

Opsoninas e Micobacterium Leprae

DR. AUGUSTO SERIAL

do Hospital Carrasco.
Rosario — Argentina.

A pesquisa de anticorpos do micobacterium leprae, ou de suas toxinas foi sumamente difícil, pela impossibilidade de cultivar este germen (porque se é bem certo que tem havido autores que chegaram a obter culturas, nunca puderam repetir e generalizar os métodos propostos para tal fim) porém apesar disso, se fizeram estudos imunológicos muito interessantes em leprologia, contando para eles, com os germens extraídos de lesões cutâneas dos doentes. É conhecido que de início, os antígenos que se preparavam eram muito impuros, contendo além de germes, detritos de tecidos, sangue, etc. e eram além disso muito variáveis em sua riqueza bacilar, pois que de uma lesão a outra, pode haver grande diferença, assim como de um doente a outro; este tipo de antígeno é conhecido como o nome de Mitsuda Hayashi.

É com o método de obtenção de bacilos puros ideados pela primeira vez pelos Drs. JOSÉ M. M. FERNANDEZ e OLMOS CASTRO e mais tarde por DHARMENDRA, que se abriu um grande campo de possibilidades para fazer estudos. Tratando de encontrar uma reação prática de aglutinação, semelhante a de WIDAL ou a de HUDLESON, iniciamos alguns ensaios, que por dificuldades de técnica não pudemos continuar, embora acreditemos que seja um tema digno de ser revisto e de insistir-se novamente em sua solução.

Tendo em conta outra forma de manifestar-se os anticorpos, como as opsoninas e fazendo uma dedução teórica e á "priori", tomando como ponto de partida a classificação que se faz sob o ponto de vista imunológico da lepra, era lógico supor que as formas alérgicas (lepra tuberculóide) teriam anticorpos e as enérgicas e hipóérgicas (lepra lepromatosa, lepra incaracterística) careceriam delas ou pelo menos teriam em proporção muito inferior.

WRIGHT e DOUGLAS demonstraram que o sôro normal, não aquecido, contém substâncias ativas que preparam as bactérias, para fazê-las sensíveis à fagocitose pelos polimorfos nuclea-

res; si se aquece o sôro a 60 gráus, ou mais, durante 15 minutos, o sôro perde essa propriedade; a essas substâncias termolábeis os autores mencionados chamaram de opsoninas.

Mais tarde NEUFELD comprovou que existem soros para certas bactérias nos quais os anticorpos não eram destruídos pela temperatura de 60°, durante 30 minutos, qualidade que os diferenciava das opsoninas; tais anticorpos foram chamados bacteriotropinas.

Esclarecido sinteticamente a concepção de opsoninas e bacteriotropinas, vamos detalhar em continuação o que é preciso para se revelar estas substâncias.

ELEMENTOS UTILIZADOS

1.° — Suspensão de bacilos em sôro fisiológico, na proporção de uma grama de pó bacilar seco em 1,000 de sôro (Obtenção dos bacilos pela técnica de Dharmendra); ao fazermos a suspensão não juntamos o acido fênico a meio por cento, para que não se modificasse o pH.

2.° — Glóbulos brancos lavados no momento de usar (lavados duas vêses no sôro fisiológico e centrifugados).

3.° — Os soros empregados foram 35, classificados como segue: 10 giros de doentes de forma Nt.: 10 sôros de doentes de forma lepromatosa; 10 sôros de pessoas sãs não conviventes com doentes de lepra; nestes 30 casos, a extração do sangue foi feita na presença de anticoagulantes, heparina 0,2 de c.c. para 10 de sangue. 5 sôros restantes os utilizamos para pesquisar bacteriotropinas, extraindo o sangue sem anticoagulante, justamente para que houvesse coagulação e pudesse extrair o sôro levando-os logo a 60° durante 30 minutos.

4.° — Em todos os casos procedemos do seguinte modo: a $\frac{1}{2}$.c. de suspensão de bacilos juntamos $\frac{1}{2}$ cc. da suspensão de glóbulos lavados e % c.c. do sôro a investigar, postos em tubos de centrifugação; levando-os à estufa à temperatura de 37° a 39° durante meia hora; em todos os casos, para testemunho, misturamos suspensão de bacilos com a suspensão de glóbulos lavados sem juntar sôro, e em 5 casos à mistura de suspensão de glóbulos e suspensão de bacilos, juntamos sôro aquecido durante 30 minutos a 60°. Uma vez retirados da estufa os agitamos, expara serem corados pelo método de Ziehl Neelssen; antes de corar deixamos em alcool absoluto durante 10 minutos.

Os resultados foram os seguintes: Em todos os preparados correspondentes às misturas em que interveio o sôro sem aquecer, observamos evidente fagocitose, vendo-se os bacilos perfeitamente corados em vermelho, pela fucsina, no meio do citoplasma azulado pálido do polinuclear e o núcleo corado em azul escuro: nos tubos testemunhos a fagocitose foi nula.

Nas 5 misturas em que interveio o giro aquecido a 60° também houve fagocitose em pequena proporção.

Com respeito à suspensão de bacilos em giro fisiológico, queremos fazer um esclarecimento, sem o qual ficaria sem valor este trabalho. É sumamente difícil fazer uma suspensão bem homogênea, pois sempre ficam bacilos aglomerados. (Isto é devido a que o pó bacilar contém restos de globias) e como o triturado não pode ser prolongado o que destruiria grande número de corpos bacilares, considerámos somente os leucócitos isolados, para fazermos as observações e não os conglomerados bacilares misturados com polinucleares, porque estes poderiam ser fenômenos físicos de superposição e de aderência.

CONSIDERAÇÕES

Não pudemos fazer um índice opsonico citofágico e acreditamos que não se poderá fazer até que não seja aperfeiçoada a técnica e se eliminem os conglomerados bacilares para ter suspensões perfeitas. Acreditamos que este estudo tem importância doutrinária, porque sendo um anticorpo o encontrado, contribue a que este bacilo tome as suas características e não devemos esquecer que com este bacilo não se cumprem os postulados de Koch: não se inocula e pela mesma razão não se pode transmitir de animal para animal de forma experimental, e como já dissemos anteriormente a cultura muito poucos autores a realizaram. Por outra parte MAXIMOW y BLUM descrevem degenerações citoplásmicas tais como os condriocitos, sobre tudo nos ratos, que têm características de bacilos, assim como haveriam argumentos para fazer duvidar que o *Mycobacterium Leprae* seja verdadeiramente um bacilo.

Caberia além disso a hipótese de que, o que se passa em vitro, ocorre no organismo e explicaria a localização no sistema Reticulo Endotelial, isto é que os bacilos no sangue, sempre seriam fagocitados pelos polinucleares, porém estes seriam incapazes de destruir os bacilos, como sabemos que a hemocaterésis se efetua no Sistema Reticulo Endotelial ao serem destruídos os polinucleares

portadores de bacilos, estes passariam às células do retículo endotélio, produzindo-se uma simbiose ou uma luta; segundo o resultado da luta seria a forma clínica da enfermidade.

Há alguns fatos que apoiam esta hipótese: 1.º a lepra é uma afecção que ataca preferentemente o S.R.E. — 2.º Um dos métodos de pesquisa do bacilo no sangue dos doentes, é o de CRAW, que se faz na zona dos glóbulos brancos do coágulo do sangue e se encontra na mesma proporção que nos demais métodos. — 3.º Um autor, KOBNER, refere que observou bacilos dentro dos polinucleares do sangue de doentes.

4.º — J. MUCH e colaboradores dão como fato real a fagocitose em grande quantidade de bacilos no sangue dos hansenianos.

Um fato que poria em evidência esta hipótese, é o pesquisa de *Mycobacterium leprae*, dentro dos polinucleares extraídos de dentro em reação leprótica e que antes de serem corados sejam lavados; isto é assunto de um próximo trabalho.

CONCLUSÕES

1º — Em todos os sôros estudados se encontram opsoninas para o *Mycobacterium Leprae*.

2º — Os polinucleares sem sôro humano, são incapazes de fagocitar os bacilos.

BIBLIOGRAFIA

- Fernandez José M. M. e Olmos Castro — Standardização da lepromina: Revista Argentina de Dermatosifilografia n.º 25, pag. **235**.
- Jadassohn: — Handbuch der Pathogenen microorganism. Traduzido por Margarido, Raul. — Revista Brasileira de Leprologia — ano 1940.
- Maximon y Blum.: - Histologia normal, ano 1944.
- Much Juan.: — A Imunidade antiinfeciosa — ano 1913.
- Topyel: — Elementos de Imunidade — ano 1935.
- Zocchio João B.: — Bacilemia na Lepra — Revista Brasileira de Leprologia, ano 1940 — pag. 269.