de resultados positivos (29+14). Para as creanças que conviveram com focos de molestia em periodo de mais de 5 annos, a reacção de Mitsuda foi positiva em 84,5% dos casos (49+38) .

E' innegavel que de um modo geral o tempo de convivencia cria em grande numero de creanças um estado de immunidadade que as protege contra a molestia, A forte positividade da reacção de Mitsuda nessas creanças, só pode ser devida a repetidas contaminações que as mesmas tenham recebido, com a formação de um estado de allergia sufficiente para reagir intensamente á penetração de pequenas quantidades de antigeno. A allergia é um processo de reactividade organica que exprime hypersensibilidade e resistencia.

* * *

Os resultados em relação á *forma de molestia* dos paes foram os seguintes:

	—	+	++	Total
Paes de forma nervosa	9	2	0	11
Paes de forma Mac. anesthesica	25	15	10	50
Paes de forma tuberosa	9	14	11	34
Paes de forma mixta	68	99	55	222
Paes de forma ignorada	5	5	4	14
	<hr/> 116	<hr/> 135	<hr/> 80	<hr/> 331

Esses dados foram colhidos das fichas dos paes dessas creanças, existentes na Sede do Departamento. Se para a maioria, elles refletem com exactidão o estado dos doentes na occasião em que foram internados, para outros elles se referem ao estado do doente muito anterior á separação das creanças, sendo de suppôr que tenham geralmente evoluído para formas graves da molestia. Quando ambos os paes eram doentes, foi considerada apenas a forma mais contagiante da lepra.

Resulta á primeira vista, que das 11 creanças cujos paes eram portadores de forma nervosa, 9 (82%), não reagiram ao Mitsuda. Em seguida vêm a forma maculo-anesthesica, apresentando 50% de negativos (25:50). Quanto á interpretação dos resultados das formas tuberosas e mixtas, temos que admittir que os negativos neste caso, são creanças, ou que se apresentam em estado de anergia congenita ou porque apresentam em circulação muito mais antigenos que anticorpos, razão porque não reagem á nova introducção desses mesmos antigenos. São, por consequente creanças para as quaes

uma observação mais cuidadosa se impõem. Os resultados positivos nesse caso, indicariam por sua vez, a contaminação evidente das mesmas, com formação de anticorpos de immuidade.

Em uma segunda série de pesquisas procuramos inverter este estado de negatividade á lepromina, pela pratica da reacção, de 3 em 3 mezes, repetindo deste modo as experiencias de Bargehr e Paulo Cerqueira; em outros casos injectamos o sôro das creanças com reacção fortemente positiva, em doses crescentes, num outro grupo de creanças com lepromina negativa.

Foram para isso seleccionados dois grupos de 16 creanças do Asylo Santa Therezinha, todas com reacção negativa á lepromina e que apresentavam, mais ou menos, o mesmo tempo de convivencia com os paes doentes de lepra.

Resultados da inoculação da lepromina:

	Idade	Progenitor doente	Forma de molestia	11/36	3/37	5/37	8/37
1 - L. M.	2 annos	mãe	m. anesth.	— —	— —	— —	— —
2 - M. A. C.	3 >	mãe	mixta	— —	— —	— —	— —
8 - A. A.	8 >	ambos	>	— —	— —	+	+
4 - D. C. O.	13 >	pae	>	— —	— —	— —	— —
5 - T. B.	8 >	mãe	>	— —	— —	— —	— —
6 - A. G.	7 >	pae	>	— —	+	++	++
7 - G. P.	5 >	ambos	>	— —	— —	— —	+
8 - T. V.	7 >	mãe	>	— —	— —	+	+
9 - L. M. J.	7 >	mãe	>	— —	— —	+	+
10 - L. T. F.	8 >	ambos	>	— —	— —	— —	+
11 - J. S.	5 >	mãe	>	— —	— —	+	+
12 - W. A. S.	8 >	ambos	>	— —	— —	+	+
13 - W. R.	3 >	ambos	>	— —	— —	— —	— —
14 - D. F.	8 >	pae	>	— —	++	++	++

Vemos por esses resultados a confirmação dos resultados de Barger, isto é, a inversão parcial da reacção á lepromina, em seguida á reinoculação. Teria havido a transmissão com isso, apenas de anticorpos, ou estes se formariam em seguida á inoculação de doses massiças de antigeno lepromatoso, despertando uma allergia especifica?

Num segundo grupo de creanças foi injectado sôro de creanças que reagiram fortemente á lepromina e que não tinham symptomas de syphilis (Wassermann negativo). Este sôro, que nos foi gentilmente preparado pelo Dr. Eduardo Vaz, do Instituto Pinheiros, era injectado nas doses de 1-2-3-cc. em dias alternados. Nenhuma reacção geral ou local foi observada.

Resultado da "leprolin-test" após injeccção de sôro:

	Idade	Progenitor doente	Forma de molestia	1. ^a Reacção 11/36	2. ^a Reacção 6/37	Total de sôro
15—A.B.	3 annos	mãe	nervosa	---	---	32 c. c.
14—O.B.	7 »	mãe	»	---	---	18 c. c.
13—M.D.	10 »	mãe	mixta	---	---	49 c. c.
12—I.R.	19 »	ambos	»	---	---	49 c. c.
11—E.B.	2 »	pae	»	---	+	45 ç. c.
10—D.M.	7 »	mãe	»	---	---	35 c. c.
9—M.A.	9 »	pae	»	---	+	49 c. c.
8—G.T.A.	6 »	ambos	»	---	---	46 c. c.
7—A.C.L.	11 »	pae	»	---	---	31 c. c.
6—A.F.	13 »	ambos	»	---	---	44 c. c.
5—A.S.	7 »	mãe	»	---	---	50 c. c.
4—M.C.	10 »	ambos	»	---	---	48 c. c.
3—C.E.	5 »	pae	»	---	---	48 c. c.
2—C.R.L.	5 »	ambos	»	---	---	32 c. c.
1—A.B.	11 »	mãe	»	---	---	32 c. c.

Vemos por este resultado que apenas, duas creanças inverteram o leprolin-test e que a pequena reacção ao antígeno parece-nos ser resultado da 2.^a inoculação. Concluimos pois, que o soro das creanças reagindo positivamente á lepromina, não possui anticorpos circulantes e que a reacção positiva ou negativa,; é apenas o resultado de um estado allergico ou anergico tissular que não se transmite passivamente através do serum sanguineo.

Conclusões

A reacção de Mitsuda-Hayashi, lepromina ou "leprolin-test", praticada entre as creanças recolhidas nos Preventorios dos filhos de leprosos, revelou o seguinte resultado:

a) - a positividade é tanto maior, quanto maior idade tenha a creança (0-3 annos - 22,6% - mais de 3 annos até 13 annos - 53,4% - mais de 13 annos 86%) .

b) - as creanças retiradas ao nascer negativaram 100% lepromina.

c) - a positividade augmenta com o tempo de convivencia com os paes doentes: — de 1 mez a 1 anno: 45% - de 1 a 3 annos 68% - de 3 a 5 annos 74,2% e mais de 5 annos 84,5% de resultados positivos.

d) - a forma de molestia dos paes igualmente influenciou nos resultados da lepromina: as creanças cujos paes eram portadores de formas nervosas, e maculo-anesthetics negativaram em muito maior porcentagem a reacção, do que as formas tuberosas e mixtas, o que indica serem estas as formas mais contagiantes de lepra.

e) - as creanças filhas de paes portadoras de formas tuberosas e mixtas de lepra e que negativaram á lepromina, são as mais susceptiveis á eclosão da lepra e necessitam maior vigilancia clinica e bacteriologica na rotina dos exames periodicos praticados nos Preventorios e nos focos domiciliars de lepra.

CONCLUSIONS

The A. gives the results of his experiments with the "leprolin test" in healthy children of lepers.

- 1 - More positive tests are obtained as the age increases.
- 2 - Children isolated from their leprous parents at birth were all negative.
- 3 - More positive tests are observed in cases of previous longer contact with the leprous parents.
- 4 - Children of lepers with nodular forms are more frequently positive than those of neural and macular ones.

- 5 - Children of leprous parents with negative leprolin test are more susceptible to the eclosion of leprosy and they need more accurate periodical examination.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Verlasser berichtet fiber seiner Erfahrung mit dem Leprolin-Test bei gesunden Kinder Leprakranken.

Die Positivität des Leprolin-Test nihmt mit dem Alter der Kinder zu.

Die Positivität des Leprolin-Test nihmt mit der Dauer des Beisammenleben der Kinder mit ihre Leprakranken Eltern zu.

Die Positivität des Leprolin-Test nihmt mit der Contagiosität der Krankheit ihrer Eltern zu.

* * *

BIBLIOGRAPHIA

- (1) — **O. BIER - K. ARNOLD** - Estudos sobre a serologia da Lepra. Folia Clinica e Biologica - Anno VIII - 1925 - N.º 1.
- (2) — **MITSUDA** — **Les lepreux maculo-verveux, d'une part, les tubereux, d'aatre part, se comportent differement a la suite d'une inoculation d'emulsion de tubercule leprous** - III Conf. Internationale de la lèpre Paris 1924.
- (3) — **MARIANNI** — **Nouveles observations sur les reactions provoquées experimentalment par la matière lepreuse chez l'homme.** - Ann. de Dermat. et Syphiligraphie - 1927 - Tom. VIII, pag. 317 - 318.
- (4) **BARGEHR** — **Spezifische Hautreaktionen bei Lepra** — Zentralblatt - Berlin — 1927 — N.º 22 - pg. 239.
- (5) **E. MUIR** — **The leprolin test** — Leprosy in India 1933-34 pag. 204.
- (6) — **RÃO** — **The intradermal Leprolin-test** - Leprosy in India - 1932 - pg. 13.
- (7) — **CHYUTO** — **Leprolin test** — Monthly Bull. Philippine Health Ser. July - Vol. 12 - N.º 7. pg. 300-307.
- (8) — **F. HAYASHI** — **Mitsuda's Skin reaction in leprosy** - Leprosy Review - London 1933 - n.º 4, pg. 159.
- (9) — **J. M. FERNANDEZ** — **El leprolin test** - Revista Argentina de Dermatosifilogia - Tomo XVIII - 2.ª parte - pg 108 - 1934.
- (10) — **PAULO CERQUEIRA** — **Contribuição ao estudo da Reacção de Bargehr** - Brasil - Medico - Junho 1935, n.º 26 - pg. 576.
- (11) — **SOUZA ARAÚJO** — **A cutireacção de Bargehr na lepra** — Medicamenta - Rio de Janeiro - 1932, n.º 116 - pg. 2.
- (12) — **A. ROTBERG** — **Contribuição ao estudo das cuti-reações allergicas na lepra** (Reacção de Mitsuda-Hayashi). These de S. Paulo, 1934.