

JOEL CARLOS LASTÓRIA

*ESTUDO DA VIRAGEM DA REAÇÃO DE MITSUDA EM ESCOLARES
DO MUNICÍPIO DE BARRA BONITA, SÃO PAULO, APÓS ESTI-
MULAÇÕES COM BCG E LEPROMINA.*

Tese de Mestrado apresentada
ao Curso de Pós-graduação
"Fisiopatologia em Clínica
Médica" da Faculdade de
Medicina de Botucatu -
UNESP.

BOTUCATU, SP
1984

A CRISTINA, minha esposa
Ao JÚNIOR e a JULIANA, meus filhos,

pelo amor, carinho, amizade e
compreensão sempre presentes.

a MEUS PAIS

ao SIDNEI meu irmão

à CÉLIA, minha cunhada,

incansáveis no seu apoio, ajuda
e incentivo.

À DRA. NEUZA LIMA DILLON
que ensinou meu ofício e sempre
lutou arduamente ao meu lado.

*NÃO DESANIMEIS.
O ATO DE LUTAR, POR SI SÓ,
JÁ É UMA VITÓRIA.*

AGRADECIMENTOS A:

- Dr. Mário Augusto Carneiro Leão Ribeiro, pela orientação estatística deste trabalho.
- Dr. Raul Negrão Fleury e Dr. Fernando Soares, pela participação na análise histológica do presente material.
- Dr. Benedito José Roberto Cressoni, pela participação na realização deste trabalho.
- Sra. Amália do Carmo Boaro Gonçalves e Sr. Valdir Antonio Magro, pela participação técnica.
- Sr. Marinho Broto, da Seção de Transportes da Faculdade de Medicina de Botucatu, companheiro diário na realização deste trabalho.
- Srta. Elza Numata, bibliotecária, pela orientação na organização bibliográfica.
- Profa. Mírian Celi Pimentel Porto Foresti, pela orientação na correção deste texto.
- Sr. Nivalde A. Basso e Maria Odete Simão, pelos serviços de datilografia.
- Sr. José Carlos Thomazini, pela cooperação jamais negada.

- Dr. Domingos Alves Meira, então digníssimo diretor da Faculdade de Medicina de Botucatu.
- Dra. Dináh Borges de Almeida, pelo apoio sempre recebido.
- Dr. Alvaro Oscar Campana, coordenador do curso de Pós-Graduação "Fisiopatologia em Clínica Médica".
- Drs. Marta Cassoni Habermann, Silvia Alencar Marques e Hamilton Ometto Stolf, companheiros de disciplina e de trabalho, pelo apoio e incentivo diários.
- Residentes da Disciplina de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, pela compreensão e ajuda.
- Amigos de todos os dias, muitos e igualmente queridos.

Aos Colégios e Faculdades do Município de Barra Bonita, SP,
nas pessoas de seus Diretores:

- Alberto Arradi - E.E.P.G. "Laurindo Battaïola"
- Gilberto Nahás - E.E.P.G. "Fernando Costa"
- Orlando Tomás - E.E.S.G. "Geraldo Pereira de Barros"
- Cleide Arradi - E.E.P.G. "Cónego Francisco Delgado Junior"
- Nivaldo Stipp - E.E.P.G. "Cónego Rev. Guttenberg de Campos" - Fundação Barra Bonita de Ensino.
- Nelli Nassif - E.E.P.G. "Maria Luíza Zambello"
- Vera Lúcia Mamede R. de Oliveira - C.E. Sesi - 236

- À Prefeitura do Município de Barra Bonita, SP, nas pessoas de seus Ex-Prefeito Prof. José Kyelce dos Santos e de seu Prefeito Dr. Wady Mucare.

- Ao Centro de Saúde do Município de Barra Bonita, SP, em especial ao Dr. Nelson James Wright (Diretor Técnico), Srtas. Sônia Maria Gramolini Garcia e Clélia Mara Sbeghen (Visitadoras Sanitárias) e Viviane Rocha de Luiz (Enfermeira Encarregada).

- Aos escolares do Município de Barra Bonita, SP, que permitiram a realização deste estudo.
- Ao Curso de Pós-Graduação "Fisiopatologia em Clínica Médica" da Faculdade de Medicina de Botucatu, pela oportunidade oferecida.

- Agradecimento especial à Professora

ZITA DE MARCHI (in memorium).

ORIENTADOR:

Prof.Dr. Francisco Habermann

Í N D I C E

	Página
INTRODUÇÃO	1
CASUÍSTICA E MÉTODOS	9
RESULT ADOS	13
DISCUSSÃO	25
CONCLUSÕES	43
RESUMO	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

INTRODUÇÃO

O termo hanseníase foi introduzido por ROTBERG, em 1969, para denominar a temida enfermidade até então conhecida como lepra, doença crônica causada pelo *Mycobacterium leprae*, bacilo Gram-positivo álcool-ácido-resistente, identificado por HANSEN, em 1874.

A transmissão da hanseníase depende, na maioria das vezes, do contacto direto, íntimo e prolongado, de indivíduos susceptíveis com hansenianos bacilíferos. Ainda que dúvidas persistam em relação à via de transmissão da doença e à porta de entrada dos bacilos, aceita-se que a principal via de eliminação bacilar seja o trato respiratório, principalmente através das mucosas das vias aéreas superiores, veiculados pelas gotículas de Pflügge (SHEPARD, 1962; REES, 1976). Outras vias ainda podem ser relacionadas como fontes de eliminação de bacilos, como hansenomas exulcerados ou ulcerados, leite materno, urina e fezes, sendo que estas vias, exceto a primeira, não têm grande importância em termos epidemiológicos (OPROMOLLA, 1982^a)

De acordo com o sistema de classificação reconhecido pelo VI Congresso Internacional de Lepra (MADRID, 1953) há duas formas distintas da doença, com manifestações bastan-

te diferentes: o tipo Virchowiano, anteriormente chamado lepromatoso, que caracteriza os indivíduos que apresentam pouca ou nenhuma resistência à proliferação do *Mycobacterium leprae* e o tipo tuberculóide, que caracteriza os indivíduos resistentes a essa proliferação. Além desses tipos extremos, ou polares, conforme denominação proposta por RABELLO JR (1936), há 2 grupos clinicamente instáveis: o tipo indeterminado, forma inicial, que pode evoluir para qualquer das formas polares acima descritas na dependência da resistência imunológica e, principalmente, na ausência de terapêutica específica; o tipo dimorfo (limítrofe ou "bordeline"), que se caracteriza por apresentar lesões semelhantes as dos tipos virchowiano e tuberculóide simultaneamente.

A resistência de indivíduos sadios à infecção hansênica pode ser avaliada pelo teste lepromínico, cujo desenvolvimento teve início quando YOSHINOBU HAYASHI, em 1918, realizou testes cutâneos em hansenianos com uma suspensão de bacilos obtidos de fragmentos de pele de doentes hansenianos e observou a presença de reações ditas positivas, principalmente nos doentes com forma tuberculóide. Esse trabalho chamou a atenção do leprologista KENSUKE MITSUDA, que retomou as pesquisas e em 1919 desenvolveu o protótipo de lepromina usada até hoje (THOMAS, 1980). Entretanto, a consagração definitiva da reação conhecida hoje como lepromínica ou de Mitsuda, só foi alcançada após a divulgação do trabalho de FUMIO HAYASHI, em 1933.

A lepromina mais utilizada é a lepromina integral, que é obtida a partir de bacilos de Hansen extraídos de

hansenomas, mortos pelo calor e mantidos em solução isotônica de cloreto de sódio. Essa suspensão deve conter entre 40 e 160 milhões de bacilos por mililitro (WORLD HEALTH ORGANIZATION 1979).

Após os experimentos pioneiros de KIRCHHEIMER & STORRS (1971), que provocaram infecção maciça em tatus (*Dasyus novemcintus*) pelo *Mycobacterium leprae*, abriu-se a perspectiva de uma nova fonte de obtenção de lepromina, posteriormente estudada e referendada por outros autores (CONVIT & PINARDI, 1974; BECHELLI et al, 1979; OPROMOLLA, 1982).

O teste de Mitsuda provoca uma reação de hipersensibilidade do tipo tardio e tem sido utilizado por diversos autores para a classificação imunológica das formas polares da hanseníase (ROTBERG, 1937; FERNANDEZ, 1938; LOWE & DHARMENDRA, 1940; SOUZA CAMPOS, 1942; BROWN et al, 1969; LONG, 1975; GARCIA, 1976). A sua utilização tem ainda grande importância na verificação da resistência relativa de indivíduos sadios frente ao *Mycobacterium leprae* (SOUZA CAMPOS, 1939; LARA, 1940; KUPER, 1955; ROTBERG, 1957; 1963). Os resultados são interpretados da seguinte forma:

- Reação intradérmica negativa - ausência de resposta imunitária do tipo celular, demonstrando uma falta de defesa do organismo ao *Mycobacterium leprae* e, nesse caso, ao adquirir a doença, o indivíduo evoluiria para a forma virchowiana, maligna do ponto de vista epidemiológico, bacilífera e contagiante.

- Reação intradérmica positiva - presença de imunidade celular ao *Mycobacterium leprae*, demonstrando uma capacidade relativa de defesa do organismo, uma vez que o indivíduo poderá adquirir a doença mas, nesse caso, ela poderia não evoluir ou o faria para a forma tuberculóide, benigna, abacilífera ou paucibacilar e, por isso mesmo considerada não contagiante.

Estudos clínicos com a vacinação pelo BCG (Bacilo de Calmette e Guerin) demonstraram capacidade bastante variada na viragem da reação de Mitsuda. FERNANDEZ (1939) relatou que em 123 crianças de 3 a 15 anos que apresentavam reação de Mitsuda negativa, 113 mostravam positividade dessa reação após terem sido vacinadas com BCG.

AZULAY (1948) demonstrou, após vacinação com BCG oral, positividade de 12 entre 15 filhos de hansenianos isolados de seus pais ao nascimento.

DOULL et alii (1957) , estudando 550 crianças filipinas, sãs, de 6 a 35 meses, sem contato com hansenianos, atribuíram a positividade da lepromino-reação ocorrida em 33,4% dos casos, ao BCG.

ROSEMBERG et alii (1952a) observaram 95,2% de positividade da lepromino-reação em crianças que haviam tomado o BCG, não encontrando nenhum caso de positividade nas crianças não vacinadas. Em 1960, realizaram novo estudo em que 63 crianças, filhas de hansenianos, foram separadas de seus pais logo nos primeiros dias de vida, verificando uma viragem da reação de Mitsuda em 85% dos casos que receberam BCG, contra 0% de positividade nas que não receberam, concluindo pela alta por-

centagem de viragem da reação de Mitsuda pelo BCG.

Outros autores, ainda, demonstraram a viragem da reação de Mitsuda após o emprego do BCG, como AYER FILHO et alii (1953), FERNANDEZ (1953), SALOMÃO & FERREIRA (1953), SOUZA CAMPOS et alii (1962).

Confirmando a variabilidade da resposta à administração de BCG, SILVA RABELLO NETO (1959) observaram e feito positivante mínimo do BCG sobre a reação de Mitsuda, não encontrando diferenças significativas entre crianças vacinadas e não vacinadas.

AZULAY & AZULAY, em trabalho experimental realizado em 1953, demonstrou a capacidade do BCG tornar positiva a lepromino-reação em cobaias.

Por outro lado, alguns estudos evidenciaram a influência de outros fatores na viragem da reação de Mitsuda, como a própria lepromina e a exposição à doença que ocorreria com o evoluir da idade. LARA (1940), estudando 110 crianças sadias, sem separá-las de seus pais hansenianos, realizou testes de Mitsuda com intervalo de 4 meses, obtendo 73% de positividade já no primeiro teste e 99% após o terceiro teste. IGNÁCIO et alii (1955) estudaram 50 crianças, separadas de seus pais hansenianos ao nascerem, realizando uma série de 4 testes de Mitsuda. As positivações observadas foram de 22% no primeiro teste, 74% no segundo e 100% após o quarto teste. Comparando os resultados com os de LARA (1940), concluíram que os do segundo teste (onde obtiveram 74% de positividade) poderiam ser comparados aos obtidos nas crianças expostas à doença.

BECELLI (1959), analisando diferentes trabalhos, concluiu que a positividade da reação de Mitsuda em pessoas sadias pode ocorrer após repetidos testes com lepromina.

ROSEMBERG et all (1960), em estudos realizados em crianças sem contato com hansenianos, com idades entre 3 dias e 12 meses, observaram 42,9% de lepromino-positivação após uma série de 4 reações de Mitsuda, com intervalos de 3 meses, contra 0% de positivação no grupo controle, chamando a atenção para o efeito cumulativo do material.

HAJRA et all (1981) obtiveram 89% de viragem da reação de Mitsuda com repetidas aplicações de lepromina, concluindo por razoável taxa de confiança na proteção contra a hanseníase.

Entretanto, SOUZA CAMPOS et all (1962), estudando a viragem da lepromino-reação, em função de estímulos relacionados ao BCG e à própria lepromina, em crianças com idades entre 6 e 34 meses, afastadas de seus pais hansenianos ao nascerem, não observaram diferença significativa em relação ao grupo controle, após uma série de 3 testes, com intervalo de 1 mas. Atribuíram esses resultados ao diferente intervalo entre os testes e ao prazo maior de observação, em reação ao trabalho de ROSEMBERG et all (1960).

BEIGUELMAN et all (1965) também não observaram conversão significativa da reação de Mitsuda em testes lepromínicos repetidos.

AZULAY (1974), trabalhando em cobaias, concluiu que a lepromina, em aplicações repetidas, induz a sensibilização, demonstrada pela progressiva intensidade das reações nos testes subseqüentes.

Em 1977, DILLON et all realizaram no município de Barra Bonita, Estado de São Paulo, reação intradérmica de Mitsuda em 2.073 escolares, distribuídos segundo a faixa etária (Quadro I).

QUADRO I

Reação de Mitsuda em 2.073 escolares de Barra Bonita, segundo a faixa etária (DILLON et all, 1977).

GRUPOS ETÁRIOS	LOCALIDADE BARRA BONITA
7 - 8	518
9 - 10	603
11 - 12	561
13 - 14	391
TOTAL	2073

Nesse grupo de escolares obtiveram-se os seguintes resultados quanto à reação de Mitsuda (Quadro II):

QUADRO II

Resultados da reação de Mitsuda em 2.073 escolares de Barra Bonita, segundo a faixa etária (DILLON et all, 1977).

IDADE (anos)	Nº DE INDIVÍDUOS	FRACAMENTE +		FORTEMENTE +		DUVIDOSOS		NEGATIVOS	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
7- 8	518	39	7,53	13	2,50	130	25,10	336	64,86
9-10	603	37	6,14	19	3,15	170	28,19	337	62,52
11-12	561	63	11,23	39	6,42	149	26,56	313	55,80
13-14	391	66	16,88	31	7,93	111	28,38	183	46,80
TOTAL	2073	205	9,89	99	4,77	560	27,01	1209	58,32

Os resultados mostram que o número e a porcentagem de escolares com reação de Mitsuda negativa foram, respectivamente, de 1.209 e 58,32%.

Posteriormente a 1977 foram realizadas vacinações intradérmicas com BCG em todos os escolares do referido Município, segundo critério do MINISTÉRIO DA SAÚDE (1977).

Com base nos dados da literatura, é lícito supor que tanto a reação de Mitsuda realizada anteriormente como a vacinação pelo BCG tenham influenciado no comportamento imunológico em relação à reação de Mitsuda do grupo de escolares que apresentou reação de Mitsuda negativa.

Essa eventual alteração constituiu-se no tema deste trabalho, o qual teve como objetivos:

- Avaliar a viragem da reação de Mitsuda após vacinação pelo BCG intradérmico em escolares com reação anteriormente negativa;
- determinar os escolares com reação de Mitsuda negativa após vacinação pelo BCG mais testes lepromínicos;
- detectar clinicamente hanseníase na amostra;
- estudar histologicamente amostras de reação de Mitsuda com resultado clínico duvidoso e positivo +, para correlação clínico-histológica.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Para a realização do presente trabalho, os 1.209 escolares com reação de Mitsuda negativa, identificados no levantamento realizado em 1977 por DILLON et all, no município de Barra Bonita, Estado de São Paulo, foram rastreados a partir de 1980, através dos seguintes meios:

- a) reuniões com diretores dos colégios;
- b) entrevistas com a imprensa falada e escrita;
- c) verificação das listagens dos alunos matriculados nos colégios ou faculdades;
- d) contatos com a Prefeitura;
- e) contatos com o Centro de Saúde.

Enviou-se aos pais (ou responsável) de cada aluno, carta explicativa dos objetivos, solicitando-se permissão e o comparecimento do filho para realização dos testes intradérmicos.

A seguir, foi realizado exame clínico dos escolares para verificação de vacinação prévia com BCG intradérmico e detecção de eventuais casos de hanseníase.

Reação intradérmica de Mitsuda

A realização da reação intradérmica de Mitsuda obedeceu à seguinte metodologia:

Antígeno - utilizou-se lepromina integral contendo 40 milhões de bacilos de Hansen por mililitro, fornecida pelo Instituto de Leprologia do Rio de Janeiro, partida 97.

Técnica - inoculou-se, por via intradérmica, 0,1 ml da solução na face anterior do antebraço esquerdo, na linha média e a 2 cm da prega cubital.

- Leitura e Interpretação dos Resultados da Reação de Mitsuda

As leituras foram sempre realizadas com 28, 29 ou 30 dias após inoculação do antígeno. A interpretação dos resultados foi efetuada segundo as normas estabelecidas na II Conferência Panamericana de Lepra, realizada em 1946, Rio de Janeiro e ratificadas nos Congressos Internacionais de Leprologia de Havana (1948), Madrid (1953) e Tóquio (1958), como se segue:

- NEGATIVA (-): ausência de qualquer reação no local de inoculação
- DUVIDOSA (±): presença de infiltração com diâmetro inferior a 3 mm.
- POSITIVA (+): presença de infiltração com diâmetro entre 3 e 5 mm.
- POSITIVA (++) : presença de infiltração nodular com diâmetro superior a 5 mm.

- POSITIVA (+++): presença de infiltração ulcerada.

Nos casos negativos e duvidosos, repetiu-se a leitura após 6 semanas e, mantida a negatividade ou dúvida, realizou-se nova reação de Mitsuda.

Nos escolares com reação de Mitsuda duvidosa e positiva (+), realizou-se biópsia e exame histológico.

A reação histológica foi considerada positiva de + a +++ ,de acordo com a presença dos seguintes elementos:

- Mitsuda histologicamente positivo (+++) - comprometimento de 2/3 ou mais do derma pela reação granulomatosa.
- Mitsuda histologicamente positivo (++) - comprometimento maior que 1/3 e menor que 2/3 do derma pela reação granulomatosa.
- Mitsuda histologicamente positivo (+) - comprometimento menor que 1/3 do derma pela reação granulomatosa.

Foi, ainda, realizado estudo do comportamento imunológico dos escolares em relação à reação de Mitsuda, de acordo com faixa etária, sexo e cor.

- *Métodos Estatísticos*

A viragem e o aumento da intensidade da reação de Mitsuda foram estudados através de comparações entre as proporções de uma distribuição multinomial. A seguir foram es-

tabelecidos intervalos de confiança para as referidas proporções (GOODMAN, 1965).

A influencia de idade, sexo e cor sobre a viragem foi analisada pelo Qui-quadrado de Pearson. Em caso de significância, as proporções foram comparadas pelo método de GOODMAN (1964).

RESULTADOS

Dos 1.209 escolares com reação de Mitsuda negativa, foram localizados 600, entre os quais 489 concordaram e compareceram para a realização dos testes.

A positividade da vacinação pelo BCG intradérmico mostrou-se presente em 488 escolares e ausente em apenas 1, que foi então vacinado, passando a apresentar resposta positiva.

As entrevistas realizadas junto aos escolares, a respeito de contatos com doentes de hanseníase, apresentaram respostas negativas em todos os casos.

O exame clínico permitiu o diagnóstico de hanseníase em 3 escolares, sendo que 1 apresentava forma clínica indeterminada (reação de Mitsuda duvidosa), 1 com forma tuberculóide (reação de Mitsuda positiva ++) e 1 com forma virchowiana (reação de Mitsuda negativa). A ocorrência de hanseníase nessa amostra foi da ordem de 0,6%.

A distribuição dos 489 escolares segundo a faixa etária encontra-se na Tabela I.

TABELA I

Distribuição de 489 escolares com reação de Mitsuda negativa de acordo com a faixa etária (em anos).

<u>FAIXA ETÁRIA</u> <u>(anos)</u>	<u>ESCOLARES</u> <u>Nº</u>
12 - 13	141
14 - 15	180
16 - 17	120
18 - 19	48
TOTAL	489

Os escolares foram submetidos a nova reação de Mitsuda e distribuídos, de acordo com os resultados, em negativos (Tabela II e Figura 1), duvidosos (Tabela III e Figura 1) e positivos (Tabela IV e Figura 1).

TABELA II

Distribuição de escolares com reação de Mitsuda negativa, segundo a faixa etária (em anos)

<u>ESCOLARES</u>		<u>REAÇÃO DE MITSUDA</u> <u>NEGATIVA</u>	
<u>FAIXA ETÁRIA</u>	<u>TOTAL</u>	<u>Nº</u>	<u>%</u>
12 - 13	141	9	6,4
14 - 15	180	17	9,4
16 - 17	120	5	4,2
18 - 19	48	8	16,7
TOTAL	489	39	8,0

TABELA III

Distribuição de escolares com reação de Mitsuda duvidosa, segundo a faixa etária (em anos).

ESCOLARES		REAÇÃO DE MITSUDA DUVIDOSA	
FAIXA ETÁRIA	TOTAL	Nº	%
12 - 13	141	36	25,5
14 - 15	180	36	20,0
16 - 17	120	34	28,3
18 - 19	48	8	16,7
TOTAL	489	114	23,3

TABELA IV

Distribuição de escolares com reação de Mitsuda positiva, segundo a faixa etária (em anos) e grau de positividade.

ESCOLARES		POSITIVIDADE DA REAÇÃO DE MITSUDA					
FAIXA ETÁRIA	TOTAL	+		++		TOTAL	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
12 - 13	141	77	54,6	19	13,4	96	68,1
14 - 15	180	87	48,3	40	22,2	127	70,5
16 - 17	120	61	50,8	20	16,2	81	67,5
18 - 19	48	26	54,2	6	12,5	32	66,7
TOTAL	489	251	51,3	85	17,4	336	68,7

Pela inspeção da Tabela II, observa-se que 8,0% dos escolares permaneceram com reação de Mitsuda negativa, sendo que a maior porcentagem (16,7%) ocorreu na faixa de 18-19 anos.

Os dados da Tabela III mostram que 23,3% dos escolares se enquadraram na faixa de reação de Mitsuda duvidosa.

A observação da Tabela IV mostra uma positividade, ou seja, uma viragem da reação de Mitsuda em 68,7% dos escolares, sendo 51,3% positivo + e 17,4% positivo ++.

A análise das proporções mostrou preponderância significativa de casos positivos + sobre os positivos ++.

Foram, ainda, estabelecidas estimativas das proporções obtidas, com os seguintes intervalos de confiança:

-negativos: 5 a 11%

-duvidosos: 19 a 28%

-positivos: 64 a 74%

Os dados da Tabela IV foram analisados de acordo com a faixa etária e revelaram existência de dependência entre idade e resultados da reação de Mitsuda ($\chi^2 = 17,66$). Entretanto, não foi possível detectar diferenças de positividade nas diversas faixas etárias.

Como havia sido determinado, realizou-se uma terceira reação de Mitsuda nos escolares que apresentaram resultados negativos e duvidosos. Dos 39 escolares com reação negativa e dos 114 com reação duvidosa, 16 e 34, respectivamente, concordaram e compareceram para a realização do novo teste, cujos resultados encontram-se nas Tabelas V e VI, respectivamente.

TABELA V

Resultados da reação de Mitsuda em 16 escolares com reação anteriormente negativa.

REAÇÃO DE MITSUDA	Nº	%
Negativa	2	12,5
Duvidosa	4	25,0
Positiva +	7	43,7
Positiva ++	3	18,8
TOTAL	16	100,0

TABELA VI

Resultados da reação de Mitsuda em 34 escolares com reação anteriormente duvidosa.

REAÇÃO DE MITSUDA	Nº	%
Negativa	2	5,9
Duvidosa	3	8,8
Positiva +	13	38,2
Positiva ++	16	47,1
TOTAL	34	100,0

Os resultados expressos na Tabela V mostram que, após nova reação de Mitsuda, 62,5% dos escolares tornaram-se positivos e 25,0% passaram a apresentar reação duvidosa, enquanto 12,5% mantiveram-se negativos. A maior porcentagem de positividade (43,7%) ocorreu na faixa de positivo +.

A análise estatística mostrou diferença significativa entre as proporções de casos negativos e positivos.

A Tabela VI mostrou que, após nova reação de Mitsuda, 85,3% dos escolares que apresentavam reação duvidosa tor-

naram-se positivos, sendo a maior porcentagem com reação positiva ++ (47,1%), enquanto 5,9% dos escolares apresentaram reação negativa e 8,8% permaneceram com reação duvidosa.

A análise dos resultados mostrou diferença significativa entre as proporções de casos duvidosos e positivos em quanto entre duvidosos e negativos não houve diferença.

Os resultados obtidos após a vacinação com BCG e as reações de Mitsuda estão expressos na Tabela VII e Figura 1. Estes resultados foram analisados ainda quanto a faixa etária, sexo e cor e expressos nas Tabelas VII, VIII e IX.

TABELA VII

Resultados da reação de Mitsuda em 489 escolares após estimulações com BCG e lepromina segundo a faixa etária.

FAIXA ETÁRIA	NEGATIVA Nº (%)	DUVIDOSA Nº (%)	POSITIVA + Nº (%)	POSITIVA ++ Nº (%)	TOTAL
12 - 13	5 (3,6)	30(21,3)	80(56,7)	26(18,4)	141
14 - 15	11(6,1)	29(16,1)	95(52,8)	45(25,0)	180
16 - 17	3(2,5)	25(20,8)	68(56,7)	24(20,0)	120
18 - 19	7(14,6)	6(12,5)	27(56,2)	8(16,7)	48
TOTAL	26(5,3)	90(18,4)	270(55,2)	103(21,1)	489

TABELA VIII

Distribuição dos resultados das reações de Mitsuda de acordo com o sexo em 489 escolares.

SEXO	NEGATIVA Nº (%)	DUVIDOSA Nº (%)	POSITIVA + Nº (%)	POSITIVA ++ Nº (%)	TOTAL
Masculino	13(5,4)	45(18,6)	132 (54,5)	52 (21,5)	242
Feminino	13 (5,3)	45(18,2)	138 (55,9)	51 (20,6)	247
TOTAL	26 (5,3)	90(18,4)	270 (55,2)	103 (21,1)	489

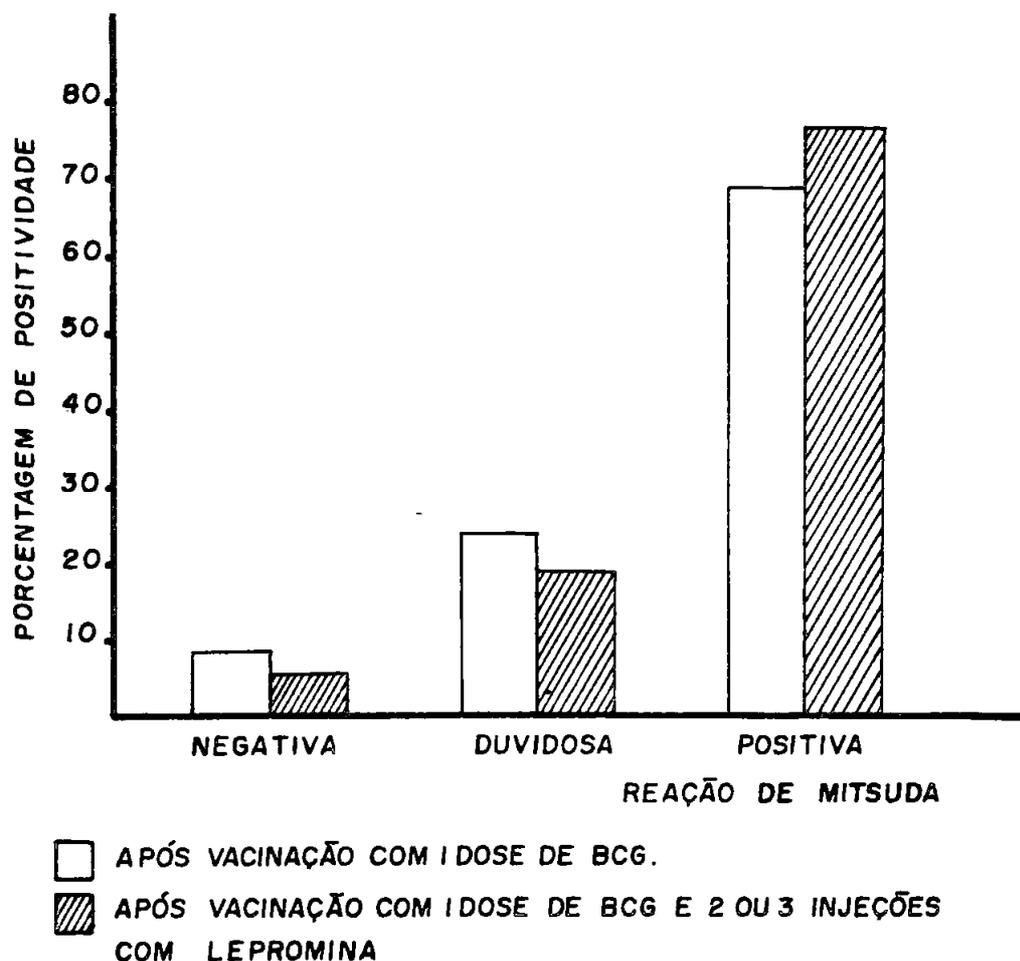


Figura 1 : Distribuição dos resultados da reação de Mitsuda em 489 escolares, após estimulações com BCG e lepromina.

TABELA IX

Distribuição dos resultados das reações de Mitsuda de acordo com a cor em 489 escolares.

COR	NEGATIVA Nº (%)	DUVIDOSA Nº (%)	POSITIVA + Nº (%)	POSITIVA ++ Nº (%)	TOTAL
Branca	26 (5,5)	87(18,2)	263 (55,1)	101 (21,2)	477
Negra	0 (0,0)	3(25,0)	7 (58,3)	2 (16,7)	12
TOTAL	26 (5,3)	90(18,4)	270 (55,2)	103 (21,1)	489

Observa-se na Tabela VII que, dos 489 escolares anteriormente Mitsuda negativos, 76,3% passaram a apresentar reação positiva, ou seja, viragem da reação, sendo 55,2% com reação positiva + e 21,1% positiva ++. Observa-se, ainda, que 18,4% apresentaram reação duvidosa e apenas 5,3% mantiveram sua negatividade.

Após estimulações com BCG e lepromina estabeleceram-se estimativas para as proporções, obtendo-se os seguintes intervalos de confiança:

- Negativos : 3 a 8%
- Duvidosos : 14 a 23%
- Positivos : 72 a 81%

Comparando-se os resultados obtidos após o recebimento de 1 dose de BCG e 2 injeções de lepromina com os que foram obtidos submetendo-se os mesmos escolares a uma terceira injeção de lepromina (Figura 1), observa-se diminuição de 8 para 5,3% e de 23,3 para 18,4%, respectivamente, nos casos de escolares com reação negativa e duvidosa. Conseqüentemente, o percentual daqueles com reação positiva elevou-se de 68,7 para 76,3%.

A análise da Tabela VII revela associação entre idade e resultados da reação de Mitsuda ($\chi^2 = 15,67$). Entretanto, comparando-se as positivities por faixa etária entre si não obtiveram-se diferenças significativas (G crítico = 2,64) .

A análise estatística dos resultados da Tabela VIII mostrou não haver associação ou influência do sexo sobre

a reação de Mitsuda ($\chi^2 = 0,01$).

A distribuição em relação à cor dos escolares foi pouco uniforme, demonstrando uma superioridade numérica bastante alta dos escolares de cor branca em relação aos de cor negra.

A análise estatística dos dados da Tabela IX mostrou não haver associação entre cor dos escolares e resultado da reação de Mitsuda ($\chi^2 = 0,95$).

Assim, quando se tentou relacionar positividade da reação de Mitsuda com faixa etária, sexo e cor, os resultados encontrados não foram significativos. De fato, as diferenças amostrais encontradas são mínimas, como pode-se ver nas Figuras 2, 3 e 4.

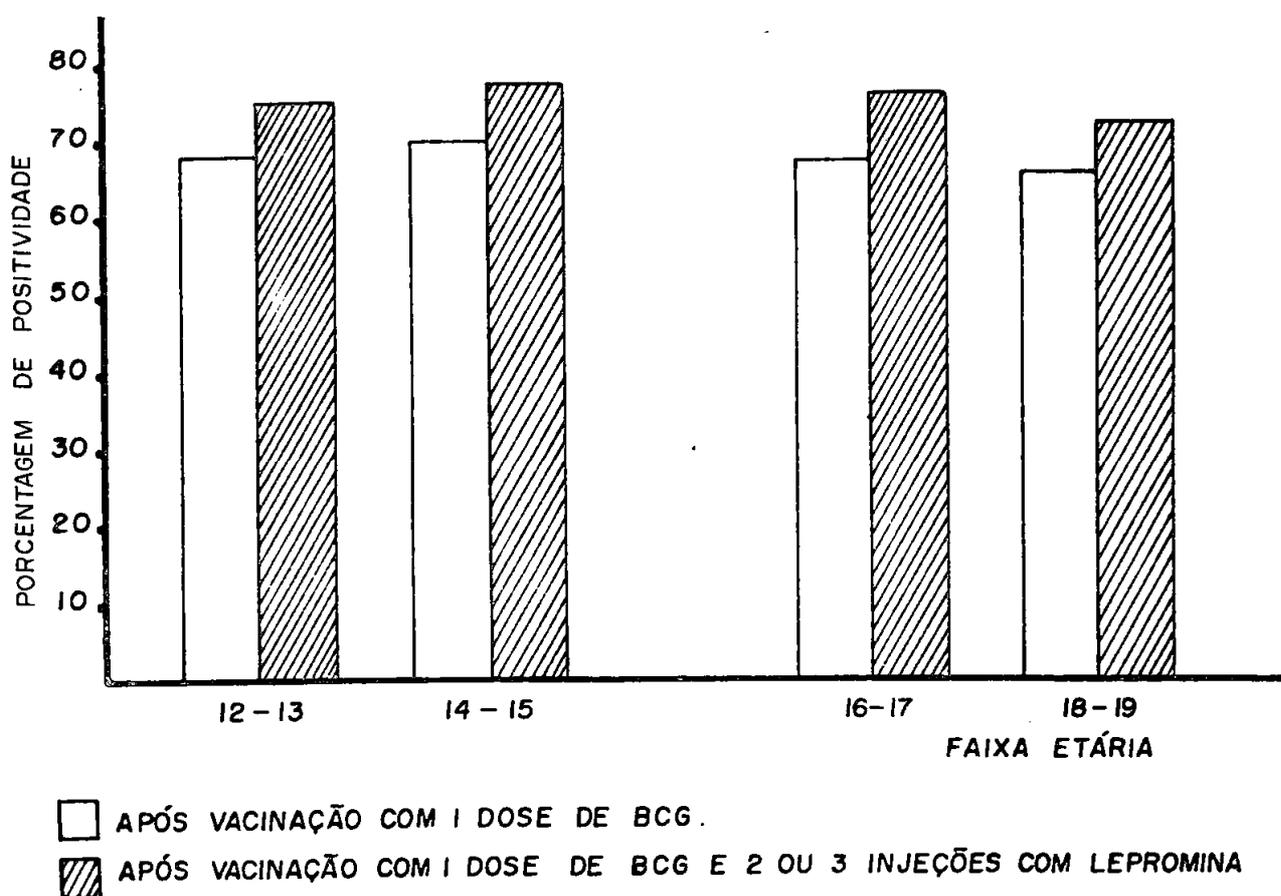


Figura 2 : Positividade da reação de Mitsuda após estimulações com BCG e lepromina, de acordo com a faixa etária (anos)

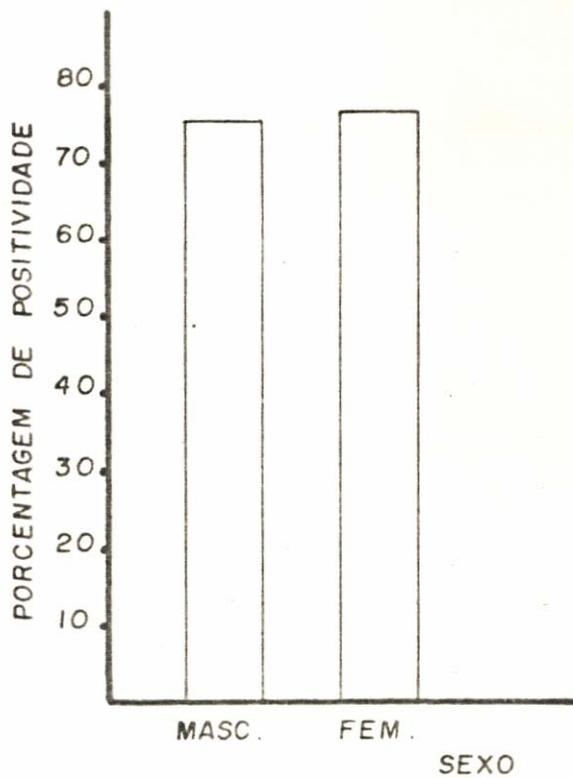


Figura 3 : Positividade da reação de Mitsuda de acordo com o sexo.

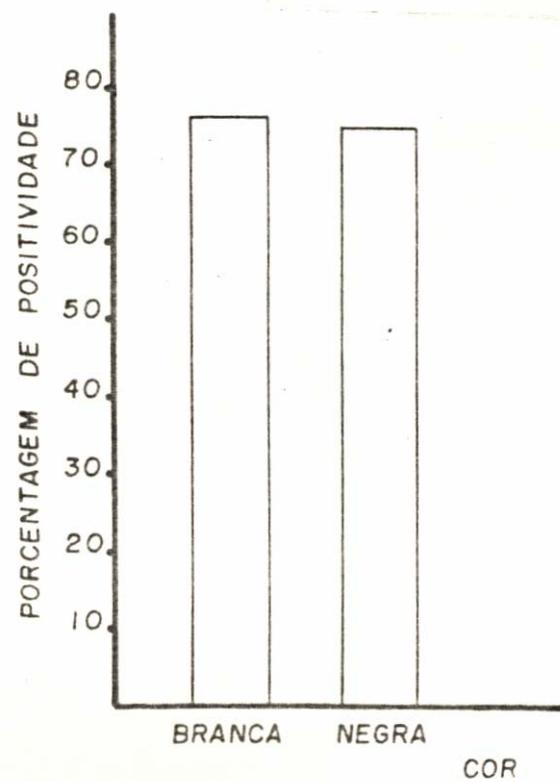


Figura 4 : Positividade da reação de Mitsuda de acordo com a cor.

Dos 365 escolares selecionados para realização de biópsia no local da reação de Mitsuda (114 com reação duvidosa e 251 com reação positiva +) e, conseqüentemente, exame histológico, apenas 25 concordaram com a realização da mesma, sendo 8 com reação clínica duvidosa e 15 com reação positiva +. Os resultados dos exames histológicos encontram-se na Tabela X e Quadro III.

TABELA X

Resultados de exames histológicos em 25 escolares submetidos à biópsia no local da reação de Mitsuda.

REAÇÃO DE REAÇÃO	EXAME HISTOLÓGICO				TOTAL
	NEGATIVO N9 (%)	POSITIVO + N9 (%)	POSITIVO++ N9 (%)	POSITIVO+++ N9 (%)	
Duvidosa	1 (12,5)	2 (25,0)	3 (37,5)	2 (25,0)	8
Positiva	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (23,5)	13 (76,5)	17

Os resultados da Tabela X mostram exame histológico com padrão negativo em 12,5% dos casos com reação de Mitsuda duvidosa e em 87,5% dos casos com padrão histológico positivo. Nos casos de reação positiva +, observou-se 100% de padrão histológico positivo.

QUADRO III

Histologia da reação de Mitsuda em 25 escolares.

HISTOLOGIA		REAÇÃO DE MITSUMI								
		POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	
EPIDERMIE	INFILTRAÇÃO CELULAR	-	-	-	-	-	-	-	-	
	ESPONGIOSE	-	-	-	-	-	-	-	-	
	VACUOLIZAÇÃO DA BASAL	-	-	-	-	-	-	-	-	
	HIPERPLASIA	**	-	-	-	-	-	-	+	
	EROSÃO	+	-	-	-	-	-	-	-	
	ULCERAÇÃO	-	-	+	-	-	-	-	+	
DERME	REAÇÃO INFLAMATORIA	FOCAL	-	-	-	-	-	-	-	
		CONFLUENTE	+	-	+	+	+	+	+	
		FRAÇÃO COMPROMETIDA	> 2/3	1/2	2/3	> 2/3	2/3	1/2	2/3	
	LOCALIZAÇÃO	SUPERFICIAL	+++	+	+++	++	+	-	+++	
		MÉDIA	**	**	**	+++	+++	+++	+++	
		INFERIOR	+	+	+	+	+	**	+	
		SUB - CUTÂNEO	-	-	-	-	-	-	-	
	REAÇÃO GRANULOMATOSA	CARACTERÍSTICAS	TUBERCULÓIDES COMPACTOS	-	-	-	-	-	-	-
			TUBERCULÓIDES FRODOS	+	+	+	+	+	+	+
			NÃO TUBERCULÓIDES	-	-	-	-	-	-	-
			VIRCHOWIANO	-	-	-	-	-	-	-
	CÉLULAS GIGANTES	LANGHANS	-	-	-	-	-	-	+	
		CORPO ESTRANHO	+	-	-	-	+	-	-	
		VACUOLADAS	-	-	-	-	-	-	-	
	INFILTRADO NÃO ESPECÍFICO	+	+	+	+	+	+	+		
	HISTIÓCITO NÃO DIFERENCIADO	+	+	+	+	+	+	+		
	LINFÓCITOS	PERIVASCULAR	+	**	**	**	**	+++	**	
		DIFUSO	-	-	-	-	-	-	-	
		HALO	-	-	-	-	-	-	-	
	PLASMÓCITOS	-	-	-	-	-	-	+		
	EOSINÓFILOS	-	-	-	-	-	-	-		
	NEUTRÓFILOS	-	-	+	-	-	-	-		
	NECROSE	CASOSA	**	-	**	**	-	-	-	
		FIBRINÓIDE	+	-	-	-	-	-	-	
	EDEMA	+	+	+	+	+	+	+		
	DEPOSIÇÃO DE FIBRINA	-	-	-	-	-	-	-		
	INFILTRAÇÃO HEMORRÁGICA	+	-	-	-	-	-	-		
	RESTOS TECIDUAIS	-	-	-	-	-	-	-		
PROLIFERAÇÃO FIBRO-VASCULARES	+	+	-	-	-	-	-			
VASCULITES	-	-	-	-	-	-	-			
DACILOSCOPIA	QUANTITATIVA	-	-	-	-	-	-	-		
	QUALITATIVA	-	-	-	-	-	-	-		
OBSERVAÇÕES		MITSUMI POSITIVO +++	MITSUMI POSITIVO +	MITSUMI POSITIVO +++	MITSUMI POSITIVO +++	MITSUMI POSITIVO +++	MITSUMI POSITIVO ++	MITSUMI POSITIVO +++		

HISTOLOGIA		REAÇÃO DE MITSUUDA								
		POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	INDIFERENSO	
E P I D E R M E	INFILTRAÇÃO CELULAR	-	-	-	-	-	-	-	-	
	ESPONGIOSE	-	-	-	-	-	-	-	-	
	VACUOLIZAÇÃO DA BASAL	-	-	-	-	-	-	-	-	
	HIPERPLASIA	++	-	-	-	-	-	-	+	
	EROSÃO	+	-	-	-	-	-	-	-	
	ULCERAÇÃO	-	-	+	-	-	-	-	+	
D E R M E	REAÇÃO INFLAMATORIA	FOCAL	-	-	-	-	-	-	-	-
		CONFLUENTE	+	-	+	+	+	+	+	+
		FRAÇÃO COMPROMETIDA	> 2/3	1/2	1/2	> 1/2	1/2	1/2	2/3	2/3
		LOCALIZAÇÃO	SUPERFICIAL	+++	+	+++	++	+	-	+++
			MÉDIA	++	++	++	+++	+++	+++	+++
			INFERIOR	+	+	+	+	+	++	+
	SUB - CUTÂNEO		-	-	-	-	-	-	-	
	REAÇÃO GRANULOMATOSA	CARACTERÍSTICAS	TUBERCULÓIDES COMPACTOS	-	-	-	-	-	-	-
			TUBERCULÓIDES FRODOS	+	+	+	+	+	+	+
			NÃO TUBERCULÓIDES	-	-	-	-	-	-	-
			VIRCHOWIANO	-	-	-	-	-	-	-
	CÉLULAS GIGANTES	LANGHANS	-	-	-	-	-	-	+	
		CORPO ESTERNO	+	-	-	-	+	-	-	
		VACUOLADAS	-	-	-	-	-	-	-	
	INFILTRADO NÃO ESPECÍFICO	+	+	+	+	+	+	+		
	HISTIOCITO NÃO DIFERENCIADO	+	+	+	+	+	+	+		
	LINFÓCITOS	PERIVASCULAR	+	++	++	++	++	+++	++	
		DIFUSO	-	-	-	-	-	-	-	
		HALO	-	-	-	-	-	-	-	
	PLASMÓCITOS	-	-	-	-	-	-	-	+	
	EOSINÓFILOS	-	-	-	-	-	-	-	-	
	NEUTRÓFILOS	-	-	+	-	-	-	-	-	
	NECROSE	CASOSA	++	-	++	++	-	-	-	
		FIBRINÓIDE	+	-	-	-	-	-	-	
	EDEMA	+	+	+	+	+	+	+		
	DEPOSIÇÃO DE FIBRINA	-	-	-	-	-	-	-	+	
	INFILTRAÇÃO HEMORRÁGICA	+	-	-	-	-	-	-	+	
RESTOS TECIDUAIS	-	-	-	-	-	-	-	-		
PROLIFERAÇÃO FIBRO-VASCULARES	+	+	-	-	-	-	-	-		
VASCULITES	-	-	-	-	-	-	-	-		
DACILOSCOPIA	QUANTITATIVA	-	-	-	-	-	-	-		
	QUALITATIVA	-	-	-	-	-	-	-		
OBSERVAÇÕES		MITSUDA +++ POSITIVO	MITSUDA ++ POSITIVO	MITSUDA +++ POSITIVO	MITSUDA +++ POSITIVO	MITSUDA +++ POSITIVO	MITSUDA ++ POSITIVO	MITSUDA +++ POSITIVO		

DISCUSSÃO

Em relação à casuística deste trabalho, dos 1.209 escolares com reação intradérmica de Mitsuda negativa, identificados por DILLON et all, em 1977, foram localizados 600, matriculados nas escolas, nos respectivos domicílios ou nos locais de emprego. Os demais não foram localizados, apesar das várias tentativas, inclusive pelo fato de não mais residirem no referido município.

Com a metodologia empregada, obteve-se a concordância de 350 escolares e para 149, num total de 489 (81,5%) escolares, necessitou-se de visitas domiciliares para contatos pessoais com os pais (ou responsável) para obter a autorização para a realização dos testes. As visitas domiciliares foram necessárias não apenas para a aprovação, mas também para a realização e leitura de alguns testes (20) pelo não comparecimento dessas pessoas no local e data marcados. Esses dados ilustram pelo menos parcialmente as dificuldades em se conduzir tal tipo de trabalho, em população de baixo nível sócio-econômico, agravadas pelo intervalo de tempo de mais ou menos 6 anos.

As entrevistas para a verificação de eventuais contatos com doentes de hanseníase foram feitas com os pró-

prios escolares, pela impossibilidade de realizar visitas a todos os domicílios. Nos casos onde as visitas fizeram-se necessárias, aproveitou-se a oportunidade para realização da mesma junto aos familiares.

A análise histológica da reação de Mitsuda visou ao encontro do granuloma tuberculóide, que é composto de células epitelióides bem diferenciadas, com arranjo característico (tuberculóide). De modo geral, admite-se que a transformação da célula histiocitária em célula epitelióide e sua disposição em nódulos tuberculóides significa resposta imune celular eficiente (HADLER, 1953, 1956; NINA, 1977). Acredita-se haver um paralelismo entre as características da reação de Mitsuda e o grau de capacidade do organismo em eliminar os bacilos (RI DLEY & JOPLING, 1966). Assim, em pacientes tuberculóides que mostram eficiência na eliminação bacilar, a reação de Mitsuda se apresenta clinicamente positiva e tem, como substrato, granulomas tuberculóides no derma. Disto se conclui que o encontro de granulomas tuberculóides no estudo histológico da reação de Mitsuda deve representar capacidade imune eficiente e, como tal, a reação deve ser considerada positiva.

Quando a reação de Mitsuda tem como substrato histológico infiltrados inflamatórios não específicos, reações macrofágicas não epitelióides ou granulomas constituídos por células epitelióides pouco diferenciadas, a reação deve ser considerada negativa (ARRUDA, 1982; PETRI, 1982).

Observa-se, no entanto, variações na extensão e mesmo no conjunto das características histológicas dos granulomas tuberculóides de caso para caso (Quadro III). É prová-

vel que vários fatores influam nestas variações. Assim, PETRI (1982), em revisão de literatura, citando vários autores, refere que "a resposta tardia à lepromina parece refletir tanto a capacidade que os macrófagos têm de destruir os bacilos fagocitados, quanto a influência de agentes sensibilizantes, representados por estímulos específicos, para-específicos (outras micobactérias) e talvez inespecíficos (parasitas intrace lulares não micobacterianos)". Admite-se, também, que um excesso de componentes teciduais na lepromina possa ser causa de reações fracamente positivas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1974) e que a inclusão de restos epiteliais no derma durante a inoculação do antígeno possam provocar um aumento de intensidade da reação inflamatória*. Da mesma forma, deve ter influência na extensão e na manifestação clínica da reação de Mitsuda, a presença de necrose caseosa acompanhando a reação granulomatosa, necrose esta observada em 13 casos deste trabalho e também referida no material de PETRI (1982). E provável que esta necrose esteja relacionada, como na tuberculose, a um grau maior de hipersensibilidade celular aos produtos bacilares (MILLARD, 1977).

Todos esses fatores podem, assim, influir na extensão e manifestação clínica da reação de Mitsuda. Daí acreditar-se que o achado fundamental significativo da resistência seja o encontro de granulomas tuberculóides no derma, qualquer que seja a extensão da reação. A avaliação da fração do derma envolvido pelo granuloma foi realizada por ser o único crité-

*Raul Negrão Fleury (comunicação pessoal).

rio para tentar uma correlação entre os achados histológicos e clínicos em termos de magnitude de lesão reacional. Estes dados poderiam ter valor real se sempre o total da lesão macroscópica fosse retirada para o exame e se a avaliação histológica fosse realizada por técnicas morfométricas, em cortes semi-seriados.

Outros dados histológicos observados merecem alguns comentários. Assim, o edema intersticial e intracelular em meio à reação granulomatosa foi verificado em todos os casos e corresponde a um achado comum às reações tuberculóides (WADE, 1934). A quantidade e morfologia das células gigantes variaram bastante e não foi possível identificar as razões destas variações e nem seu significado dentro da resposta imune. Da mesma forma, não foram interpretadas as variações na intensidade do infiltrado linfocitário ao longo dos granulomas. Deve-se isto, principalmente, a uma dificuldade básica de identificação, em nível de microscopia óptica, entre linfócitos e monócitos. É possível que muitas das células com características linfocitárias sejam, na verdade, monócitos afluindo para os granulomas no sentido de manter o necessário "turn-over" dos macrófagos .

A baciloscopia foi positiva em apenas um caso, com raríssimos bacilos. Desde que as técnicas de contagem de bacilos e a constituição do antígeno tenham sido eficientes e uniformes, é possível que a quantidade de bacilos encontrados na reação de Mitsuda signifique capacidade maior ou menor de "clearance" bacilar, ou mais exatamente, variações de capacidade da resposta imune celular dentro de um grupo resistente.

Dentro deste espírito, os casos estudados mostraram grau muito eficiente de resposta imune.

Em relação aos achados clínicos de hanseníase na amostra, a incidência de 0,6% representa aproximadamente 46 vezes a verificada em 1981 no Estado de São Paulo (0,013%)*. Apesar de ter um efeito meramente comparativo na ordem de grandeza, este dado pode justificar a realização de novos trabalhos epidemiológicos em escolares de modo geral.

Neste trabalho, os resultados da Tabela VII mostram que dos 489 escolares anteriormente Mitsuda negativos, houve viragem em 76,3% dos casos, sendo 55,2% com reação positiva +, 21,15% com reação positiva ++, após estimulações com BCG e lepromina. Foram, ainda, estabelecidas estimativas para as proporções de positividade da reação num intervalo de confiança de 72 a 81%.

A estimulação com BCG e lepromina tem sido motivo de pesquisa de diversos autores e, tanto clínica como experimentalmente, tem-se demonstrado seu efeito positivante, quer sejam empregados isoladamente ou juntos num mesmo inóculo.

Após as observações iniciais de FERNANDEZ (1939), os efeitos lepromino-positivantes do BCG têm sido referidos por vários autores; analisando-se os dados obtidos em cada etapa deste trabalho, observou-se viragem da reação de Mitsuda após vacinação com BCG em 68,7%, muito embora essa posi-

*GONÇALVES, A. (Departamento de Epidemiologia. Escola Nacional de Saúde Pública) Epidemiologia e controle da hanseníase no Brasil. Brasília, OPS/OMS e Ministério da Saúde, Brasil. Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária. (Conferência de Abertura apresentada à Oficina de Trabalho para o Controle da Hanseníase no Brasil, 20 de novembro de 1983) 42p. mimeografado.

tividade tenha direcionado para a faixa de positivo +(51,3 dos casos) (Tabela IV). ROTBERG (1957) sugeriu que as leprominoreações fracamente positivas, sob o ponto de vista histológico admitem formações tuberculóides mas não quantitativamente suficientes para indicar um estado de resistência seguro contra o bacilo de Hansen. THOMAS (1980) alertou para a importância da avaliação histológica da reação de Mitsuda, já que alguns indivíduos hansenianos na forma virchowiana podem apresentar reações clinicamente falso-positivas, apesar desses valores não terem, nesses casos, alcançado medidas clínicas superiores a 1 mm de diâmetro. De acordo com os critérios de classificação clínica utilizados neste trabalho, esses casos se enquadrariam na faixa de duvidosos. Dessa forma, impunha-se a realização de biópsias e exames histológicos nessa amostra, principalmente em relação às reações duvidosas e positivas +. Houve grande dificuldade para a obtenção desse material na amostra e, por isso mesmo, apenas 25 biópsias foram realizadas e estudadas histologicamente, sendo 8 em escolares com reação de Mitsuda duvidosa e 17 em escolares com reação positiva + (Tabela X) .

Os resultados da Tabela X mostram reações histológicas negativas em 25% dos escolares com reação clínica duvidosa, achados estes que vêm de encontro aos de THOMAS(1980). Por este motivo e por ser a amostra muito pequena, estes resultados não foram relacionados entre os considerados como viragem da reação de Mitsuda, embora os demais escolares com reação duvidosa tenham apresentado reação histológica positiva.

Os escolares com reação de Mitsuda positiva + apresentaram, sem exceção, reação histológica positiva, sendo 23,5% com reação positiva ++ e 76,5% com reação positiva +++. Estes resultados estão de acordo com o trabalho de PETRI (1982), que demonstrou em indivíduos não comunicantes de hansenianos, que toda lepromino-reação representada por uma endureção, mesmo com diâmetro inferior a 3 mm, deve ser considerada como indicativa de resposta histológica positiva. Refere, ainda, que mesmo algumas reações clinicamente negativas podem eventualmente corresponder a uma reação histológica positiva. Face a estes resultados e com base em dados da literatura (PETRI, 1982), é possível inferir que entre as reações positivas + constatadas clinicamente, 100% da amostra resultaria em padrão histológico positivo, se todos houvessem concordado com a realização da biópsia.

É possível, ainda, que a preponderância de resulta dos clínicos positivos + na amostra, possa se dever ao fato destes escolares terem tomado apenas uma dose da vacina BCG, enquanto diversos autores citam como fator importante na viragem da reação de Mitsuda a vacinação seriada (AZULAY & NEVES, 1958; ROSEMBERG et all, 1960; SOUZA CAMPOS et all, 1962) . Esse fato talvez pudesse explicar também a porcentagem de escolares que permaneceram com reações negativa (8,0%) e duvidosa (23,3%).

Os resultados em relação à vacinação com uma dose de BCG estão de acordo com os dados da literatura, que demonstram positividade da reação de Mitsuda após essa vacinação (DOUL et alii, 1957; ROSEMBERG et all, 1960; SOUZA CAM-

POS et all, 1962). Esta porcentagem de positividade, testada estatisticamente, mostrou-se significativa, embora com maior porcentagem de positividade clínica. De acordo ainda com estes resultados pode-se estabelecer intervalo de confiança entre 64 a 74% de viragem após a vacinação com uma dose de BCG.

Neste ponto, nova perspectiva deve ser considerada, uma vez que esses escolares já haviam realizado até então pelo menos 2 reações lepromínicas, o que poderia explicar a viragem ocorrida, já que muitos autores acreditam que a própria lepromina possa atuar como fator positivante da reação de Mitsuda (LARA, 1940; IGNACIO et all, 1955; SOUZA CAMPOS, 1956; DOUL et all, 1957; BECHELLI, 1959; ROSEMBERG et all, 1960; BEIGUELMAN et all, 1965; AZULAY, 1974; HAJRA et all, 1981).

Assim considerando, no caso de escolares com reação de Mitsuda negativa e duvidosa, realizou-se uma terceira injeção de lepromina, como preconizado. Houve viragem significativa em 62,3% dos escolares (Tabela V), mostrando que estes resultados provavelmente se devem à própria lepromina atuando como fator positivante, uma vez que, após duas reações lepromínicas e vacinação com BCG, esses escolares ainda se mantinham Mitsuda negativos. Após a terceira reação de Mitsuda, 12,5% dos escolares continuaram negativos.

Desta forma, somando-se todos os escolares com reação positiva após os vários estímulos a que foram submetidos, observa-se que houve uma viragem da reação de Mitsuda em 76,3% dos escolares, permanecendo negativos 5,3% e 18,4% mostrando reação duvidosa (Tabela VII). Estes resultados pode

riam ser atribuídos ao fato de que as estimulações com BCG e/ou com lepromina não foram realizadas de forma repetitiva o suficiente para torna-los positivos (LARA, 1940; AZULAY NEVES, 1958; BECHELLI, 1959; ROSEMBERG et all, 1960; SOUZA CAMPOS et all, 1962; AZULAY, 1974).

E possível, ainda, que esses escolares que permaneceram Mitsuda negativos fizessem parte da chamada "margem anérgica". sugerida por ROTBERG (1957). Esse autor acredita ser o BCG apenas um fator de antecipação na positividade artificial da reação de Mitsuda, sem que o mesmo interfira com o curso imunológico da mesma, ou seja, haveria indivíduos negativos que jamais apresentariam reação positiva, quaisquer que fossem os estímulos. Neste trabalho, essa dúvida poderia ser melhor esclarecida se fossem continuados os processos de estimulação dos escolares, caracterizando melhor a "margem anérgica", se a mesma realmente existir para a amostra.

Os resultados expressos na Tabela VI reforçam também a hipótese de que a lepromina atua no sentido de aumentar a intensidade da reação de Mitsuda, uma vez, que dos 34 escolares com reação duvidosa, 85,3% passaram a apresentar reação positiva, o que está de acordo com dados verificados na literatura (ROSEMBERG et alii, 1952b; SOUZA CAMPOS, 1956).

ROSEMBERG et all (1960) acreditam que, frente a cada nova estimulação, é possível que uma fração suplementar de indivíduos se transformem em reatores. Desta forma, poder-se-ia demonstrar no final a inexistência de "margem anérgica" ou delimitá-la a um número mínimo, talvez mais facilmente controlável.

Assim sendo, nada mais compreensível do que as tentativas de tornar positivos e possivelmente resistentes à hanseníase, indivíduos com reação de Mitsuda negativa e a ela mais susceptíveis (ROTBERG, 1957).

Desde os trabalhos de MITSUDA (1923) e HAYASHI (1933) a positividade à lepromina é considerada índice de resistência relativa contra a infecção hansênica. DHARMENDRA & CHATTERJEE (1955) examinando 680 indivíduos, 15 a 20 anos após terem sido submetidos à reação de Mitsuda, observaram 5,7% de casos de hanseníase (39 indivíduos) e entre esses, uma porcentagem mais elevada (14,1%) entre indivíduos com reação negativa à lepromina em relação aos com reação positiva (3,2%). Observaram, ainda, que 2/3 dos indivíduos com reação negativa apresentavam a doença na forma virchowiana, enquanto entre os com reação positiva nenhum apresentava essa forma da doença. Com esses resultados, concluíram que os indivíduos com reação de Mitsuda negativa eram mais susceptíveis em adquirir a doença, do que os com reação positiva.

BARBIERI & CORREA (1967), trabalhando com cultura de células, observaram que macrófagos de pessoas sadias com reação de Mitsuda do tipo tuberculóide, causam lise do *Mycobacterium leprae* e que os de pessoas com reação do tipo virchowiano apenas fagocitam, mas não destroem os bacilos.

JOB et al (1982, 1983), trabalhando experimentalmente com tatus, também observaram que os animais que apresentavam reação negativa à lepromina eram mais susceptíveis em adquirir a doença e a desenvolviam de forma disseminada. Nesses trabalhos, JOB et al observaram que 3 animais

que apresentavam reação negativa à lepromina e que haviam sido inoculados com *Mycobacterium Zeprae* não adquiriram a doença, ou seja, eram resistentes. Esses autores sugeriram, então, que outros fatores, ainda desconhecidos, poderiam estar conferindo proteção imunitária contra o *Mycobacterium leprae* no caso desses animais.

OPROMOLLA* tem chamado a atenção para casos de indivíduos comunicantes de doentes bacilíferos que não adquirem a doença, embora apresentem reação de Mitsuda persistentemente negativa. São casos provavelmente refratários à hanseníase.

Além dessas considerações a respeito de positividade da reação de Mitsuda e resistência à hanseníase, discute-se ainda a possibilidade da positividade causada quer pelo BCG quer pela própria lepromina ou ambos, significar proteção contra a hanseníase.

HANKS F FERNANDEZ (1956), em estudo experimental em ratos, demonstraram uma proteção mais efetiva nos animais que receberam inóculos com *Mycobacterium leprae murium* combinado com BCG, do que os que haviam recebido BCG ou *Mycobacterium Zeprae murium* somente.

BECELLI (1959), ao analisar diferentes trabalhos da literatura, considerou que a lepromina poderia ser um fator positivante na reação de Mitsuda, mas levantou dúvidas quanto a relação positividade da reação e resistência do indivíduo

*Diltor Vladimir de Araujo Opromolla (comunicação pessoal).

BROWN et all (1969), em programa de vacinação com BCG contra a hanseníase, que incluiu cerca de 19000 crianças ugandenses, observaram a ocorrência da doença em 124 crianças não vacinadas e em apenas 27 vacinadas, verificando uma proteção contra a hanseníase pelo BCG da ordem de 84%.

BECHELLI et all (1974), em programa semelhante realizado em Burma, que incluiu 28200 crianças, observaram a ocorrência da doença em 425 crianças não vacinadas e em 343 vacinadas, verificando um efeito protetor do BCG de 20%, considerado bastante baixo pelos autores, embora a maior porcentagem de lepromino-reação fortemente positiva tenha ocorrido no grupo vacinado.

STANLEY et all (1981), apresentando os resultados finais do programa realizado em Uganda, confirmaram os índices de proteção conferidos pelo BCG e que esse efeito protetor se estendeu após 12 a 13 anos de vacinação. Com base nesses dados e comentando os resultados obtidos em Burma, esses autores concluem que os de Uganda não podem ser aplicados automaticamente a outras populações.

BARBIERI & CORREA (1971) estudaram 863 crianças sadias, que foram divididas em 3 grupos, sendo que um recebeu BCG intradérmico, outro BCG oral e o terceiro serviu como controle. Verificaram reação de Mitsuda positiva em 60,1% dos casos no grupo com BCG intradérmico, em 27,3% no grupo com BCG oral e em apenas 0,7% no grupo controle. Em seguida, realizaram estudos em culturas de macrófagos e observaram a ocorrência de lise dos bacilos no caso das crianças com reação de Mitsuda positiva induzida pelo BCG. Concluíram que o BCG pode

induzir proteção contra a hanseníase e que os macrófagos desses indivíduos assim positivos são capazes de lisar o *Mycobacterium leprae*, enquanto os indivíduos com reação negativa não possuem essa resistência. Dessa forma, os autores sugerem que a reação de Mitsuda positiva significa uma demonstração macroscópica da capacidade macrofágica para lisar o *Mycobacterium Zepreae*.

SHEPARD (1965,1966) trabalhando com modelos experimentais, demonstrou que o BCG é efetivo em diminuir a multiplicação de *Mycobacterium Zepreae* inoculados nos coxins plantares de camundongos.

CONVIT et all (1979) estudaram a possibilidade de alterações imunológicas em grupos de hansenianos com forma indeterminada, com forma virchowiana e em contatos, todos com reação de Mitsuda negativa, utilizando uma mistura de *Mycobacterium Zepreae* e BCG. Observaram positividade da reação, clareamento bacilar e teste positivo de transferência de linfócitos em todos os indivíduos dos grupos de contactantes e de doentes hansenianos com forma indeterminada. Nos doentes com forma virchowiana, apenas um indivíduo tornou-se positivo a todos os critérios adotados; nos demais, apenas a reação de Mitsuda foi positiva. Esses resultados foram discutidos em termos do possível uso desse inóculo na terapêutica e imunoprofilaxia da doença. Em 1982, esses autores vacinaram 529 indivíduos reatores fracos e não reatores à lepromina, incluindo contatos Mitsuda negativos e doentes de hanseníase com inóculo contendo uma mistura de *Mycobacterium Zepreae* mortos pelo calor e BCG. Observaram positivação da rea

ção de Mitsuda em numero significativo em cada grupo estudado, alterações clínicas incluindo uma clara definição das bordas e regressão das lesões em 57% dos doentes com forma virchowia na ativos e em 77% de doentes com forma dimorfa ativos. Esses resultados vieram confirmar o potencial desse inóculo na imunoprofilaxia da doença e demonstraram a eficiência da imunoterapia combinada, segundo esses autores.

Em relação idade (Tabela VII) ,os dados deste trabalho indicam uma associação entre idade e resultados da reação de Mitsuda o que está de acordo com a literatura (LARA, 1940; BECHELLI, 1959; BECHELLI et all, 1962; SOUZA CAMPOS et all, 1962). Entretanto, ao comparar-se a positividade da reação entre as diferentes faixas etárias, não obtiveram-se diferenças significativas,talvez devido a problemas de amostragem ou mesmo a problemas oriundos da classificação etária adotada.

Quanto ao sexo (Tabela VIII) , os resultados indicam que não houve associação entre sexo e positividade da reação de Mitsuda, resultados estes também concordantes com os da literatura (ROTBERG, 1937; LARA, 1940; DOUL et all , 1957; SOUZA CAMPOS et all, 1962).

Em relação à cor dos escolares (Tabela IX), verificou-se que a proporção de escolares brancos (97,5%) é muito superior a de negros (2,5%), o que pelo menos em parte, possa se dever a diferenças de condições sócio-econômicas e distribuição na comunidade, representada pela amostra.

Houve uma viragem da reação de Mitsuda em 76,3% nos escolares de cor branca e de 75,0% nos de cor negra, diferença esta que não se mostrou estatisticamente significativa.

Torna-se difícil a análise da relação cor-reação de Mitsuda, em virtude da distribuição na amostra estudada e pela escassez na literatura de dados referentes a esse respeito.

Com base na literatura, acredita-se que ao conseguir uma positividade para a reação de Mitsuda para os indivíduos em geral, estar-se-ia não só conferindo certo grau de resistência, mas também, a longo prazo, uma possível e tão desejada erradicação da doença, visto que se esta for adquirida, evoluirá, na pior das hipóteses, para a forma tuberculóide, a bacilífera ou paucibacilar e portanto, não seria passada a frente, ou seja, não seria transmitida a outros indivíduos.

Desta forma, até que novos estudos venham esclarecer definitivamente a profilaxia da hanseníase, é possível que todo e qualquer estímulo capaz de positivar a reação de Mitsuda, possa representar importante arma profilática contra a hanseníase.

Talvez seja interessante a realização de reação de Mitsuda de rotina na população em geral e insistir-se no uso do BCG e/ou na realização de repetidas reações com lepromina nos casos de reação negativa, para que os indivíduos com reação negativa persistente possam ser detectados, se for o caso.

CONCLUSÕES

1. A incidência de hanseníase na amostra, detectada clinicamente, foi de 0,6%.
2. A viragem da reação de Mitsuda ocorreu em 68,7% dos escolares após vacinação com uma dose de BCG e duas injeções intradérmicas com lepromina.
3. A viragem da reação de Mitsuda ocorreu em 76,3% dos escolares após uma dose de BCG e no mínimo 2 e no máximo 3 injeções intradérmicas com lepromina.
4. O aumento da intensidade da reação de Mitsuda ocorreu em 85,3% dos escolares após uma nova injeção com lepromina.
5. 5,3% dos escolares permaneceram com reação de Mitsuda negativa após as estimulações realizadas.
6. Estima-se que o intervalo percentual de viragem da reação de Mitsuda, após estimulações com BCG e com um mínimo de 2 e um máximo de 3 injeções com lepromina, esteja entre 72 e 81%.
7. Conclui -se pela existência de associação entre idade e resultados da reação de Mitsuda.

8. Não se verificou influência do sexo sobre a reação de Mitsuda.
9. Não se verificou associação entre cor e positividade da reação de Mitsuda.
10. Os escolares com reação de Mitsuda clinicamente positiva + apresentaram em 100% dos casos exame histológico com padrão positivo.

Tendo em vista os dados da literatura e com base nos resultados obtidos, julga-se válido:

- Realização de novos trabalhos epidemiológicos para detecção de casos de hanseníase.
- Realização de reação de Mitsuda de rotina para detecção de indivíduos com reação negativa.
- Estimulação dos indivíduos com BCG e/ou lepromina para obtenção de possível viragem dos mesmos e para detecção e caracterização de indivíduos com reação de Mitsuda persistentemente negativa.
- Seguimento dos indivíduos persistentemente negativos, se for o caso, para um possível controle epidemiológico da hanseníase.

RESUMO

A resistência de indivíduos sadios à infecção hansênica pode ser avaliada pelo teste de Mitsuda onde utiliza-se, na maioria das vezes, lepromina integral. De acordo com a literatura, vários autores têm utilizado BCG e lepromina na tentativa de se obter viragem da reação de Mitsuda, tanto clínica como experimentalmente, demonstrando resultados variáveis. Foram identificados, em 1977, 1.209 escolares com reação de Mitsuda negativa no município de Barra Bonita, São Paulo, e destes, 489 com idades variando entre 12 e 19 anos, foram estudados neste trabalho, com o objetivo de avaliar-se a viragem da reação de Mitsuda após a vacinação com BCG e realização de testes lepromínicos. Para tal, realizou-se exame dermatológico dos escolares para a verificação de vacinação prévia com BCG e para a detecção de eventuais casos de hanseníase. Em seguida, realizou-se reação de Mitsuda nesses escolares e, nos casos que apresentaram reação negativa e duvidosa, realizou-se nova reação de Mitsuda.

A incidência de hanseníase foi de 0,6%, sendo um escolar com forma tuberculóide, um com forma indeterminada e um com forma virchowiana. A porcentagem de viragem da reação de Mitsuda após vacinação com BCG e duas ou três injeções intradérmicas com lepromina foi de 76,3% e a porcentagem de escolares que permaneceu com reação negativa foi de 5,3%. O exame histológico de escolares com reação de Mitsuda positiva + clinicamente, foi positivo em 100% dos casos. Não observou-se diferença significativa entre positividade da reação e as diferentes faixas etárias, nem influência dos fatores sexo e cor sobre a reação de Mitsuda.

Sugere-se a realização de reação de Mitsuda de rotina para a identificação de indivíduos com reação negativa seguida de estimulações com BCG e/ou lepromina, com objetivo de tornar positivo o maior número possível, tendo em vista a possível resistência contra a doença que isso significaria.

*REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Comissão de Estudos de Documentação. Rio de Janeiro. Referências bibliográficas; NB-66. In: Normas ABNT sobre documentação. Rio de Janeiro, 1978. p.13-30.

WORLD medical periodicals. 3.ed. London, World Medical Association, 1961. 407p.

WORLD medical periodicals. Supplement of 3.ed. London, World Medical Association, 1968. 68p.

- ARRUDA, M.S.P.; ARRUDA, O.S.; FLEURY, R.N.; GARCIA, D.O.; OPROMOLLA, D.V.A.; URA, S. Estudo da imunidade celular em pacientes branqueados. Med. Cut. iber.-lat.-amer., 10:231-8, 1982.
- AYER FILHO, E.; SALOMÃO, A.; FERREIRA, D.L. Positivização de Mitsuda, primeiramente negativa, pelo emprego do BCG oral e em paucipunturas em filhos sadios de hansenianos, internados em preventórios. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE LEPROLOGIA, 6, Madrid, 1953. Anales... Madrid, 1953. p.630.
- AZULAY, R.D. A ação do BCG sobre a reação lepromínica. Hospital (Rio de J.), 34:853-6, 1948.
- AZULAY, R.D. Lepromin retesting as a factor of lepromin test positivation. Int. J. Leprosy, 42:428-30, 1974.
- AZULAY, R.D. & AZULAY, J.D. A viragem da lepromino-reação pela administração do BCG. Bol. Serv. nac. Lepra (Rio de J.), 12:310-2, 1953.
- AZULAY, R.D. & NEVES, R.G. Comportamento do teste lepromínico em cobaios becegeizados por via oral. Rev. bras. Leprol., 26:103-5, 1958.
- BARBIERI, T.A. & CORREA, W.M. Human macrophage culture. The leprosy prognostic test (LPT). Int. J. Leprosy, 35:377-81, 1967.
- BARBIERI, T.A. & CORREA, W.M. Delayed lepromin reaction and BCG application in first grade school children in S. Paulo, Brazil. Int. J. Leprosy, 39:750-5, 1971.
- BECELLI, L.M. The influence of repeated lepromin testing on the Mitsuda reaction in healthy people. Int. J. Leprosy, 27:228-35, 1959.

BECHELLI, L.M.; QUAGLIATTO, R.; ROTBERG, A. Viragem da lepromino-reação em função de diferentes estímulos. Rev. bras. Leprol., 29:3-20, 1962.

BECHELLI, L.M.; LWIN, K.; GARBAJOSA, P.G.; GYI, M.M.; UEMURA, K.; SUNDARESAN, T.; TAMONDONG, C.; MATEJKA, M.; SANSARRICQ, H.; WALTER, J. BCG vaccination of children against leprosy: nine year findings of the controlled WHO trial in Burma. Bull. Wld Hlth Org., 51:93-9, 1974.

BECHELLI, L.M.; HADDAD, N.; PAGNARO, P.M.G.; NEVES, R.G.; MELCHIOR JR., E.; FREGNAN, R.C. etude de la cicatrice léprominique chez des malades de lèpre et des personnes sans manifestations de la maladie testis avec l'antigene humain et différents concentrations de l'antigene du tatou (essais a double insu). Acta leprol. (Geneve), 76/77:173-9, 1979.

BEIGUELMAN, B.; QUAGLIATO, R.; CAMARGO, D.P. Influence of repeated lepromin injections on the Mitsuda skin reaction. Int. J. Leprosy, 33:795-9, 1965.

BROWN, J.A.K.; STONE, M.N.; SUTHERLAND, I. Trial of BCG vaccination against leprosy in Uganda. Leprosy Rev., 40: 3-7, 1969.

CONVIT, J. & PINARDI, M.E. Leprosy: confirmation in the armadillo. Science, 184:1191-2, 1974.

CONVIT, J.; ARANZAZU, N.; PINARDI, M.; ULRICH, M. Immunological changes observed in indeterminate and lepromatous leprosy patients and Mitsuda negative contacts after the inoculation of a mixture of Mycobacterium leprae and BCG. Clin. exp. Immunol., 36:214-20, 1979.

- CONVIT, J.; ARANZAZU, N.; ULRICH, M.; PINARDI, M.E.; REYES, O.; ALVARADO, J. Immunotherapy with a mixture of Mycobacterium leprae and BCG in different forms of leprosy and in Mitsuda-negative contacts. Int. J. Leprosy, 50:415-24, 1982.
- DHARMENDRA § CHATTERJEE, K.R. Prognostic value of the lepromin test in contacts of leprosy cases. Leprosy in India, 27:149-52, 1955.
- DILLON, N.L.; ANSELMO, -M.U.C.; MARQUES, S.A. Resultados comparativos da leitura clínica da reação de Mitsuda nos escolares de Humaitá-Lábrea (AM) e Barra Bonita (SP).. In: JORNA DA CIENTIFICA DA ASSOCIAÇÃO DOS DOCENTES DO CAMPUS DE BOTUCA TU, 7, 1977. Anais... Botucatu, 1977. p.172.
- DOUL, J.A.; GUINTO, R.S.; MALABAY, M.C. Effect of BCG vaccination, lepromin testing and natural causes in inducing reactivity to lepromin testing and to tuberculin. Int. J. Leprosy, 25:13-33, 1957.
- FERNANDEZ, J.M.M. L'injection de "léprolin" chez les lèpreux. Rev. brasil. Leprol., 6:425-30, 1938.
- FERNANDEZ, J.M.M. Estudio comparativo de la reaccion de Mitsuda con las reacciones tuberculinicas. Rev. Argent. Dermatosif., 23:425-53, 1939.
- FERNANDEZ, J.M.M. Influência del BCG sobre la lepromino-reaction. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENE, 10, Belo Horizonte, 1953. Anais... Belo Horizonte, 1953. p.787.
- GARCIA, A.P. On the polar classification of leprosy (editorial). Act. dermo-sifiliogr. (Madrid), 67:115-8, 1976.
- GOODMAN, L.A. Confidence intervals for contrasts among multinomial populations. Ann. math. Stat., 35:716-25, 1964.

- GOODMAN, L.A. On simultaneous confidence intervals for multinomial proportions. Technometrics, 7:247-54, 1965.
- HADLER, W.A. Comportamento do cobaio e do rato normais, injetados com lepromina por via intradérmica. Rev. bras. Leprol., 21:165-94, 1953.
- HADLER, W.A. Influência da inoculação prévia de BCG sobre os resultados da reação da lepromina em cobaias. Tese de Doutorado. Fac. Med. Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1955. Bol. Serv. nac. Lepra (Rio de J.), 15:5-6_, 1956.
- HAJRA, S.M.; CHAUDHURY, S.; GHOEH, S.; KUNDU, S. Lepromin conversion after repeated lepromin administration. Indian J. Derm., 26:24-6, 1981.
- HANKS, J.H. & FERNANDEZ, J.M.M. Enhancement of resistance to murine leprosy by BCG plus specific antigen. Int. J. Leprosy, 24:65-73, 1956.
- HANSEN, G.H.A. Undesolger angaaende Spedalskedens Aarsager (Investigation concerning the etiology of leprosy). Norsk. Mag. Laefevideensk, 3 series, 4, n° 9, suppl. 1-88, Case reports I-LIIII, 1874. Apud: VOGELSANG, T.M. The discoverer of the leprosy bacillus. His life and his work. Int. J. Leprosy, 46:257-332, 1978.
- HAYASHI, F. Mitsuda's skin reaction in leprosy. Int. J. Leprosy, 1:31-8, 1933.
- IGNÁCIO, J.L.; PALAFOX, C.A.; JOSE JR., F.A. Mistuda reactions induced by repeated lepromin testing in children removed at birth from their leprous parents. Failure of BCG to induce strong reactivity in persistently moderate reactors. Int. J. Leprosy, 23:259-69, 1955.

JOB, C.K.; KIRCHHEIMER, W.F.; SANCHEZ, R.M. Tissue response to lepromin, and index of susceptibility of the armadillo to Mycobacterium leprae infection - a preliminary report. Int. J. Leprosy, 50:177-82, 1982.

JOB, C.K.; KIRCHHEIMER, W.F.; SANCHEZ, R.M. Variable lepromin response to Mycobacterium leprae in resistant armadillos. Int. J. Leprosy, 51:347-53, 1983.

KIRCHHEIMER, W.F. & STORRS, E.E. Attempts to establish the armadillo (Dasyphus novemcintus; Linn.) as a model for the study of leprosy. I. Report of a lepromatoid leprosy in an experimentally infected armadillo. Int. J. Leprosy, 39:693-702, 1971.

KUPER, S.W.A. Tuberculin and lepromin sensitivity in the South African Bantu: a pilot survey. Lancet, 1:996, 1955.

LARA, C.B. Mitsuda's skin reaction (lepromin test) in young children of leprosy parents. II. Observations on newly-born to eighteen-month old children. Int. J. Leprosy, 8: 15-28, 1940.

LONG, E.R. The concept of polar forms of leprosy. Int. J. Derm., 14:740, 1975.

LOWE, J. E DHARMENDRA. Studies of the lepromin test (1). A review of the literature and a discussion of the lines of a future work. Leprosy in India, 12:121, 1940.

MILLARD, M. Lung, pleura and mediastinum. In: ANDERSON, W.A. & KISSANE, J.M. Pathology. 7.ed. Saint Louis, C.V. Mosby, 1977. p.1111-5.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Brasil. Instruções para execução das normas técnicas baixadas pela portaria ministerial nº 165/Bsb de 14 de maio de 1976. Diário Oficial da União, 3 de fevereiro de 1977.

- MITSUDA, K. Les lépreux maculo-nerveux d'une part, les tubéreux d'autre part, le comportent différemment a la suite d'une inoculation d'émulsion de tubercule lépreux. In: CONFERENCE INTERNATIONALE DE LÉPROSIE, 3, Strasbourg, 1923. Annales... Strasbourg, 1923. p.219-20.
- MOTA, I. Atividade imunológica dos linfócitos. In: BIER, O. G.; MOTA, I.; SILVA, W.D.; VAZ, N.M. Imunologia básica e aplicada. 2.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1977. p.69.
- OPROMOLLA, D.V.A. Noções de hansenologia. Bauru, Centro de Estudos Dr. Reynaldo Quagliato - Hospital Lauro de Souza Lima, 1982a. v.1, p.30-6.
- OPROMOLLA, D.V.A. Noções de hansenologia. Bauru, Centro de Estudos Dr. Reynaldo Quagliato - Hospital Lauro de Souza Lima, 1982b. v.2, p.170-82.
- PETRI, V. Comparação entre as leituras clínica e histológica da reação de Mitsuda em indivíduos sadios adultos não comunicantes de hansenianos. São Paulo, 1982. 115p. (Tese - Doutorado - Escola Paulista de Medicina).
- RABELLO JR., F.E. Uma classificação clínico-epidemiológica das formas de lepra. Rev. bras. Leprol., 4:375-410, 1936.
- REES, R.J.W. Discussion : nasal infection and transmission of leprosy. Int. J. Leprosy, 44:108-9, 1976.
- RIDLEY, D.S. & JOPLING, W.H. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. Int. J. Leprosy, 34:255-73, 1966.
- ROSENBERG, J.; SOUZA CAMPOS, N.; AUN, J.N. Da relação imunobiológica entre tuberculose e lepra. VI. Inversão da reação de Mitsuda com BCG oral em indivíduos reiteradamente negativos a lepromina durante vários anos. Rev. bras. Leprol., 20: 67-74, 1952a.

- ROSENBERG, J.; SOUZA CAMPOS, N.; AUN, J.N. Da relação imunobiológica entre tuberculose e lepra. VII. Influência do BCG oral sobre a reação de Mitsuda em indivíduos previamente positivos à lepromina. Rev. bras. Leprol., 20:75-80, 1952b.
- ROSENBERG, J.; SOUZA CAMPOS, N.; AUN, J.N.; PASSOS FILHO, M. C.R. Immunobiologic relation between tuberculosis and leprosy. X. Comparative study of the results of the lepromin test in subjects submitted to serial injections of Mitsuda's antigen and to oral BCG vaccination. Int. J. Leprosy, 28:271-83, 1960.
- ROTBERG, A. Some aspects of immunity in leprosy and their importance in epidemiology, pathogenesis and classification of forms of the disease, based on 1529 lepromin tests cases. Rev. bras. Leprol., 5(n° esp.):45-97, 1937.
- ROTBERG, A. Fator "N" de resistência à lepra e relações com a reatividade lepromínica e tuberculínica. Valor duvidoso do BCG na imunização antileprosa. Rev. bras. Leprol., 25: 85-106, 1957.
- ROTBERG, A. "Hanseniasis", the new official name for leprosy in São Paulo, Brazil. Derm. int., 8:40-3, 1969.
- ROTBERG, A.; BECHELLI, L.M.; SOUZA CAMPOS, N.; LESER, W.; QUAGLIATO, R. Estudos sobre a viragem da lepromino-reação. II. Revisão suscinta da literatura e estado atual da questão e das perspectivas profiláticas, a propósito de observação recente sobre viragens lepromínicas em função de diferentes estímulos. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE LEPROLOGIA, 8, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro, 1963.
- SALOMÃO, A. FERREIRA, D. Influência favorável do BCG na evidênciação da reação de Mitsuda em crianças abaixo de 3 anos de idade, na Pupileira Ernani Agrícola. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENE, 10, Belo Horizonte, 1953. Anais...

Belo Horizonte, 1953. p.755.

SHEPARD, C.C. The nasal excretion of Mycobacterium leprae in leprosy. Int. J. Leprosy, 30:10-8, 1962.

SHEPARD, C.C. Vaccination against experimental infection with Mycobacterium leprae. Amer. J. Epidem., 81:150, 1965.

SHEPARD, C.C. Vaccination against human leprosy bacillus infections of mice; protection by BCG given during the incubation period. J. Immunol., 96:279, 1966.

SILVA, C. § RABELLO NETO, A. Influência da vacinação pelo BCG sobre a lepromino-reação em pessoas sadias comunicantes e não comunicantes de casos de lepra. Rev. bras. Leprol., 27:129-43, 1959.

SOUZA CAMPOS, N. Resultados do "lepromin-test" nos preventórios de filhos de leproso. Rev. bras. Leprol., 6:31-48, 1939.

SOUZA CAMPOS, N. O valor da reação de Mitsuda no diagnóstico de forma clínica nos casos de lesões nervosas de lepra. Rev. Paul. Med., 21:496-7, 1942.

SOUZA CAMPOS, N. O BCG na profilaxia da lepra. Positividade espontânea. Positividade em seguida a reinoculação do antígeno. Resultados práticos até agora observados. Rev. bras. Leprol., 24:173-87, 1956.

SOUZA CAMPOS, N.; LESER, W.; BECHELLI, L.M.; QUAGLIATO, R.; ROTBERG, A. Viragem da lepromino-reação em função de diferentes estímulos. Influência da idade nessa viragem, no grupo etário de 6 a 43 meses. Rev. bras. Leprol., 29:3-20, 1962.

STANLEY, S.J.; HOWLAND, C.; STONE, M.M.; SUTHERLAND, I. BCG vaccination of children against leprosy in Uganda: final results. J. Hyg. (Lond), 87:233-48, 1981.

THOMAS, J.; JOSEPH, M.; RAMANJAN, K.; CHACKO, C.J.G.; JOB, C.K. The histology of Mitsuda reaction and its significance. Leprosy Rev., 51:329-39, 1980.

WADE, H.W. Tuberculoid changes in leprosy. II. Lepra reaction in tuberculoid leprosy. Int. J. Leprosy, 2:279-92, 1934.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Immunological problems in leprosy research . Leprosy Rev., 45:244-72, 1974.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Recommended safety requirements for the preparation of lepromin: a WHO memorandum. Bull.Wld Hlth Org., 57:921-3, 1979.