

REVISTA BRASILEIRA DE LEPROLOGIA

(2.a Série da Revista de Leprologia de São Paulo)
ORGÃO OFICIAL DA SOCIEDADE PAULISTA DE LEPROLOGIA
(Declarada de utilidade pública. Lei n. 2891 de 23 - XII - 1954)
E DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE LEPROLOGIA

VOLUME 23

JANEIRO -DEZEMBRO DE 1955

NÚMERO 1-4

SIMPÓSIO SOBRE LEPROMINO-REAÇÃO E IMUNIDADE NA LEPROLOGIA. 19334953*

A. ROTBERG **

BREVE INTRODUÇÃO HISTÓRICA

Os estudos iniciais relativos à intradermo-reação na lepra e realizados já nos primeiros anos deste século visavam a obtenção de novo método diagnóstico, à maneira da tuberculino-reação pouco antes introduzida para o despistamento da infecção pelo bacilo de Koch. Datam de então numerosas técnicas com os mais diversos extratos ou suspensões, em água, álcool, glicerina, de leproma ou bacilos álcool-ácido-resistentes cultiváveis.

Sabemos do insucesso de todas essas tentativas e da insuficiência diagnóstica, que perdura até hoje, dos métodos alérgicos na lepra. No entanto, como espécie de "sub-produto" daquelas investigações, surgiu técnica que, falhando embora à sua finalidade primitiva-diagnóstica — veio a constituir elemento dos mais importantes da leprologia moderna e colaboradora indispensável do clínico, patologista, terapêuta, epidemiologista e sanitarista — a reação de Mitsuda-Hayashi ou lepromino-reação (aqui LR).

(*) Não abrange a literatura referente à natureza da lepromino-reação e experimentação no animal (simposista: Lopes de Faria (Rev. Bras. Leprol. 22: 145, 1954) nem as viragens, particularmente pelo BCG (simposista: Souza Campos, Rev. Bras. Leprol. 21: 292, 1953).

(**) Médico do D.P.L., S. Paulo. Docente Livre e Assistente da Clín. Dermatol. e Sifil. da Fac. Med. Univ. S. Paulo.

Revisão recente de WADE⁹⁷ sôbre as origens da LR refere OTA e SATO, que por sua vez atribuem a YOSHINOBU HAYASHI⁵⁵ a observação de que um triturado de leproma em sol. Ringer produzia reações locais inflamatórias na maioria dos casos "neurais", enquanto que os "nodulares" apenas revelavam eritema leve e fugaz. Só no ano seguinte (1919) é que MITSUDA⁶⁹ publicou suas observações sôbre o o "Valor diagnóstico de emulsão de nódulo leproso", preparação mais prática que o "Presshaf" de Y. HAYASHI, e com a qual notou conforme título de seu trabalho à Conf. de Estrasburgo que os "máculo-nervosos, de um lado, os tuberosos, de outro, se comportam diferentemente à inoculação de emulsão de tuberculo leproso".

Decorridos 10 anos, outro discípulo de MITSUDA, FUMIO HAYASHI⁵⁴ pôde observar numerosos casos da experiência original de seu mestre e relatar que os casos lepromino-positivos se conservavam em excelente estado clínico e bacterioscópico, enquanto que os lepromino-negativos continuavam em condições más ou mesmo piores.

Essa observação chamou a atenção geral para a possibilidade de utilização prognóstica da reação e esboçou uma grande divisão principal de tipos de lepra, de acôrdo com sua resposta ao material injetado.

É importante assinalar, no histórico da LR, a série de trabalhos empreendidos por pesquisadores das Índias Holandesas. Sôbre áreas de pele escarificadas pelo vacinostilo comum, aplica BARGEHR⁸ uma "lepromina em pasta" e DE LANGEN⁶⁰ um "pó de lepromina". A reação positiva se manifesta sob forma de eritema cujo início se observa já no primeiro dia, durando até o terceiro, ou como infiltração vermelho-escura podendo persistir por várias semanas. Entre nós. SOUZA ARAUJO⁵ e CERQUEIRA PEREIRA⁷⁷, confirmaram essas observações. Embora o processo das escarificações tenha perdido terreno para as injeções intradérmicas, é preciso reconhecer que grande parte das conclusões clínicas e epidemiológicas de BARGEHR e DE LANGEN continuam válidas ou dignas de estudo.

ESTADO DA QUESTÃO POR VOLTA DE 1933

A *preparação* de F. HAYASHI⁵⁴ modificava ligeiramente a de MITSUDA e consistia em ferver lepromas frescos, tritura-los, juntar 20cc de sol. fisiológica por grama de leproma, filtrar em gaze, aquecer a 60.º durante uma hora e adicionar fenol na proporção de 0,5%. Injeta ele 0,1cc no derma e faz leitura ao 8.º, 16.º e 24.º dias, classificando as reações de — a +++, conforme critério dimensional.

MUIR⁷² introduz fase de secagem do material lepromatoso, que pode assim ser reduzido a pó, com o qual, por simples suspensão em

solução fisiológica, fornece lepromina extemporaneamente. A esterilização é feita em autoclave, a 120.º por 1/2 hora.

A designação "emulsão de tubérculo leproso" de MITSUDA, assim como a de "vacina" de HAYASHI, estavam sendo suplantadas pela de "leprolina" com o correspondente "leprolin-test". Caiu em desuso o termo "lepromina" de BARGEHR, o qual foi, no entanto, retomado e defendido por ROTBERG⁸³.

Sabia-se, desde MARIANI⁶⁵⁻⁶⁶ que a LR, embora êsse autor a praticasse com lepromas frescos, produzia um infiltrado histológico de tipo tuberculóide "muito semelhante ao lupoma e ao que se observa na chamada lepra tuberculóide, com o significado de alergia, sensibilização e defesa do organismo contra o agente patogênico". Com a lepromina prôpriamente dita, esterilizada, encontra CHIYUTO²³ lesões semelhantes.

Nos *individuos sãos* já a observação original de MITSUDA⁶⁹ referia LR intensamente positivas em alta percentagem; também foram LR positivas 3 enfermeiras que ha longos anos trabalhavam em leprosário, o que levou o A. a interpretar o fato como prova da grande resistência de tais indivíduos ao bacilo da lepra.

MONTAÑES⁷¹ e ROTBERG⁸³ tinham confirmado a relação nítida entre a LR positiva e a benignidade da moléstia. MANALANG⁶⁴ e FERNANDEZ⁴³ notavam que, nos sãos, a positividade da LR se tornava mais freqüente nos grupos mais idosos, sendo habitual a negatividade da infância até 3 anos. ROTBERG⁸³ propõe o emprego da LR entre comunicantes, para seleção dos de menor resistência e merecedores de vigilância sanitária mais rigorosa.

EVOLUÇÃO DOS CONHECIMENTOS SOBRE A LR.

Dessa época em diante ampliou-se consideravelmente a literatura da LR. Confirmavam-se os resultados prévios ; aplicava-se a LR no estudo de coletividades doentes e sãs, tirando-se conclusões clínicas e prognósticos, patogenéticas e epidemiológicas; aperfeiçoavam-se os métodos de preparação no sentido de se obter produtos mais facilmente padronizáveis; averiguava-se a fração química da lepromina responsável pela reação e a histopatologia desta ; discutia-se o mecanismo da reação e suas relações com as provas tuberculínicas; notava-se a existência de fase de leitura precoce e estudavam-se suas relações com a fase tardia clássica; comprovava-se a LR positiva em animais de laboratório e tanto nestes como no homem procurava-se "virar" a LR da negatividade para a positividade no intuito de reforçar as defesas orgânicas contra a moléstia.

PREPARAÇÃO DA LEPROMINA

A técnica original de HAYASHI⁵⁴ foi modificada por RoTBERG⁸⁴, com a finalidade de obter melhor esterilização e rendimento do leproma — por triturações e decantações parciais após acréscimo sucessivo de frações da quantidade total do líquido calculado ; e substituído o aquecimento final, por autoclavação a 120.º durante 15min., à maneira de MUIR⁶³.

Tendo sido demonstrado que o fator responsável pela reação é o bacilo da suspensão tentou-se fazer a padronização da lepromina pela determinação da quantidade aproximada de germes em dose fixa de material (MENDES e CERQUEIRA,⁶⁸). FIELDING e COCHRANE⁴⁹ recomendam o método de BREED de contagem bacteriológica do leite para a lepromina de fraco teor bacilar, e o de BREED-OWEN para as de qualquer concentração.

É obvio o interesse em se retirar da massa grosseira do triturado de leproma ,o germe responsável no maior estado de pureza possível; essa retirada facilitaria o estudo da reação, eliminando elementos teciduais variados e provavelmente desnecessários, e facilitando as contagens e a padronização.

DHARMENDRA descreve método de preparar, a partir de material lepromatoso autoclavado, suspensão salina com bacilos livres e isolados, praticamente sem tecido ou globias; esta preparação é padrozida pelo método de BREED, de modo a conter 15.000.000 de bacilos por ml. Mais tarde, o mesmo autor prepara a hoje designada "lepromina bacilar" de DHARMENDRA³¹.

Autoclavar lepromas, triturar em gral com clorofórmio (50 ml para 2gr de leproma) pipetar o clorofórmio, acrescentar novas quantidades deste, pipetando sucessivamente até que esfregação da massa residual do leproma se revele isento de bacilos de Hansen. Evaporar o clorofórmio em banho-maria, do que resulta resíduo constituído de bacilos e lípidios; suspendê-lo em éter, centrifugar para remover os lípidios, separar os bacilos depositados e secá-los ao vácuo. A lepromina padrão é preparada suspendendo 1mg, de pó bacilar sêco em 10 ml de solução fisiológica fenicada. Para facilitar a suspensão, triturar previamente o pó com algumas gotas de NaOH N/10.

Outra "lepromina bacilar" é preparada por FERNANDEZ e OLMOS CASTRO,⁴⁶ valendo-se da densidade diferente do b. de Hansen e do material tecidual. As bactérias, separadas da suspensão de leproma em água e álcool por sedimentações sucessivas, são transformadas em pó seco, com o qual se faz suspensão a 1%, por peso, em salina; desta suspensão fazem-se diluições a 1:100 e 1:1000.

DHARMENDRA³¹ refere as vantagens do seu método pelo clorofórmio, que lhe daria um rendimento bacilar 3 vezes maior. FER-

NANDEZ e SERIAL⁴⁸ também recomendam a lepromina bacilar de Dharmendra, facilmente preparada e padronizada e tão potente e fiel quanto a lepromina integral.

Problema sério e que tende a agravar-se é o da obtenção do material lepromatoso. CAMPOS²⁰ propõe utilizar as grandes vísceras ricas de germes de doente lepromatoso autopsiado, baço e fígado, como fonte abundante de lepromina; aplicando a esses órgãos a técnica de DHARMENDRA, consegue substância comparável à lepromina clássica. O valor da "lepromina visceral" de Campos é confirmado por SCHUJMAN⁹¹ e por CONTRERAS e Cols.²⁷; BASOMBRIO e GATTI⁹ notam, contudo, certa inferioridade da lepromina visceral apenas no que se refere à fase precoce da reação (v. adiante "leitura").

Tendo FERNANDEZ⁴⁵ verificado que a fase precoce da reação (v. adiante "leitura") não depende da parte sólida da lepromina, preparam FERNANDEZ e OLMOS CASTRO⁴⁷ uma "lepromina filtrada", com a qual obtém aquela fase precoce, com exclusão da fase tardia.

A lepromina clássica, mas preparada na proporção de 1 gr de leproma para 10 ml de água destilada, é filtrada por gaze e por vela L3, concentrando-se o filtrado na estufa a 58.° C para reduzi-lo ao décimo, o que equivale a 1 gr de leproma por ml. Distribuir em frascos ou ampolas e autoclavar a 120.° por 1/2 hora.

Supõe-se ser protéica a fração responsável pela LR (v. "frações da lepromina" adiante). DHARMENDRA³⁰ sugere, para determinados fins (não para ao rotina) uma "lepromina protéica": o pó bacilar obtido pela técnica Dharmendra (acima) é suspenso em salina. Parte sedimenta, parte dissolve; as proteínas solúveis são isoladas juntando à salina parte igual de ácido tricloroacético a 20% e deixando sedimentar por 12 horas. Separar o precipitado, lavá-lo com éter, dissolvê-lo em salina com algumas gotas de NaOH N/10.

Apesar das vantagens de todas as preparações propostas, a mais corrente é ainda a lepromina clássica de HAYASHI, ou suas variantes.

TÉCNICA DA LEPROMINO-REAÇÃO

A lepromina é injetada no derma, em área livre de lesões, geralmente na face anterior do antebraço, braço ou região escapular. Prefere-se seringa tipo tuberculina, graduada em décimos ou centésimos, com a qual se introduzem 0,10 ml do material, bem superficialmente, de maneira a formar elevação com cerca de 1 cm de diâmetro.

As técnicas de escarificação de BARGEHR e DE LANGEN foram abandonadas.

A FASE PRECOCE DA REAÇÃO A LEPROMINA

A leitura após 3-4 semanas é indicada pela maioria dos autores e caracteriza o "fenômeno de Mitsuda" (WADE⁹⁶) ou "reação tardia". No entanto, já 24 horas após a injeção, pode-se notar, em certos casos, infiltração eritemato-edematosa cujo acme se dá às 48 horas, para depois involuir passando gradativamente para a fase tardia. Essa reação inicial foi observada por HAYASHI⁵⁴, RODRIGUEZ⁸¹, TISSEUIL⁹⁴, BHATTACHERJI¹³ e ROTBERG⁸³, mas sua verdadeira importância não foi devidamente apreciada a não ser por FERNANDEZ⁴⁵, a quem coube fazer um estudo completo da "reação precoce", como a designou, atraindo a atenção dos pesquisadores que não tardaram em incluí-la no processo rotineiro da leitura.

LEITURA DAS REAÇÕES E NOMENCLATURA

A leitura da reação passou-se, pois, a fazer em 2 tempos: às 48 horas (reação precoce ou de FERNANDEZ) e aos 21 dias (reação tardia ou de MITSUDA). Ambas essas fases constituem a "lepromino-reação" propriamente dita.

Os termos "lepromina" e "lepromin-test" foram aceitos pela I.L.A., para substituir "leprolina" e derivados.

Tendo observado reações ainda em progresso por volta da terceira semana, época habitual de leitura, ROTBERG⁸⁴ sugeriu aumentar para 30 dias o prazo de observação, e, em alguns casos duvidosos, por mais 2-4 semanas, antes de formar juízo definitivo. Recentemente, MOTTA DE AQUINO³ notou, em estudo de 226 casos, que 5 reações positivas + aos 21 dias se tornaram ++ e +++ aos 60 dias e mais.

A II Conf. Panam. de Lepra (Rio de Janeiro, 1946)²⁵ estabeleceu os seguintes critérios de leitura:

a) Reação de FERNANDEZ - A leitura deve ser feita 48 horas depois da injeção do antígeno. Interpretação-Negativa (/—/) ausência de halo, ou halo inferior a 5mm. Duvidosa (±), halo maior que 5 e menor que 10mm. Positiva (+), halo eritematoso infiltrado, bem delimitado, de 10 a 15mm. Positiva (++) , idem, de 15-20mm Positiva (+++) , idem, maior de 20mm.

b) Reação de MITSUDA - Leitura entre 20 e 30 dias. Para a leitura, ter em conta: diâmetro, cor, infiltração, evolução. Interpretação: Negativa (/—/) : ausência de elemento visível ou palpável. Duvidosa (±) elemento perceptível, sem os caracteres de positividade, adiante descritos. Positiva (+), elemento saliente, infiltrado, de cor variando do róseo ao violáceo, progressivo e persistente, de 3 a 5mm de diâmetro. Positivo (++) , idem, maior de 5mm. Positivo (+++) , quando haja ulcerações.

RELAÇÕES ENTRE A REAÇÃO DE FERNANDEZ E A DE MITSUDA.

Em um total de 563 indivíduos, dos quais 312 doentes de lepra e 251 comunicantes (filhos de doentes), obtem FERNANDEZ⁴⁵, 520 vezes a concordância de ambas as reações (92,4%, sendo cerca de 50% com ambas negativas, cerca de 43% com ambas positivas) ; 4,8% de dúvidas e apenas 2,8% de conflito.

Há portanto, concordância geral entre as reações precoces e tardias, os casos Fernandez-positivos, com raras exceções sendo também Mitsuda-positivos. Os casos Fernandez-negativos, porém, nem sempre se mantém Mitsuda-negativos, havendo pois, certa percentagem deles que se torna positiva à leitura tardia e representa a fonte mais comum de conflito entre as duas fases.

Esta concordância freqüente, assim como a pequena proporção de resultados discordantes, foram confirmados por LOWE e DHARMENDRA⁶³ BASOMBRIO e ZAVALETA¹⁰, CASTRO e ARCURI²¹, ROTBERG e SOUZA CAMPOS⁸⁹, todos assinalando que, em caso de conflito, êste é geralmente do tipo RF-RM+, de acôrdo com a observação de FERNANDEZ. MOTTA DE AQUINO³ refere 80,23% de concordâncias; entre os resultados discordante há, porém, uma proporção algo maior que a observada por outros autores no que se refere ao fato Fernandez + Mitsuda /—/ (6,18% em 226 doentes, sendo 1 caso, ou 0,44%, do tipo Fernandez +++ Mitsuda ±).

As percentagens de concordância e discordância variam de autor para autor conforme se consideram os grupos estudados — são comunicantes, são sem contacto com lepra, doentes de vários tipos de lepra. Estes pormenores serão cuidados quando se estudar a lepromino-reação nesses diferentes grupos (adiante).

A LEPROMINO-REAÇÃO NA LEPRO

A desigualdade de comportamento à lepromina das diversas formas de lepra (MITSUDA⁶⁹) foi confirmada a partir de 1934 por grande número de autores em todas as regiões do mundo, podendo-se, apesar dos critérios diversos de nomenclatura e classificação, apreciar a relação estreita entre LR positivas e formas benignas (maculosas, neuro-maculares, nervosas ou neurais, bacteriológicamente negativas) de um lado, e entre LR negativas e formas malignas (cutâneas, nodulares, tuberosas, bacteriológicamente positivas) de outro lado.

Em 1937, ROTBERG⁸⁴ procura investigar a correlação entre os resultados da LR com uma série de "aspectos" clínicos (e não com

as "formas" de lepra admitidas) entre os quais inclui o aspecto tuberculóide; observa a positividade constante da LR nos doentes portadores dêste tipo de lesão e a negatividade praticamente global dos portadores de lesões lepromatosas-lepromas, máculas pigmentares, infiltração difusa. Os casos maculosos simples se dividiam entre LR positivos e negativos, assim como os "nervosos", estes com grande maioria de reações positivas.

Ao propôr as formas polares de lepra (tuberculóide e lepromatosa) a Classificação Sul-Americana, mais tarde internacionalmente aceita como Classificação de Havana⁶⁷, aceitou com uma das provas do antagonismo dêsses polos, exatamente a reatividade desigual, respetivamente positiva e negativa, daqueles aspectos. Daí para diante, o tipo tuberculóide passou a ser considerado geralmente LR positivo e o lepromatoso LR negativo, por definição. O grupo "indeterminado", incluindo os casos portadores de lesões "maculosas simples", eritematosas e discrômicas, são, segundo Havana, LR negativos ou fracamente LR positivos.

Trabalhos subseqüentes, baseados na Classificação Sul-Americana ou na de Havana, confirmam essa distribuição geral, alguns apresentando, porém, sugestões novas ou objeções parciais. ROTBERG⁸⁶ em 182 casos "indeterminados", refere 61,4% de reações fortes, ++ e +++ . A fase reacional de lepra tuberculóide (ROTBERG e BECHELLI⁸⁷), é muito freqüentemente LR negativa.

FLOCH e DESTOMBES⁵⁰ em 43 casos tuberculóides infantis, referem 3 LR negativas, 24 positividade fracas + e apenas 16 fortes, ++ e +++ ao passo que em 85 crianças com lepra "indeterminada" encontram 46 negativos, 36 + e apenas 3 LR fortes ++.

Os casos lepromatosos (antigos nodulares, cutâneos, tuberosos) são praticamente sempre negativos à LR. É algo discordante o trabalho de IGNACIO⁵⁷ que refere 15% de LR positivas nos casos "cutâneos", persistindo durante o surto de reação leprótica, mas deve-se notar que essa positividade é quase sempre do grau + apenas, que, segundo ROTBERG⁸⁶ não tem maior significação imunitária. Com efeito, estudando um grupo de 194 tipicamente lepromatosos, êste último autor encontrou 74 LR positivos fracos, classificados +segundo a leitura de Hayashi (e a da Conf. Panamericana, Rio, 1946) o que indicaria a pouca confiança oferecida por tal intensidade de reação. Ponto de vista idêntico é esposado por NOLASCO⁷⁵ e HARREL e HORNE⁵³.

SCHUJMAN⁹² observa que os casos lepromatosos melhorados sob ação das sulfonas ou dos chaulmúgricos, permanecem LR negativos; mas em 20 doentes totalmente branqueados e negativados bacteriológicamente, houve 2 passagens para a positividade fraca (+).

REAÇÃO DE MITSUDA NOS SÃOS

Os resultados da reação de Mitsuda nos indivíduos são devem ser estudados tendo em vista sua idade, a endemicidade da região habitada e o contacto com casos conhecidos de lepra contagiante.

A reação é habitualmente negativa na primeira infância, sendo esta observação original de CHYIUTO²³ confirmada por numerosos autores como MUIR⁷², MUIR e CHATTERJI⁷³, CERQUEIRA PEREIRA⁷⁷, SOUZA CAMPOS¹⁷, SOUZA CAMPOS e ROTBERG¹⁹, BURNET¹⁶, que fizeram suas observações em áreas endêmicas. Em áreas não endêmicas DHARMENDRA e JAIKARIA³² chegaram às mesmas conclusões.

Aos 3-5 anos em geral, começam a surgir as LR positivas, como verificado por muitos dos autores acima e inclusive por COCHRANE e cols²⁴ aumentando a frequência da positividade com o crescimento dos grupos de idade. Dados de SOUZA CAMPOS e ROTBERG¹⁹ sobre 94 menores de 5 a 17 anos, revelam 22,3% de reações fortes ++ +++, mas fracionando-se esse total em grupos menores nota-se elevação percentual gradativa da infância à puberdade.

Nas crianças sãs, comunicantes de casos contagiantes de lepra, FERNANDEZ⁴³ observa a elevada frequência de 23 LR positivas em 32, enquanto que em 18 crianças de focos "fechados" (tuberculóides) só houve 3 positificações. Esta diferença de comportamento é confirmada por ZURITA⁹⁹ que, em 36 crianças comunicantes de casos "abertos" obteve 55,55% de LR positivas contra 0% de positivities em 47 crianças, comunicantes de doentes não contagiantes.

Foi francamente confirmada a observação de MITSUDA⁶⁹, BARGEHR⁸, DE LANGEN⁶⁰ quanto à positividade freqüente do adulto são, residente em área endêmica de lepra.

A fase precoce da reação (R. de Fernandez), diante da concordância habitual observada com a fase tardia de Mitsuda (v. acima) apresenta resultados quase paralelos ao desta última, nos diversos tipos de lepra. Ela é, portanto, negativa nos casos lepromatosos, em geral positiva nos tuberculóides, variavel nos "indeterminados".

Em doentes não contagiantes de diversos tipos de lepra, em tratamento ambulatorio, ROTBERG e SOUZA CAMPOS⁸⁹ encontram 84 Fernandez ++ dos quais 76 (90,46%) são igualmente Mitsuda fortemente positivos (++ e +++) e 165 Fernandez, nos quais a percentagem de Mitsuda forte baixa para 21,8%. No tipo lepromatoso, BASOMBRIO e ZAVALITA¹⁰ assinalam 5% de Fernandez-positivos seguidos, porém, de Mitsuda-negativos, como de regra nestes casos.

Todos estes dados falam a favor da necessidade de observar ambas as fases para formar juízo definitivo de resultado da LR.

A reação de Fernandez comporta-se nos são aproximadamente como a de Mitsuda. ROTBERG e SOUZA CAMPOS⁸⁹ em crianças filhos de doentes de lepra, comunicantes ou não, observam 291 reações Fernandez-negativos (com 6,21% de Mitsuda-positivos) 148 Fernandez fracos (com 32,43% de Mitsuda-positivos fortes) e 272 Fernandez-positivos fortes (com 85,26% de Mitsuda-fortes). Ha portanto, num total de 711 crianças de descendência de doentes, 56,2% de Fernandez-positivos, + e ++ Em grupo de crianças sãs, sem contacto com doentes de lepra, SOUZA CAMPOS e ROTBERG¹⁹ encontram apenas 17% de Fernandez + e ++ em 88 estudados, e 22,3% do Mitsuda-fortes em 94.

Agrupando os resultados a que chegaram: DUBOIS e DEGOTTE⁴⁰, HAYASHI⁵⁴, CHIYUTO²³, CERQUEIRA PEREIRA⁷⁷, MONTAÑES⁷¹, FERNANDEZ⁴³ e ROTBERG⁸⁴, pode-se admitir que 70 a 85% dos individuos são vivendo em áreas endêmicas de lepra, são tipicamente positivos à lepromina. CHIYUTO²³ e TAJIRI⁹³ chegam a 100%.

DHARMENDRA e JAIKARIA³² em área endêmica de Bengala, encontram freqüência nitidamente crescente da positividade da LR em individuos são, com o aumento da idade, desde 21% no grupo 0-5 anos até 89% no grupo 21-30 e 98% acima de 30 anos.

Em S. Paulo, 163 adultos são, sem contacto conhecido com a lepra, apresentaram 84 Mitsuda-positivos ++ e 33 +++, ou seja 71.7% de Mitsuda-fortes; a percentagem se elevaria a 98,2% se se incluíssem os 43 Mitsuda fracos (SOUZA CAMPOS e ROTBERG¹⁹). Estes dados contrastam bem com os 22,3% de Mitsuda-fortes, em menores da mesma área, observados pelos mesmos autores. A reação de Fernandez foi positiva em 55,2% dos casos, havendo pois 42,7% de negatividade.

Muito importante para o estudo da natureza da LR é o seu comportamento em individuos são de áreas não endêmicas de lepra e, portanto, sem contacto provavel com casos da moléstia.

CUMMINS e WILLIAMS²⁸, na Inglaterra, DUBOIS nu Bélgica, BONCINELLI¹⁴ na Italia, ESSEVELD⁴¹ na Holanda, FERNANDEZ⁴³ na França; DHARMENDRA e JAIKARIA³² no Punjab; HARREL P HORNE⁵³, ROTBERG, BECHELLI e KEIL⁸⁸ AZULAY e CONVIT⁷, nos EE.UU.; CON TRERAS e DEL POZO²⁶ na área de Madrid, estão entre os autores que assinalaram LR positivas em regiões indenes de lepra endêmica.

Estes dados falam a favor da desnecessidade do fator lepra para a determinação da lepromino-positividade (v. adiante "natureza da LR"). Contudo ROTBERG⁸⁴ que tinha julgado em geral fraca a positividade obtida por CUMMINS e WILLIAMS, DUBOIS, e BONCINELLI, continua, em colaboração com BECHELLI e KEIL⁸⁸ com a impressão de que a freqüência e a intensidade das reações são maiores em meio endêmico (3,1% de reações ulceradas nos casos desses autores nos

EE.UU., contra 20,2%, com o mesmo material e técnica, nos sãos de S. Paulo (SOUZA CAMPOS e ROTBERG¹⁹. Essa impressão é compartilhada por HARREL e HORNE⁵³ e por DHARMENDRA e JAIKARIA³²; êstes ultimos observaram 36% de reações positivas nunca ulceradas, em área praticamente livre de lepra da Índia (Punjab), contra 59%, freqüentemente ulceradas, na área endêmica de Bankura.

VALOR PROGNOSTICO DA LR.

A importância da LR para avaliar o prognóstico da lepra ressalta de tôdas as considerações já expostas no que se refere à reatividade dos diversos tipos da moléstia e, particularmente, da observação original de HAYASHI⁵⁴. Refere RADNA⁸⁰ que, de seus 115 doentes que apresentaram melhoras no espaço de 1 ano, 76,5% eram LR positivos, enquanto que em 11 inalterados só houve uma reação positiva.

Estudando 445 casos em tratamento ambulatorio, durante um período de observação de 5-6 anos após a prática da LR, ROTBERG⁸⁶ verifica que, de 253 casos LR++ e +++ ,223 se mantiveram inalterados e apenas 20 sofreram pioras, mas sempre de tipo tuberculóide benigno; em contraposição, entre os 91 LR-negativos e 101 LR fracos +, houve respectivamente 54 (mais de 50%) e 32 lepromatizações. Êste fato, aliado às reações fracas + observadas na lepra lepromatosa florida, levam êsse autor a concluir pela pouca significação imunitária das reações dêsse grau.

Isolando de seus dados apenas os que se referiam dos casos maculosos simples, "indeterminados", ROTBERG⁸⁶ nota, nesse período de 5-6 anos, 10 lepromatizações em 21 LR-negativos, 11 em 44 LR+ e nenhuma em 117 LR++ e +++ Apesar, pois, das lepromatizações de casos LR+ fracos, elas são menos freqüentes que nos totalmente LR negativos.

DHARMENDRA e SANTRA³¹ e DHARMENDRA e MUKHERJI³⁸ em estudos semelhantes na Índia, confirmam o valor das LR positivas para afirmar o prognóstico favorável dos casos de lepra e a elevada freqüência de pioras e lepromatizações nos grupos LR= negativo também o grau de positividade influenciou o prognóstico, êste sendo tanto melhor quanto mais intensa a reação.

Sabemos (v. acima) que os casos já lepromatizados podem dar reações fracas +; mesmo êstes teriam mais probabilidades de melhora e involução que os totalmente LR-negativos (HAYASHI⁵⁴; RODRIGUEZ⁸¹; IGNACIO⁵⁷; LAGROSA⁵⁹; IGARASHI e HAYASHI⁵⁶; DHARMENDRA e SANTRA³⁸ DHARMENDRA e MUKHERJI³⁷).

Nos *individuos sãos*, a LR teria possibilidade de indicar o grau de receptividade ou resistência à lepra. SOUZA CAMPOS e FERNAN-

DEZ¹⁸, estudando filhos de doentes de lepra, notam que todos os 9 que adoeceram num determinado período eram LR-negativos. BECHELLI¹² propõe a avaliação, pela LR, da resistência à lepra de indivíduos são que pretendam ingressar nos serviços de profilaxia contra a moléstia.

HISTOPATOLOGIA DA LR.

As primeiras horas da LR são caracterizadas por fenômenos de inflamação aguda (MANALANG⁶⁴; HAYASHI⁵⁴). SCHUJMAN⁹⁰ observa nos cortes de LR positivas processo agudo no segundo dia, que da lugar no oitavo dia a tecido inflamatório de tipo crônico, com linfócitos, células epitelióides e gigantes, às vezes já uma disposição folicular com contemporâneo desaparecimento dos bacilos da lepromina injetada; nos casos lepromatosos, pelo contrário, observa esse autor no 2.º dia inflamação mais fraca, na qual os bacilos estão mais conservados, envolvendo depois o processo sem chegar à estrutura tuberculóide.

BUNGELER e FERNANDEZ¹⁵ notam a presença, nos cortes de reação positiva precoce de 48 horas, de alterações inespecíficas do tipo inflamatória agudo, muito intenso, mas também de alguns nódulos nitidamente circunscritos, com tumefação e início de necrose fibrinoide do tecido conjuntivo frouxo, principalmente periglandular e na adventícia dos pequenos vasos. Ainda e de preferência nesses mesmos pontos, assinalam focos de necrose fibrinóide franca e início de afluxo de elementos histiocitários. As lesões se assemelham às da "injúria do conetivo" de Roessle e seriam idênticas às observadas pelos mesmos autores na fase precoce da "reação tuberculóide". Do 8.º ao 10.º dia os histiócitos formam nódulos envolvidos por halo linfocitário e ao 30.º a estrutura tuberculóide é completa, com células epitelióides e presença ou não de células gigantes tipo Langhans (SCHUJMAN⁹⁰; BUNGELER e FERNANDEZ¹⁵).

Na reação fraca e fugaz inicial, observada em alguns casos do tipo lepromatoso, ALAYON¹ encontra fenômenos inflamatórios agudos, inespecíficos, às vezes com formação de micro-abscessos, mas faltando as alterações de tipo alérgico, específicas, como a degeneração e necrose fibrinóides, características das LR positivas. Em raros casos encontra ALAYON, no corte de LR de 48 horas em lepromatoso, alguns focos de necrose fibrinóide, que atribui à proximidade, verificada histologicamente, de lepromas ou infiltrações lepromatosas; tratar-se-ia de reação focal em tecido localmente sensibilizado.

A LR positiva tardia, portanto, é um granuloma tuberculóide, segundo os autores citados, que confirmam a observação original de

MARIANI⁶⁵, com lepromina não esterilizada e a de CHIYTO²³, com a clássica. Mesmo nos pequenos nódulos tardios, de classificação duvidosa, que ocorrem, pouco freqüentemente na própria lepra lepromatosa, notam RABELLO e ROTBERG⁷⁸ estruturas tuberculóides esboçadas.

FATORES DA LEPROMINA RESPONSÁVEIS PELA REAÇÃO E FRACIONAMENTO QUÍMICO

Da filtração da lepromina por filtros bacterianos, resulta substância incapaz de reproduzir o fenômeno de Mitsuda (tardio) (HAYASHI⁵⁴; FERNANDEZ⁴⁵; BONCINELLI¹⁴; MUIR⁷² Logo, é o elemento sólido não filtravel o produtor da LR tardia; mas é ainda necessário investigar qual dos sólidos-tecido ou germe- está em jôgo.

Contra a importância do primeiro fator falam as reações negativas ou muito fracas obtidas com tecido leproso pauci-ou abacilar, como certos gânglios de casos lepromatosos (HAYASHI⁵⁴) leprides tuberculóides (FERNANDEZ⁴³) nódulos de "reação leprótica" (BONCINELLI¹⁴). Por outro lado o material que se obtém com a técnica de MONTAÑES⁷¹, quase que totalmente constituído de bacilos de Hansen em suspensão salina, e as leprominas bacilares de DHARMENDRA e de FERNANDEZ e OLMOS CASTRO, suspensões puras de germes, produzem reações típicas em tudo semelhantes à LR clássica.

A reação tardia de Mitsuda é, pois determinada pelo elemento bacilar do antígeno da preparação.

A reação precoce de 48 horas é clinicamente pouco alterada pela filtração, notando-se por vezes apenas diminuição do seu tamanho. Essa lepromina filtrada abacilar, não produz, porém, as lesões histológicas de tipo alérgico que caminham progressivamente para a formação do nódulo histiocitário (BUNGELER e FERNANDEZ¹⁵) parecendo ser necessário igualmente o bacilo para a determinação da reação precoce completa. De fato, CHALA²² demonstra que cora a lepromina bacilar desintegrada se obtém reações precoces mais fortes que com o filtrado.

Segundo LOWE e DHARMENDRA⁶³ a reação precoce seria produzida por substância já livre no leproma, enquanto que a tardia dependeria do mesmo antígeno libertado tardiamente pelo bacilo.

Determinado assim o papel do bacilo na gênese da reação, resta procurar nesse germe o elemento químico responsável. PARAS⁷⁶ pouco obtém com as frações lipídicas do material lepromatoso. RABELLO, VILLELA e TOSTES⁷⁹, VILLELA⁹⁵ isolam do leproma substância protéica que reproduz a LR, o que não sucede com a fração lipídica.

É interessante assinalar, nesse sentido, que a remoção da ácido-resistência dos bacilos de lepromina por métodos químicos (HAY-

ASHI⁵⁴; NAGAI⁷⁴) ou pelas ondas ultra-sonoras (KITANO e INOUÉ⁵⁸, não altera muito sua atividade, enquanto que a lise da proteína pela soda anula a sua capacidade de produzir reações (DUBOIS e DEGOTTE⁴⁰).

Uma série de trabalhos de DHARMENDRA³⁰, DHARMENDRA e JAIKARIA³³, DHARMENDRA e LOWE³⁴ concluem definidamente pela importância das proteínas do bacilo (isolado pelo método Dharmendra) e particularmente da núcleo-proteína, na gênese da LR ; todas as proteínas isoladas reproduzem a fase precoce de Fernandez; a fase tardia de Mitsuda seria consequência do desprendimento lento da proteína bacilar.

Opiniões discordantes são as de HARREL e HORNE⁵³ e LOPES DE FARIA⁴² que, considerando embora a proteína responsável pela reação precoce, admitem que a fase tardia seja produzida pelas frações lipídicas lentamente libertadas pela destruição do bacilo de Hansen no tecido. WADE⁹⁸ lembra, em oposição a essa hipótese, os trabalhos de RAFFEL, que concluiu que as chamadas "cêras purificadas" do bacilo da tuberculose, responsáveis por muitas reações imunológicas, continuam, na realidade, proteínas resistentes à extração.

VARIAÇÕES LOCAIS DA LR NO MESMO INDIVÍDUO

HAYASHI⁵⁴ notara reações mais fortes e intensas nas bordas e no interior das máculas, principalmente das leprides tuberculóides, que fora delas, conclusão parcialmente confirmada por DUBOIS e DEGOTTE⁴⁰, e MENDEZ e CERQUEIRA⁶⁸ e por DAVEY²⁹. DHARMENDRA e MUKHERJEE³⁶ também referem, nos casos LR positivos, reações mais intensas no centro das lesões que no exterior, e tanto mais intensas quanto mais infiltrada a lepride; há contudo, exceções, em que o exterior reage mais fortemente.

BASOMBRIO e Cols.¹¹ notam 71 7o de concordâncias entre os resultados da LR em pele sã ou doente. As discordâncias se observam geralmente no tipo tuberculóide (LR mais fortes dentro da lesão) que no tipo L, em que observaram reações mais intensas no exterior.

MENDES e CERQUEIRA⁶⁸, com lepromina padronizada, notam, independentemente da existência de lesões, variações regionais da capacidade de reação de ponto para ponto da pele do mesmo indivíduo, chegando mesmo à positividade forte associada à negatividade. DHARMENDRA e MUKHERJEE³⁶ confirmam a existência dessas variações locais, embora não tão acentuadas como as notadas por MENDES e CERQUEIRA⁶⁸.

OUTRAS CIRCUNSTÂNCIAS DE VARIAÇÃO

DHARMENDRA, LOWE e MUKHERJI³⁵ observam que, nos mesmos casos e com a mesma partida de lepromina, as LR são mais intensas no verão que no inverno.

MUIR e CHATTERJI⁷³ assinalam diminuição das LR em fases de depressão geral orgânica por moléstias intercorrentes; ROTBERG⁸⁴, tendo encontrado LR fortemente positivas freqüentes em casos debilitados por tuberculose, blastomicose e outras afecções, discorda daquela conclusão, o mesmo se dando com LARA⁶¹ e IGNACIO⁵⁷. A maioria dos autores admite que a LR fortemente positiva só excepcionalmente se torna LR negativa ; os casos de negatificação se referem em geral a LR positivas fracas +.

O caso inverso, isto é, a positivação de indivíduo previamente lepromino-negativo, é de observação bem mais freqüente e se observa muitas vêzes na evolução gradual do caso "indeterminado" para o tuberculóide, na explosão aguda de reação tuberculóide e em outras circunstâncias mais raras. O caso lepromatoso, negativo à LR, poderia tornar-se LR positivo. GUIMARÃES⁵², não observa variações quer da reação precoce quer da tardia, por administração oral de antihistamínicos iniciada 8 dias antes da injeção e mantida até a época da leitura tardia.

As viragens da LR por meios artificiais, como o BCG, constituem outro tema deste simpósio (vide SOUZA CAMPOS), Rev. Bras. Lepr. 21:292,58).

REAÇÕES FOCAIS E GERAIS A LEPROMINA

FERNANDEZ⁴⁴ observa que dose maciça de lepromina (1,5 ml) injetada sob a pele de caso lepromatoso, nada produz digno de nota no estado geral ou nas lesões cutâneas. Nos casos tuberculóides, pelo contrário, manifesta-se, nas mesmas condições, reação tríplex: 1) Reação geral intensa, iniciando-se 6 horas após a injeção, com hipertermia (até 40.°C), calefrios, artralguas, prostração, que desaparecem em 24 horas. 2) Reação focal, iniciando-se igualmente cerca de 6 horas após a injeção e interessando todas as lesões tuberculóides preexistentes, onde se notam congestão, ardôr e prurido, formação de halo eritematoso largo; o acme dessa reação é observado às 24 horas, dando-se a involução da 48.^a à 72.^a hora. Participam, às vêzes, dessa exacerbação, os resíduos de LR anteriormente praticadas. 3) Reação local no ponto da injeção subcutânea, sob forma de tumefação inflamatória dolorosa, que se desenvolve dentro de 24 horas e que mais tarde se transforma em grande nódulo profundo, ulcerando-se geralmente, na 3.^a ou 4.^a semana.

No halo inflamatório das lesões reativadas, os achados histopatológicos são os que já foram assinalados para as reações de Fernandez (BUNGELER e FERNANDEZ¹⁵).

ESPECIFICIDADE DA LR

Deve notar-se que as reações focais e gerais acima referidas são específicas, pois só a lepromina consegue desencadear essa série de fenômenos (FERNANDEZ⁴⁴). Mais recentemente, porém, tem-se observado casos de reativações focais de lesões tuberculóides ou resíduos de LR, por administração de BCG ou tuberculina (ROSENBERG, SOUZA CAMPOS e AUN⁸²; MOTTA DE AQUINO⁴).

Por outro lado, só as lesões leprosas e, entre estas, apenas as de tipo tuberculóide, sofrem as conseqüências dessa reativação por injeção maciça de lepromina. Esse fenômeno não é observado nas lesões lepromatosas nem nas lesões não leprosas ou cicatrizes outras que as de LR ou de leprides tuberculóides.

É característico da lepromina produzir LR positivas nos casos tuberculóides e LR negativas nos lepromatosos. Esta dissociação nítida não pôde ser repetida até hoje, com segurança, com suspensões de outros bacilos ácido-resistentes como os saprofitos, as chamadas culturas do *M. leprae*, o leproma murino (lepromina de "Stefansky" de MUIR⁷²) a tuberculina e o BCG.

MOM e BASOMBRIO⁷⁰ referem que o 2-4-dinitroclorobenzeno comporta-se como a lepromina em ambos os tipos da moléstia. Esses resultados, confirmados por GARCIA MIRANDA⁵¹ são contestados por AZULAY⁶ .

Outro aspecto do problema é a capacidade de positivação da LR por atuação de germes vizinhos, como o de Koch virulento ou atenuado (BCG), vivo ou morto, em diversos veículos e por diversas técnicas.

Tratando-se de assunto que pode ser considerado na pauta do dia, mereceu tema de relação à parte neste simpósio (Souza Campos, N.: O BCG na profilaxia da Lepra (Revisão bibliográfica). Rev. Bras. Lepr. 21:292 :314, 1953) .

LEPROMINO-REAÇÃO NO ANIMAL E NATUREZA DA LR

O estudo da LR experimental no animal tem trazido contribuição importante para o conhecimento de seu mecanismo. Também este tema é tratado destacadamente neste simpósio, assim como a

própria natureza da LR (Vide Lopes de Faria, Rev. Bras. Leprol. 22:145, 1954).

BIBLIOGRAFIA

- 1 - ALAYON, F. L. — Histologia do leprolin test nos lepromatosos. Rev. Bras. Leprol. 7: 3-17, 1939.
- 2 — ALAYON, F.L. & LIMA, L. S. — Sobre a histologia da reação de Mitsuda em lepromatosos. Nova contribuição ao seu estudo. Rev. Bras. Leprol. 8: 367-374, 1940.
- 3 — AQUINO, U. M. de — Lepromin test, reação precoce e reação tardia em uma coletividade doente. Rev. Bras. Leprol. 16: 295-305, 1948.
- 4 — AQUINO, U. M. de — Observação e discussão de um caso de lepra tuberculoides Mitsuda-negativo; reação focal despertada pela tuberculina. Hospital, 35: 745-753, 1949.
- 5 — ARAUJO, H. C. S. — A cuti-reação de Bargehr na lepra (nota preliminar) Medicamenta, 11: 2-6, 1932.
- 6 — AZULAY, R. D. — Estudo das intradermo-reações pelo 2-4-dinitroclorobenzeno e pela lepromina. An. Brasil. Dermat. e Sif. 23: 267-272, 1948.
- 7 — AZULAY, R. D. & CONVIT, J. — The Mitsuda test in non-leprosy persons in a non-endemic country. Internat. J. Leprosy, 15: 264-266, 1947.
- 8 — BARGEHR, P. — Spezifische Hautreaktionen bei Lepra. Ztschr. Immunitätsforsch. 49: 346-353, 1926.
- 9 — BASOMBRIO, G. & GATTI, J. C. — Estudio comparativo entre la lepromina bacilar (Fernandez) y la lepromina cadaverica (Campos). Internat. J. Leprosy, 17: 379-382, 1949.
- 10 — BASOMBRIO, G. & ZAVALTA, G. A. T. — Concordancia entre las reacciones a la lepromina, precoz y tardia. 1:1 Conf. Panamer, de Lepra, Rio de Janeiro, 1946, pág. 104-111.
- 11 — BASOMBRIO, G.; GATTI, J. C.; CARDAMA, J. E.; COLOMBO, C. V. & WILKINSON, F. F. — Reaction to lenromin in healthy and ad affected skin. Internat. J. Leprosy, 19: 161-164, 1951.
- 12 — BECHELLI, L. M. — Da conveniência de se fazer a reação de Mitsuda nos funcionários que trabalham em contacto direto com o doente de lepra. Rev. Argent. Dermatosisif. 31: 484-485, 1947. Resumo in V Congr. Int. Lepra, Havana, 1948, pág. 908.
- 13 — BHATTACHERJI, K. — Experiments with leprolin. Leprosy India, 7: 79-82, 1935.
- 14 — BONCINELLI, U — Ricerche ed osservazioni sulla reattività cutanea dei lebbrosi alle cosidete "lepromine" Giorn. Ital. Dermat. e Sif. 78: 629-651, 1937.
- 15 — BÜNGELER, W & FERNANDEZ, J. M. M. — Estudo clínico e histológico das reações alérgicas na lepra. Rev. Bras. Leprol. 8: 157-170, 1940.
- 16 — BURNET, E. — La reaction à la leproline chez un groupe lepreux en Tunisie. Arch. Inst. Pasteur, Tunis, 27: 341-359, 1938.
- 17 — CAMPOS, N. S. — Resultado do leprolin-test nos preventórios de filhos de leprosy. Rev. Bras. Leprol. 6: 31-48, 1938.
- 18 — CAMPOS, N. S. & FERNANDEZ, J. M. M. — Resultados da reação de Mitsuda nas crianças dos preventórios. An. Paul. Med. Cir. 37: 308, 1939.

- 19 — CAMPOS, N. S. & ROTBERG, A. — Reações precoces e tardias à lepromina. Estudo de correlação. Rev. Bras. Leprol. 15: 29-36, 1947.
- 20 — CAMPOS, R. de C. J. — Lepromina "ex-cadavere". Rev. Bras. Leprol. 17: 91-96, 1949.
- 21 — CASTRO, N. O. & ARCURI, P. B. — Reaccion precoz de Fernandez y tardia de Mitsuda a la lepromina, en convivientes de lepra. Estudio comparativo. II Conf. Panamer. Lepra, Rio de Janeiro, 1946, págs. 148-151.
- 22 — CHALA, H. J. I. — Epidemiologia de la lepra; reacciones cutaneas con leprominas. II Conf. Panamer. Lepra, Rio de Janeiro, 1946, págs. 152-161.
- 23 — CHIYUTO, S. — Leprolin test. Month. Bull. Phillipine Health Serv. 12: 300-307, 1932.
- 24 — COCHRANE, R. G.; RAJAGOPALAN, G.; SANTRA, I. & RAJ, M. P. — A study of the lepromin reaction in children with special reference to contact. Leprosy India, 13: 5-13, 1941.
- 25 — Conferência Panamericana de lepra, (II), Rio de Janeiro, 1947 3.0 vol. pág. 185.
- 26 — CONTRERAS, F. & DEL Pozo, J. — La reaccion de Mitsuda en sujetos alejados de ambiente leprogeno. Rev. Argent. Dermatosis. 31: 537-543, 1947.
- 27 — CONTRERAS, F.; GUILLÉN, J.; LJOMBART, A. & TORELLA, E. — Lepromina visceral. Actas Dermo-Sif. 42:241-257, 1950.
- 28 — CUMMINS, L. D. & WILLIAMS, E. M. — Cutaneous sensitivity to acidfast bacilli in suspension. British M. J. 1: 702-703, 1934.
- 29 — DAVEY, T. F. — Some observations on the role of allergy in lep. y. Port T - Allergy as seen in tuberculoid leprosy. Part II — Allergy and the macular series. Internat. J. Leprosy, 16: 40-62, 1948.
- 30 — DHARMENDRA — The immunological skin tests in leprosy. I — The isolation of a protein antigen of *Mycobacterium leprae*. Indian J. M. Res. 30: 1-7, 1942. Resumo in Internat. J. Leprosy, 11: 91, 1943.
- 31 — DHARMENDRA — Studies of the lepromin test. IX — A bacillary antigen standardized by weight, Leprosy India, 14: 122-129, 1942.
- 32 — DHARMENDRA & JAIKARIA, S. S. — Studies of the lepromin test. 2 — Results of the test in healthy persons in endemic and non-endemic areas. Leprosy India, 13: 40-47, 1941.
- 33 — DHARMENDRA & JAIKARIA, S. S. Studies of the lepromin test. 10 Results of the test with various antigens in non contacts. Leprosy India, 15: 40-45, 1943.
- 34 — DHARMENDRA & LOWE, J. — The immunological skin tests in leprosy. II — The isolated protein antigen in relation to the classical Mitsuda reaction and the early reactions to lepromin. Indian J. M. Res. 30: 9-15, 1942. Resumo in Internat. J. Leprosy, 11: 91, 1943.
- 35 — DHARMENDRA; LOWE, J. & MUKHERJI, N. — Studies of the lepromin test. 7 — Variations in the results of the Mitsuda test observed in cases of leprosy of the neuro-macular type. Leprosy India, 14: 86-92, 1942.
- 36 — DHARMENDRA & MUKHERJEE, N. — Intradermal reactions with lepromin inside and outside the leprous macules. Leprosy India, 22: 5-10, 1950.
- 37 — DHARMENDRA & MUKHERJI, N. — Prognostic value of the lepromin test. Leprosy India, 18: 80-97, 1946.

- 38 — DHARMENDRA & SANTRA, I. - A study of the course of the disease in leprosy. *Leprosy India*, 18: 43-50, 1946.
- 39 — DUBOIS, A. — La réaction de Mitsuda (Note complémentaire). *Bull. Soc. Path. Exot.* 29: 649-651, 1936.
- 40 — DUBOIS, A. & DEGOTTE, J. — La reaction de Mitsuda dans la lèpre. *Bull. Soc. Path. Exot.* 27: 802-805, 1934.
- 41 — ESSEVELD, H. — Huidreacties met lepraentstof. *Geneesk. Tijd. v. Neder. Indie*, 77 865-871, 1937. Resumo in *Internat. J. Leprosy*, 9: 392, 1941.
- 42 — FARIA, J. L. de — Contribuição ao conhecimento da natureza da reação de Mitsuda. Tese (Bahia), Rio de Janeiro, 1953.
- 43 — FERNANDEZ, J. M. M. — El leprolin test. *Rev. Argent. Dermatosisif.* 18:108-128, 1934.
- 44 — FERNANDEZ, J. M. M. — Valor de la inyeccion subcutanea de leprolin en el diagnostico de ciertas formas de lepra. *Rev. Bras. Leprol.* 7: 85-90, 1939.
- 45 — FERNANDEZ, J. M. M. — The early reaction induced by lepromin. *Internat. J. Leprosy*, 8: 1-14, 1940.
- 46 — FERNANDEZ, J. M. M. & OLMOS CASTRO, N. — Estandarizacion de la lepromina. *Rev. Argent. Dermatosisif.* 25: 435-446, 1941.
- 47 — FERNANDEZ, J. M. M. & OLMOS CASTRO, N. — La reaction precoz provocada por la lepromina; investigaciones efectuadas con diversos antígenos derivados del M. Leprae. *Rev. Argent. Dermatosisif.* 26: 556-580, 1942.
- 48 — FERNANDEZ, J. M. M. & SERIAL, A. — Leprominorreaction. Conveniencia de emplear un antígeno estandarizado. *Rev. Argent. Dermatosisif.* 28: 325-333, 1944.
- 49 — FIELDING, J. W. & COCHRANE, R. C. — A plea for the standardization of the lepromin test. *M. J. Australia*, 8: 313, 1944.
- 50 — FLOCH, H. & DESTOMBES, P. — Allergie et para-allergie dans la lèpre. Réaction de Mitsuda; allergie lepreuse et allergie tuberculoïde; vaccination par le BCG. *Internat. J. Leprosy*, 18: 177-183, 1950.
- 51 — GARCIA MIRANDA, A. — Valor de la prueba de la lepromina. *Rev. Sif. Leprol. y Dermat.* 3: 120-125, 1946.
- 52 — GUIMARÃES, N. — Efeito das substâncias anti-histamínicas sobre a lepromino-reação. *Hospital*, 40: 769-773, 1951.
- 53 — HARREL, G. T. & HORNES, S. F. — The reaction to lepromin of patients with sarcoid or tuberculosis compared with that of patients in general hospitals with a discussion on the mechanism of the reaction. *Am. J. Trop. Med.* 25: 523-538, 1945.
- 54 — HAYASHI, F. — Mitsuda's skin reaction in leprosy. *Internat. J. Leprosy*. 1: 31-38, 1933.
- 55 — HAYASHI, Y. — Citado por Wade.
- 56 — IGARASHI, M. & HAYASHI, F. — Observation of patients with atypical Mitsuda reactions after an interval of ten years. *Internat. J. Leprosy*, 8: 457-464, 1940.
- 57 — IGNACIO, J. L. — Observations on the leprolin test in clinically active, bacteriologically positive lepers. *Month. Bull. Bureau Health, Manila*, 19: 95-105, 1939.
- 58 — KITANO, H. & INOUE, T. — The Mitsuda reaction by vaccines treated with the ultra-supersonic wave. *Internat. J. Leprosy*, 9: 29-39, 1941.

- 59 — LAGROSA, M. — The leprolin (Mitsuda) reaction in "negative" lepers: I — Observation over a period of one year. Month. Bull. Bureau Health, Manila, 19: 83-93, 1939.
- 60 — LANGEN, C. D. — Specific skin reactions in case of leprosy. Meded. Dienst. d. Volksgezondheid in Nederl. Indie, 18: 113-119, 1929.
- 61 — LARA, C. B. — Mitsuda's skin reaction (lepromin test) in children of leprosy parents. IT — Observations on newly-born to eighteen- month old children. Internat. J. Leprosy, 8: 15-28, 1940.
- 62 — LIMA, L. S. & CAMPOS, N. S. — Immuno-biologic anomalies in leprosy. Internat. J. Leprosy, 16: 9-22, 1948.
LOPES DE FARIA, J. veja FARIA, J. L. de
- 63 — LOWE, J. & DHARMENDRA — Studies of the lepromin test. 4 — The early reaction to lepromin, its nature and its relation to the classical Mitsuda reaction. Leprosy India, 13: 81-88, 1941.
- 64 — MANALANG, C. — Significance of leprolin reaction in the natural and experimental transmission of leprosy. Month. Bull. Bureau Health, Manila, 12: 308-310, 1932.
- 65 — MARIANI, G. — Osservazioni sopra una forma speciale di allergia cutanea nella lebbra (Lebbra tubercoloide sperimentale nell' uomo). Pathologica, 16: 471-477, 1924.
- 66 — MARIANI, G. — Nuove osservazioni sulle reazioni provocate sperimentalmente con materiale lebbroso nell' uomo. Gior. Ital. Dermat. e Sif. 66: 402, 1925.
- 67 — Memória del V Congresso Int. de la Lepra. Havana, Cuba. 1948
- 68 — MENDES, E. & CERQUEIRA, G. C. — Estudos experimentais sôbre a lepromina. Rev. Bras. Leprol. 7: 245-293, 1939.
- 69 — MITSUDA, K. — Le lépreux maculo-nerveux, d'une part, les tubercules d' autre part, se comportent différemment à la suite d'une inoculation d' emulsion de tubercule lépreux. III Conf. Int. Lépre, Strasbourg, 1923. Págs. 219-220.
- 70 — MOM, A. M. & BASOMBRI, G. — Estudio comparativo entre la lepromino-reaccion y la intradermorreaccion por el 2-4-dinitroclorobenceno, en enfermos de lepra, convivientes y controles sanos. Rev. Argent. Dermatosif. 28: 165-169, 1944.
- 71 — MONTANÉ, P. — Diagnostico precoz de la lepra por medio de las intradermorreacciones con emulsiones do bacilo de Hansen. ,ions Dermosif. 25: 159-160, 1932.
MOTTA DE AQUINO, U. veja AQUINO, U. M. de
- 72 — MUIR, E. — The leprolin test. Leprosy India, 5: 204-218, 1933.
- 73 — MUIR, E. & CHATTERJI, K. R. — Factors influencing the spread of leprosy infection. Indian M. Gaz. 69: 495-500, 1934.
- 74 — NAGAI, K. — Lecithin and Mitsuda' sche Reaktion. La Lepro, 9: 25-26, 1938.
- 75 — NOLASGO, J. O. — The lepromin test in lepra reaction. Internat. J. Leprosy, 8: 151-158, 1940.
- 76 — PARAS, E. M. — Chemical fractionation of leptotic nodules; isolation of lipid fractions. Phillipine J. Sc. 66: 155-160, 1938.
- 77 — PEREIRA, P. C. R. — Contribuição ao estudo da reação de Bargehr; alergia e imunidade ativa contra a lepra. Brasil-Med. 49: 575-587, 1935.

- 78 — RABELLO, F. E. A. & ROTBERG, A. — Nota preliminar sôbre a alergia histológica na lepra. *Arq. Dermat. e Sif. S. Paulo*, 1: 140-141, 1937.
- 79 — RABELLO, F. E. A.; VILLELA, G G & TOSTES, J. — Recherche sur la fraction antigenique specifique de l' antigène lépromateux de Mitsuda. *Bull. Soc. Prang. Dermat. et syph.* 46: 1386-1387, 1939.
- 80 — RADNA, R. — Note sur la reaction de Mitsuda chez des sujets indemnes de lèpre. *Ann. Soc. Beige Med. Trop.* 18: 63-72, 1938.
- 81 — RODRIGUEZ, J. N. — Observations of the leprolin (Mitsuda) reaction. *Internat. J. Leprosy*, 6: 11-32, 1938.
- 82 — ROSENBERG, J.; CAMPOS, N. S. & Aux, J. — Da relação imunobiológica entre tuberculose e lepra. IX — Reativação focal precoce da reação leprominica, conseqüente à prova de Mantoux. (Nota prévia). *Rev. Bras. Leprol.* 20: 97-103, 1952.
- 83 — ROTBERG, A. — Contribuição para o estudo das cuti-reações alérgicas na lepra (Reação de Mitsuda-Hayashi) Tese. São Paulo, 1934.
- 84 — ROTBERG, A. — Some aspects of immunity in leprosy and their importance in epidemiology, pathogenesis and classification of forms of the disease. *Rev. Bras. Leprol.* 5: 45-97, 1937.
- 85 — ROTBERG, A. — The reading of the lenromin test. *Internat. J. Leprosy*, 7: 161-166, 1939.
- 86 — ROTBERG, A. — Valor prognóstico da lepromino-reação de Mitsuda. *Rev. Bras. Leprol.* 12: 367-377, 1944.
- 87 — ROTBERG, A. & BECHELLI, L. M. — Tratado de Leprologia. Tomo II — Etiologia e Patologia. Rio de Janeiro, 1950. Pág. 402.
- 88 — ROTBERG, A.; BECHELLI, L. M. & KEIL, H. — Reação de Mitsuda em área não leprogênica. V Congr. Int. Lepra, Havana, 1948. Págs. 586-594. *Internat. J. Leprosy*, 18: 209-220, 1950.
- 89 — ROTBERG, A. & CAMPOS, N. S. — Lepromino-reações em individuos sãos em S. Paulo, não comunicantes. *Rev. Bras. Leprol.* 16: 267-275, 1948.
- 90 — SCHUJMAN, S. - Histologia de la reaction de Mitsuda: estudio progressivo y comparativo de las reacciones tisulares que provoca en las diversas formas clinicas de lepra. *Rev. Bras. Leprol.* 4: 469-476, 1936.
- 91 — SCHUJMAN, S. - Estudio comparativo das intradermorreações com a lepromina bacilar comum e a cadavérica em doentes de lepra. *Rev. Bras. Leprol.* 17: 147-150, 1949.
- 92 — SCHUJMAN, S. - Study of the evolution of the immunological state of lepromatous cases benefited by various antileprotic medications (sulfones and chaulmoogra). III Conf. Panam. Lepra_ Resuma in *Internat. J. Leprosy*, 20: 417, 1952.
SOUZA ARAUJO, H. C. veja ARAUJO, H. C. S.
SOUZA CAMPOS, N. veja CAMPOS, N. S.
SOUZA LIMA, L veja LIMA, L. S.
- 93 — TAJIRI, I. — Ueber die Untersuchungsergebnisse der Mitsudaschen Reaktion bei leprosen in "Aiseien". *Jap. J. Dermat. Urol.* 38: 119, 1935.
- 94 — TISSEUIL, J. — Contribution à l'étude de l'allergie et de l'anergie dans la lèpre. *Bull. Soc. Path. Exot.* 24:766-769, 1931,

- 95 — VILLELA, G. G. — Sur la fraction active de l'antigène de Mitsuda. Bull. Soc. Franç. Dermat. et Syph. 46: 1387-1388, 1939.
- 96 — WADE, H. W. — The Mitsuda phenomenon. Editorial. Internat. J. Leprosy, 9: 101-104. 1941.
- 97 — WADE, H. W. - Origin of the lepromin test. Editorial. Internat. J. Leprosy, 19: 221-224, 1951.
- 98 — WADE, H. W. — Comentário ao resumo de Lopes de Faria. Internat. J: Leprosy, 19; 511-512, 1951.
- 99 — ZURITA, F. H. — La reaccion de Mitsuda. Su estudio comparativo en niños leprosos, testigos y contactos. Mexico, 1943.