

3 P A C I E N T E S M É T O D O S

3.1 PACIENTES

Para compor a presente casuística foram convocados pacientes registrados no Hospital Lauro de Souza Lima, Bauru, SP, que haviam sido previamente classificados como tuberculóides ou como dimorfos na forma reacional, segundo os critérios adotados no VI CONGRESSO INTERNACIONAL DE LEPROLOGIA, realizado em Madri, em 1953.

Os pacientes, num total de 37, foram reunidos através de documentação fotográfica constante nos arquivos do referido hospital e por descrições dos exames dermatológicos contidas nos respectivos prontuários. Todos apresentavam lesões dermatológicas semelhantes. Destes pacientes, 18 foram considerados tuberculóides reacionais e 19 dimorfos reacionais constituindo, respectivamente, o Grupo 1 (G_1) e o Grupo 2 (G_2) do trabalho (figuras 1, 2, 3 e 4).



Fig.1: Hanseníase Tuberculóide
Reacional



Fig.2: Hanseníase Dimorfa
Reacional



Fig.3: Hanseníase Tuberculóide
Reaccional



Fig.4: Hanseníase Dimorfa
Reaccional

Foi feito levantamento dos arquivos do Hospital Lauro de Souza Lima e, a seguir, os pacientes foram convocados pelo Serviço Social Médico do referido hospital, por carta, telefone e através dos serviços da rede de saúde. Os que compareceram foram submetidos a entrevista médica e devidamente esclarecidos em relação ao conteúdo, objetivo e processamento das etapas do trabalho; para o desenvolvimento do mesmo foram obedecidas as normas previstas no Código de Nuremberg e Declaração de Helsinque II (VIEIRA & HOSSNE, 1987). Os que concordaram em participar assinaram um termo de responsabilidade (apêndice). A seguir, foram submetidos a avaliações:

3.2.1 Clínica: os pacientes foram examinados clinicamente, a fim de avaliar seu estado atual. Assim, foram realizados os exames clínico geral e dermatológico. Embora não fazendo parte do presente trabalho, a título de documentarão, de possíveis avaliações futuras e de acompanhamento dos pacientes, foram realizados ainda: documentarão fotográfica, coleta de material para baciloscopia e biópsia das lesões cutâneas para exame histológico.

3.2.2 Imunológica: realizada através da Reação de Mitsuda (RM), de acordo com a seguinte metodologia:

3.2.2.1 Antígeno: utilizou-se a mitsudina integral contendo 60 milhões de bacilos por mililitro, partida 4/86, fornecida pelo Hospital Lauro de Souza Lima, Bauru, SP.

3.2.2.2 Técnica: as reações foram feitas sempre pela mesma pessoa, realizando-se em cada indivíduo tatuagem prévia com tinta Nankin, em número de dois pares em cada braço, com distância de 2 centímetros (cm) entre cada par, para delimitação exata dos locais de realização da Reação de Mitsuda.

Inoculou-se em cada indivíduo, por via intradérmica, 0,1 mililitro da solução, na face ântero-medial dos braços, num total de quatro reações, sendo duas em cada braço e sempre no ponto médio entre cada par de tatuagens (figura 5).

Para a realização das tatuagens e das reações de Mitsuda utilizou-se sempre material técnico descartável.

3.2.2.3 Leitura clínica das reações de Mitsuda: as leituras foram feitas, na grande maioria dos casos, pela mesma pessoa e realizadas aos 30, 60, 90 e 120 dias (d) após a inoculação do antígeno. A leitura clínica foi feita em milímetros (mm), considerando a média dos dois diâmetros maiores.

Para as leituras correspondentes aos 30, 60, 90 e 120 dias utilizou-se, respectivamente:

Reação de Mitsuda proximal do braço esquerdo.
Reação de Mitsuda distal do braço esquerdo.
Reação de Mitsuda proximal do braço direito.
Reação de Mitsuda distal do braço direito.

3.2.2.4 Interpretação clínica dos resultados: foi realizada segundo as normas estabelecidas na II CONFERÊNCIA PANAMERICANA DE LEPROLOGIA, realizada no Rio de Janeiro, em 1946, e ratificadas nos CONGRESSOS INTERNACIONAIS DE LEPROLOGIA DE HAVANA, em 1948, MADRI, em 1953, TÓQUIO, em 1958, e adotadas pela OMS (1970, 1980) como se segue:



Fig.5: Reação de Mitsuda

- Reação de Mitsuda negativa (-): Ausência de qualquer reação no local da inoculação.
- Reação de Mitsuda duvidosa (\pm): Presença de infiltração com diâmetro inferior a 3 milímetros.
- Reação de Mitsuda positiva +: Presença de infiltração com diâmetro entre 3 e 5 milímetros.
- Reação de Mitsuda positiva ++: Presença de infiltração nodular com diâmetro superior a 5 milímetros.
- Reação de Mitsuda positiva +++: Presença de infiltração maior que 10 milímetros ou ulcerada.

3.2.2.5 **Avaliação histológica:** foi feita pelo exame histológico dos fragmentos obtidas através de biópsia de pele do local da reação de Mitsuda, procurando-se atingir o ponto mais central das reações visíveis e o ponto compreendido entre as duas marcas de tinta Nankin nas invisíveis.

Para realização das biópsias de pele foram utilizados "punchs" medindo 5 milímetros de diâmetro, após anestesia local. As biópsias foram realizadas nos tempos correspondentes às leituras clínicas, ou seja, em 30, 60, 90 e 120 dias.

O material para exame histológico foi fixado em formalina, transferido para o álcool e processado para inclusão em parafina e microtomia. As secções obtidas foram coradas pela Hematoxilina-Eosina e pelo FITE-FARACO (FARACO, 1938; FITE et alii, 1947) e analisadas no setor de Patologia do Hospital Lauro de Souza Lima. O critério utilizado na avaliação baciloscópica das biópsias foi o índice baciloscópico (RIDLEY, 1977), adaptado para este tipo de leitura (FLEURY, 1987). Bacilos em área de necrose não foram considerados (PETRI, 1982).

Os critérios utilizados na classificação histológica da reação foram propostos por FLEURY em 1985 (LASTÓRIA et

alii, 1985), em 1987 e em 1989, descritos a seguir:

CLASSES	CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA DA RM
1	Ausência de resposta ou resposta inflamatória crônica, focal e não específica.
2	Reação inflamatória crônica histiocitária, esparsa ao longo do colágeno dérmico
3	Reação inflamatória crônica glanulomatosa, não tuberculóide
4	Reação inflamatória crônica granulomatosa tuberculóide: <ul style="list-style-type: none"> 4a. atingindo fração dérmica menor que 0.25. 4b. atingindo fração dérmica entre 0.25 e 0.50. 4c. atingindo fração dérmica entre 0.50 e 0.75. 4d. atingindo fração dérmica maior que 0.75.

As classes 1,2 e 3 foram consideradas como reação de Mitsuda negativa (N) e a classe 4 como positiva (P). Entre as classes positivas, a 4a e a 4b foram consideradas como positivas fracas, a 4c como moderada e a 4d como forte.

A classificação histológica, de acordo com os critérios acima referidos, foi obtida expondo-se os dados da análise microscópica em tabelas (apêndice). As alterações passíveis de ocorrerem na reação de Mitsuda foram avaliadas para cada caso nos quatro diferentes momentos, quanto a sua presença (+) ou ausência (-) ou quanto a quantificação nos graus + (discreto), ++ (moderado) e +++ (intenso).

Considerou-se, ainda, a distribuição dos pacientes de acordo com a faixa etária e o sexo.

3.3 MÉTODOS ESTATÍSTICOS

3.3.1. Para a reação de Mitsuda clínica, variável quantitativa medida em quatro momentos ($M_1=30$, $M_2=60$, $M_3=90$ e $M_4=120$ dias após a inoculação com mitsudina), foram calculados média (\bar{X}), desvio padrão (s), mediana (M_d) e percentis (P_{10} e P_{90}) em cada grupo.

Para esta variável foram realizadas as análises estatísticas descritas a seguir:

3.3.1.1 Análise de Perfil (MORRISON, 1967) com o objetivo de comparar os dois grupos ($G_1 = TR$ e $G_2 = DR$), sendo testadas as hipóteses de:

- a) interação entre grupos e momentos: verifica a similaridade (analogia) dos perfis dos dois grupos no conjunto dos momentos;
- b) diferença entre grupos: verifica se os perfis dos dois grupos são iguais (no caso de serem similares);
- c) efeito de momento: compara as médias de momentos para o conjunto dos dois grupos;
- d) diferença entre grupos em cada momento, separadamente;
- e) diferença entre momentos em cada grupo, separadamente.

Em cada hipótese testada foram calculadas as estatísticas F (ou t) e seus níveis de significância (p).

3.3.1.2 Análise discriminante linear (MORRISON, 1967) com o objetivo de verificar o poder discriminatório da RM clínica, avaliada nos quatro momentos. Foi calculada a função discriminante linear, da forma: $F(x) = a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_4$, onde x_j é o valor da RM clínica no momento j ($j = 1, \dots, 4$) e a_j são os coeficientes calculados utilizando-se o método.

Substituindo-se os valores médios da reação de Mitsuda clínica de G_1 e de G_2 são calculados $F(x_1)$ e $F(x_2)$, respectivamente, que são os pontos representativos dos dois grupos. Define-se um ponto médio como $PM = (F(x_1) + F(x_2))/2$.

Em seguida, são calculados os valores $F(x_i)$, com $i = 1, \dots, n$ ($n = n_1 + n_2$) para cada um dos pacientes e estes são re-classificados em G_1 ou em G_2 , conforme a maior proximidade de $F(x_i)$ com $F(x_1)$ ou com $F(x_2)$, respectivamente. Este procedimento possibilita calcular as taxas de erro de classificação inerentes à função, o que serve como indicação do seu poder discriminatório (taxa de erro é a relação entre número de indivíduos classificados erroneamente, pela função, em um grupo e o número de indivíduos pertencentes ao grupo).

3.3.2 Para a reação de Mitsuda histológica e baciloscópica, variáveis qualitativas em escala ordinal, indicadas por escores numéricos, optou-se por métodos de análise não paramétricos (HOLLANDER & WOLFE, 1973). Foram calculados a mediana (M_d) e os percentis (P_{10} e P_{90}) nos grupos em cada momento.

A comparação entre grupos em cada momento, separadamente, foi feita pela prova de Mann Whitney, com o cálculo da estatística U e do seu nível de significância (p).

A comparação entre momentos dentro de cada grupo, em separado, foi feita pela prova de Friedman com cálculo das estatísticas X^2 e p .

Em todas as hipóteses testadas, as estatísticas calculadas foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

Na avaliação histológica, para efeito de cálculo, utilizou-se a substituição dos parâmetros observados na histologia por valores numéricos como se segue:

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA	VALORES PARA CÁLCULO
2	2
3	3
4a	4
4b	5
4c	6
4d	7

Na avaliação baciloscópica, para efeito de cálculo, utilizou-se a substituição dos parâmetros utilizados em cru- zes por valores numéricos, como se segue:

AVALIAÇÃO BACILOSCÓPICA	VALORES PARA CÁLCULO
Negativo	0
+	1
++	2
+++	3

3.3.3 ASSOCIAÇÃO ENTRE VARIÁVEIS.

Para o estudo da associação entre as variáveis clínica e histológica foi calculado o coeficiente de correlação de postos (HOLLANDER & WOLFE, 1973) para o par de variáveis em cada momento, separadamente.