

4. RESULTADOS

4- RESULTADOS

4.1. Avaliação Macroscópica da Bolsa Algal e Coxim Plantar

A partir das 20 horas p.i, na maioria dos animais inoculados na bolsa jugal, a lesão do local de inoculação era evidente e se apresentava como nódulo milimétrico bem delimitado, de coloração esbranquiçada e consistência discretamente aumentada. No grupo G1 aos 21 dias p.i não foi possível visualizar a lesão.

A lesão de inoculação do coxim plantar foi sempre de difícil visualização macroscópica; assim, todo o tecido do coxim plantar foi coletado e o seu centro considerado o local de inoculação.

4.2- Avaliação Microscópica da Bolsa Jugal

4.2.1- Grupo Experimental 1 (G1)

Os cortes histológicos do local de inoculação dos animais sacrificados 20 horas p.i demonstravam denso acúmulo de macrófagos e neutrófilos sendo a área central predominantemente neutrofílica; muitos neutrófilos nessa área apresentavam-se fragmentados (Fig.1 a,b). Circundando essa lesão observava-se edema, congestão e exsudato neutrofílico ao lado de alguns eosinófilos, mastócitos e monócitos dispersos, sem limites precisos. Lâminas coradas pela técnica de Faraco-Fite demonstravam áreas com bacilos bem corados, sugestivos de bacilos íntegros, mas no conjunto predominavam bacilos granulados. O IB foi de 4+ (Fig. 1c) segundo classificação proposta por Ridley & Nilson (1967).

Após 48 horas, as lesões eram semelhantes às de 20 horas, porém, os acúmulos de macrófagos e neutrófilos apresentavam delimitação mais precisa e disposição mais compacta. A área central apresentava neutrófilos mais fragmentados (Fig. 2 a,b). O IB foi de 4+.

com bacilos predominantemente granulosos e raros bacilos íntegros no interior de macrófagos e de alguns neutrófilos (Fig. 2c).

A lesão no 7º dia era mais discreta, delimitada, representada por granuloma macrofágico com raros neutrófilos. Os macrófagos apresentavam citoplasma microvacuolizado semelhantes às células de Virchow. A periferia da lesão apresentava-se, sem congestão ou outras células inflamatórias exceto raros neutrófilos e mastócitos (Fig. 3a). Notava-se ainda presença de algumas células gigantes multinucleadas do tipo Langhans (Fig.3b). O IB foi de 5+ de bacilos granulosos (Fig. 3c).

Aos 14 dias, observou-se redução na extensão do granuloma, mas de morfologia semelhante ao do 7º dia (Fig. 4 a,b). O IB não se alterou apresentando 5+ de bacilos granulosos no interior de macrófagos (Fig. 4c).

Aos 28 dias, a lesão não se alterou, exibindo granuloma macrofágico composto por células com citoplasma abundante, vacuolado e núcleo vesiculoso ao lado de alguns macrófagos pouco vacuolados (Fig. 5a,b). O IB foi de 6+ de bacilos granulosos (Fig. 5c).

4.2.2- Grupo Experimental 2 (G2)

A lesão de inoculação com 20 horas, era representada por um amplo processo supurativo central, circundado por macrófagos formando um anel. Circundando essa lesão havia moderado edema e congestão com exsudato de neutrófilos, alguns eosinófilos, mastócitos e células monocitárias (Fig. 6a,b). Pelo Faraco-Fite o IB foi de 3+ de bacilos granuloso, alguns no espaço intercelular (Fig. 6c).

Com 48 horas, o abscesso era semelhante à lesão de 20 horas, porém, mais circunscrito, com redução do edema, congestão e exsudação de células no tecido circunjacente. Alguns macrófagos apresentavam citoplasma abundante e pequenos vacuolos (Fig. 7a,b). O IB foi de 4+ e os bacilos localizados no interior de neutrófilos e macrófagos eram todos granuloso (Fig. 7c).

Aos 7 dias, a lesão era bem delimitada e constituída por granuloma macrofagico com uma pequena area central necrótica composta por neutrófilos fragmentados. Circundando esse granuloma, havia ainda um infiltrado inflamatório composto por monócitos, alguns neutrófilos, eosinófilos e mastócitos de distribuição difusa (Fig. 8 a,b). Os

bacilos granuloso fagocitados pelos macrófagos com IB de 5+ estavam mdistribuídos uniformemente (Fig. 8c).

Aos 14 dias, o granuloma tomou-se mais circunscrito, constituído por macrófagos multivacuolados com citoplasma abundante. No centro da lesão, observaram-se alguns neutrófilos e eosinófilos, sem formação de processo supurativo (Fig. 9 a,b). O IB foi 5+ de bacilos granuloso (Fig. 9c).

Aos 21 dias, o granuloma era semelhante ao de 14 dias, porém, bem delimitado e sem neutrófilos (Fig. 10 a,b). O IB foi de 5+ de bacilos granuloso no interior dessas células com numerosas globias (Fig. 10c). Nas circunjacências da lesão principal, havia alguns macrófagos com numerosos bacilos granuloso.

Aos 28 dias, a lesão permanecia inalterada (Fig.11 a,b), com IB de 6+ de bacilos granuloso no interior de células macrofágicas formando globias (Fig.11c).

43- Avaliação Microscópica do Coxim Plantar

4.3.1- Grupo Experimental 3 (G3)

A análise histológica do coxim plantar em hamsters sacrificados com 20 horas, demonstrou lesão central representada por acúmulo de fibrina, neutrófilos e alguns macrófagos. Na periferia a lesão exibiu edema, congestão, exsudato difuso de neutrófilos, monócitos, mastócitos e alguns eosinófilos cuja intensidade diminuía progressivamente com a distância da lesão central (Fig. 12 a,b). Os cortes corados pelo Faraco-Fite exibiam IB de 3+ de bacilos granulosos e alguns sólidos, isolados ou formando globias, localizados no interior de macrófagos e no espaço intercelular (Fig. 12c).

Com 48 horas, houve aumento do número de macrófagos e redução acentuada do número de neutrófilos no centro da lesão. Na periferia o infiltrado de células inflamatórias era de composição semelhante ao verificado às 20 horas porém muito mais discreto (Fig. 13 a,b). O IB permaneceu inalterado de 3+ de bacilos granulosos e alguns sólidos, no interior de macrófagos e neutrófilos (Fig. 13c).

Aos 7 dias, a lesão era composta por células epitelióides em meio às quais observavam-se neutrófilos, eosinófilos e linfócitos, além de algumas células gigantes multinucleadas (Fig. 14 a,b). Esse conjunto era circundado por exsudato celular semelhante ao de 48 horas. Pelo Faraco-Fite, observou-se IB de 4+ de bacilos granulosos no interior de macrófagos (Fig. 14c).

Aos 14 dias, a lesão era delimitada e, formada por granuloma epitelióide contendo células gigantes e linfócitos (Fig. 15 a,b). Havia ainda remanescentes de infiltrado inflamatório na periferia da lesão central com predomínio de células mononucleares. O IB permaneceu inalterado com 4+ de bacilos granulosos (Fig. 15c).

Aos 21 dias, observou-se diminuição do granuloma epitelióide, tornando-se mais compacto com células gigantes e linfócitos (Fig. 16 a,b). O IB foi de 2+ de bacilos granulosos (Fig. 16c).

Aos 28 dias, a lesão se tornou muito reduzida, composta por acúmulo de células epitelióides com citoplasma finamente vesiculoso, linfócitos e algumas células gigantes (Fig. 17 a,b). O IB foi 2+, com bacilos granulosos (Fig. 17 c).

4.4- Teste de Recuperação Bacilar (G4) e Camundongo

Os coxins plantares de camundongos inoculados com *M. leprae* isolados das bolsas jugais de hamsters do grupo G4 demonstraram resultados positivos aos 7 e 14 dias p.i com recuperação de $6,4 \times 10^3$ e $1,3 \times 10^4$ *M.leprae*/ml respectivamente. A recuperação resultou negativa aos 21 e 28 dias p.i.

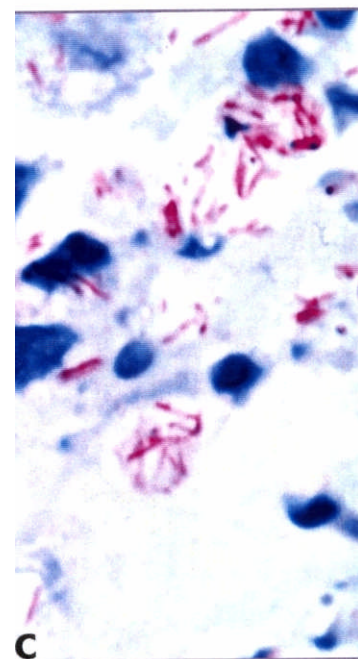
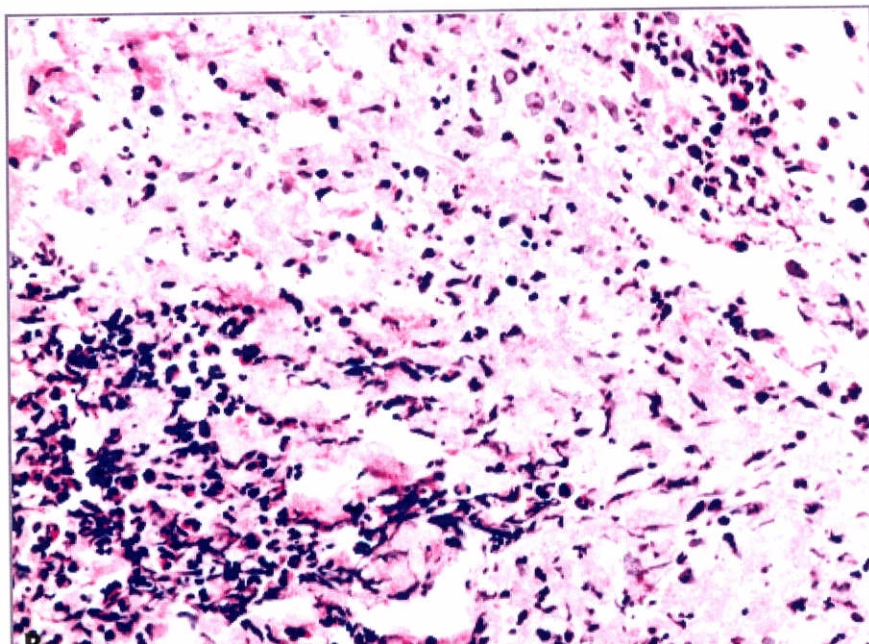
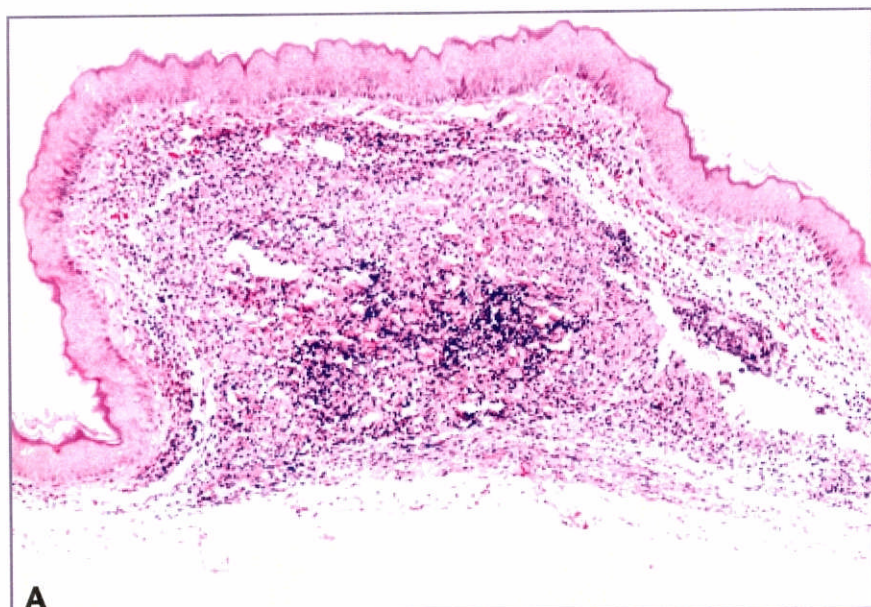


FIGURA 1. G1 - Bolsa Jugal - 20 h - p.i

A) Lesão exsudativa formando um denso acúmulo celular delimitado, fazendo protuberância na superfície epitelial. O foco central é circundado por uma área com edema, congestão e células inflamatórias distribuídas mais difusamente.

(HE - 40 X)

B) O centro da lesão é composto predominantemente de neutrófilos íntegros e fragmentados.

(HE - 200 X)

C) Bacilos granulosos e alguns sólidos.

IB: 4+ (Faraco - Fite - 1000 X)

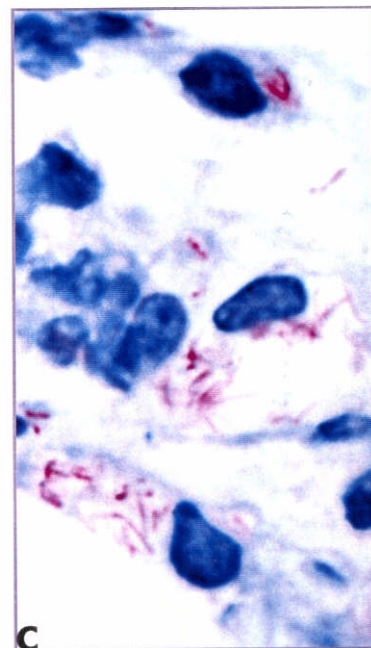
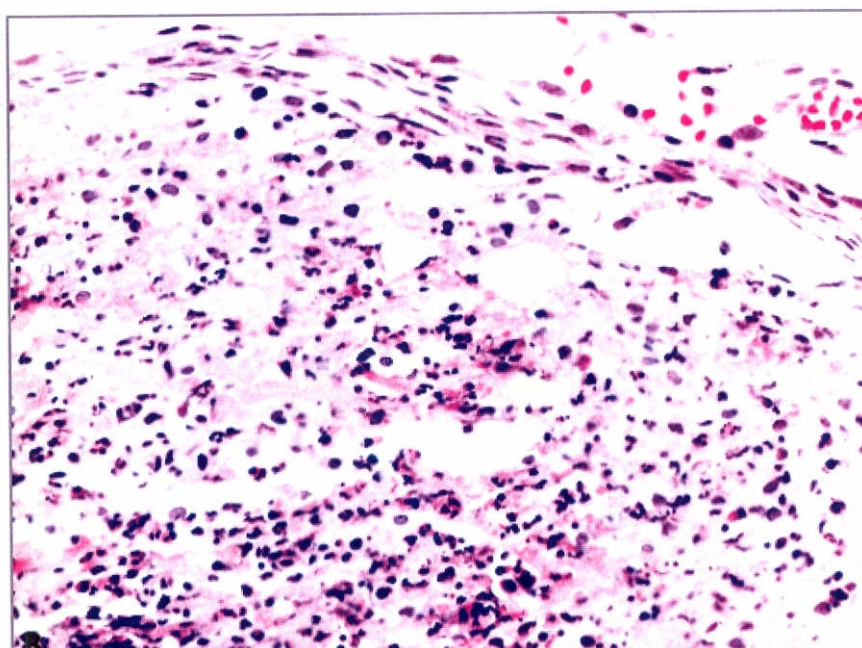
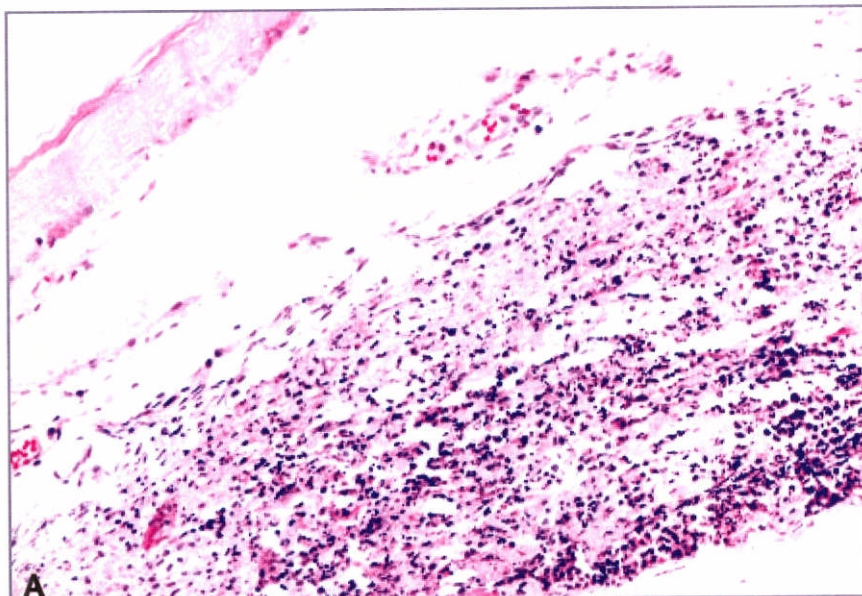


FIGURA 2. G1. - Bolsa Jugal - 48 h - p.i

A) Lesão nodular, bem delimitada, composta de macrófagos e neutrófilos.
(HE - 100 X)

B) Detalhe da lesão demonstrando macrófagos com citoplasma eosinofílico e amplo, ao lado de neutrófilos fragmentados.
(HE - 200 X)

C) Bacilos granuloso e alguns íntegros. IB:
4 + (Faraco - Fite - 1000 X)

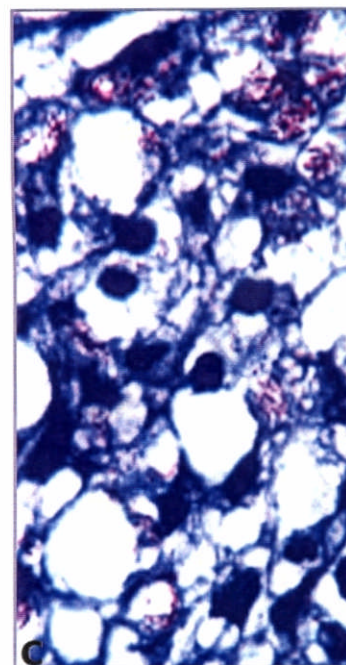
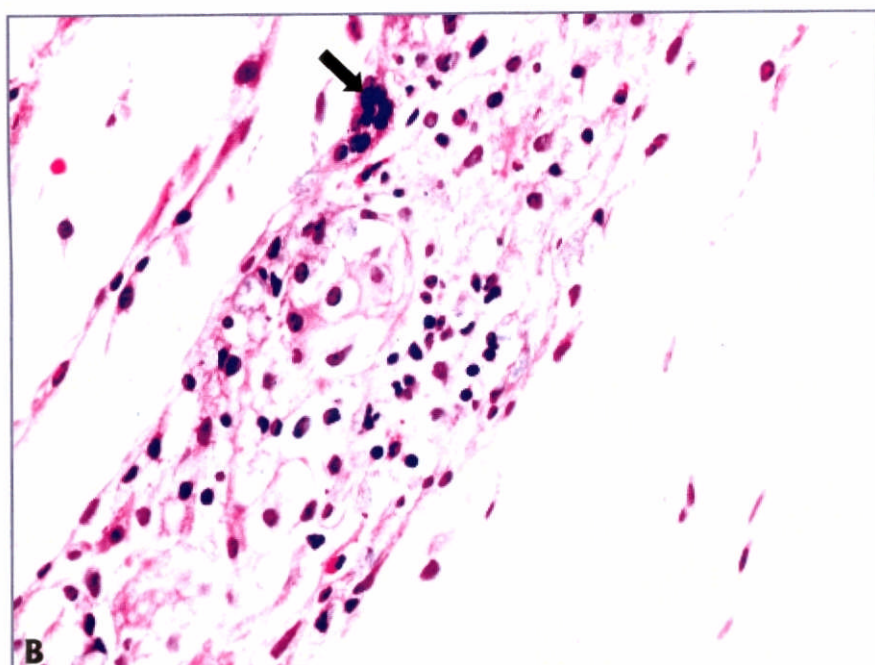
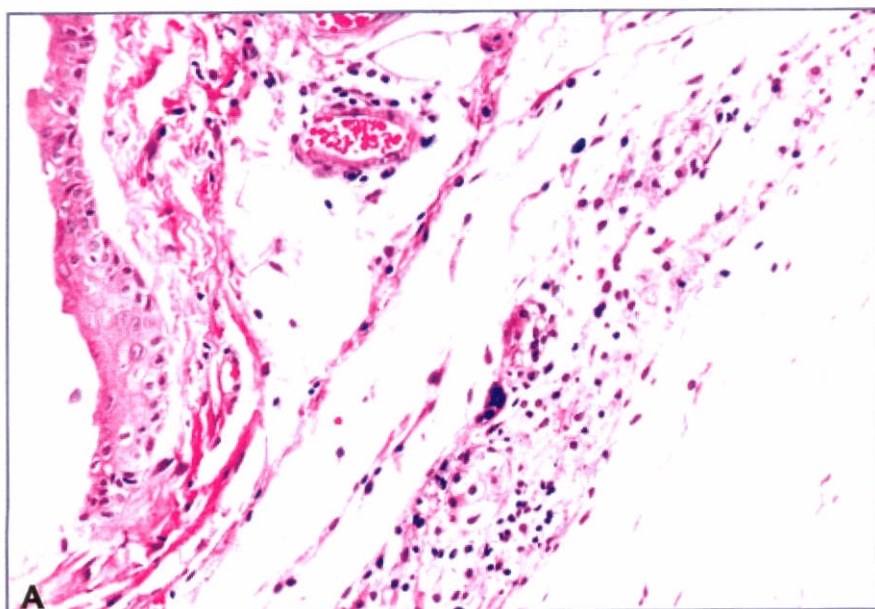


FIGURA 3. G1. - Bolsa Jugal - 7 dias - p.i

A) Pequeno granuloma macrófágico com raros neutrófilos.
(HE - 100 X)

B) Detalhe demonstrando macrófagos com citoplasma multivacuolado, semelhantes às células de Virchow. Observa-se também uma célula gigante multinucleada (seta) e alguns linfócitos
(HE - 200 X)

C) Bacilos granulosos.
IB: 5 + (Faraco - Fite - 1000 X)

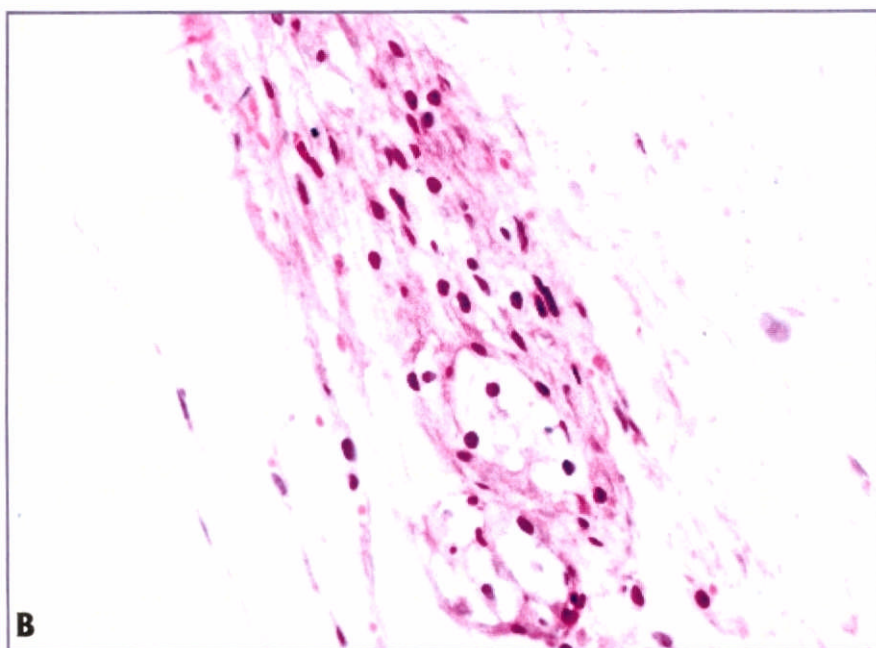
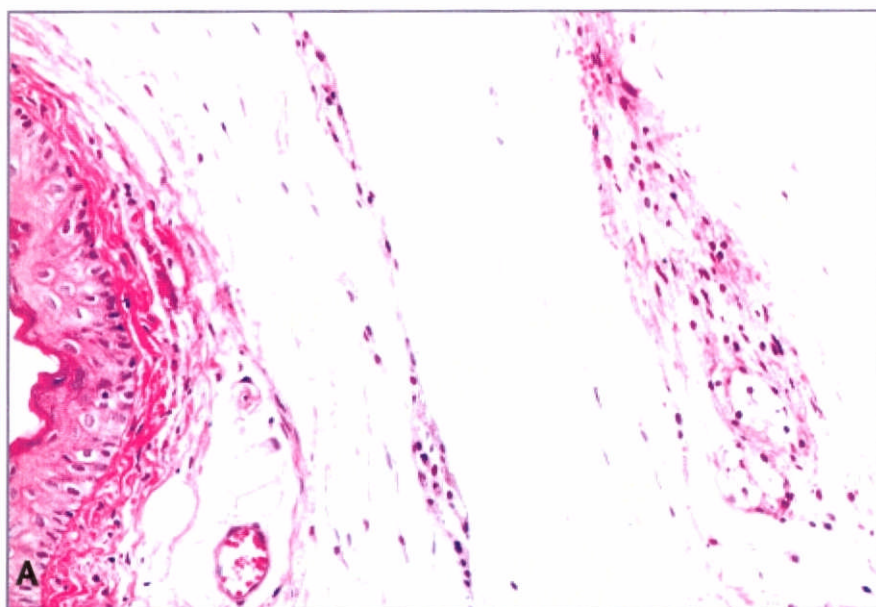


FIGURA 4. G1. - Bolsa Jugal - 14 dias - p.i

A) Granuloma macrófágico pequeno e bem delimitado.
(HE - 100 X)

B) Detalhe demonstrando macrófagos multivacuolados.
(HE - 200 X)

C) Bacilos granulosos.
IB: 5+ (Faraco - Fite - 1000 X)

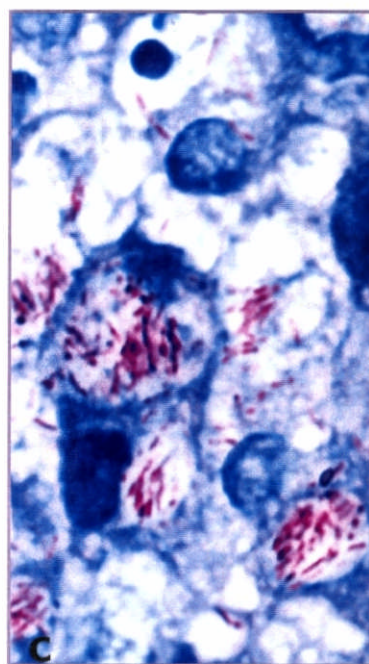
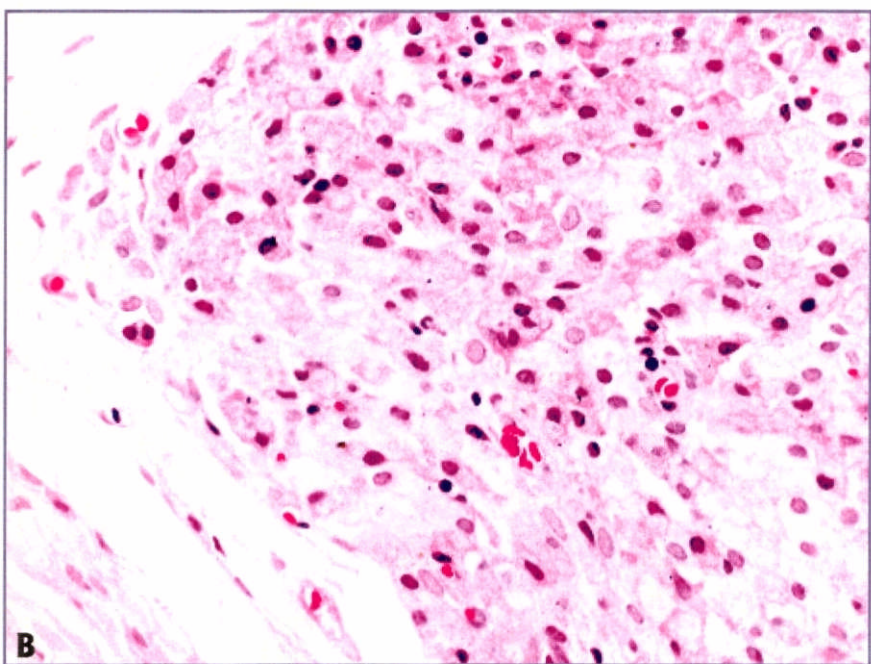
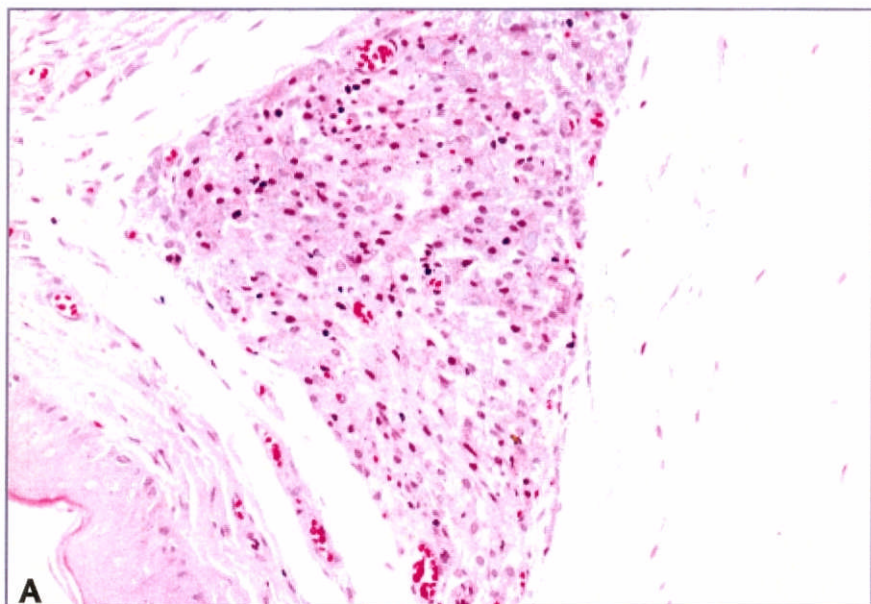


FIGURA 5. G1.- Bolsa Jugal - 28 dias - p.i

A) Granuloma macrófágico bem delimitado.
(HE - 100 X)

B) Detalhe demonstrando macrófagos com citoplasma amplo e alguns linfócitos
(HE - 200 X)

C) Grande número de bacilos granulosos no interior de macrófagos.
IB: 6+ (Faraco - Fite - 1000 X)

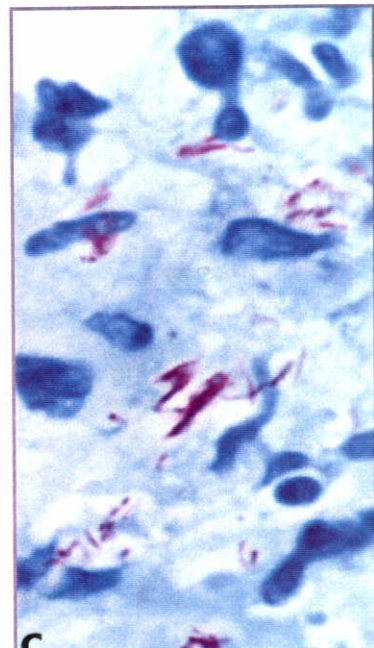
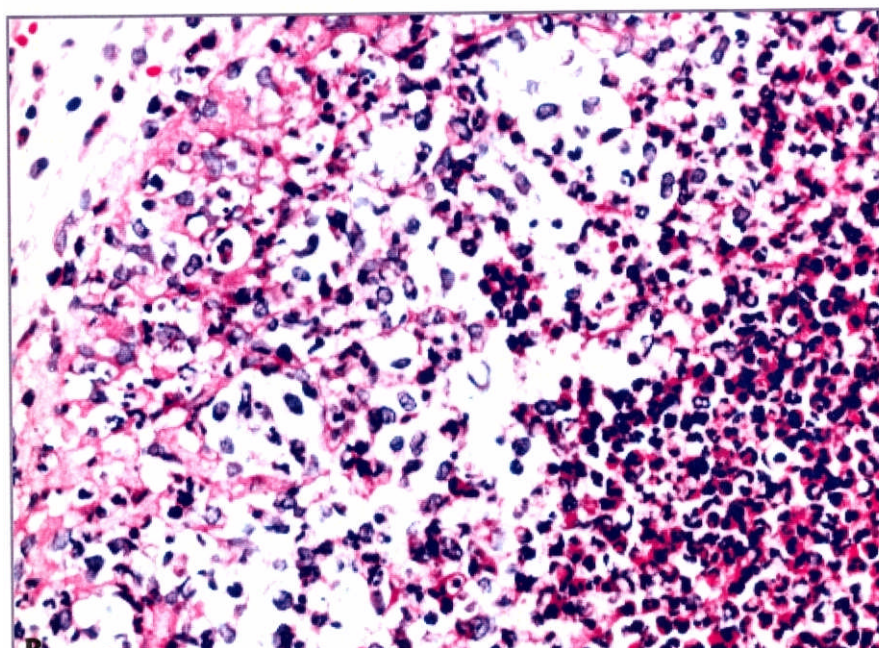
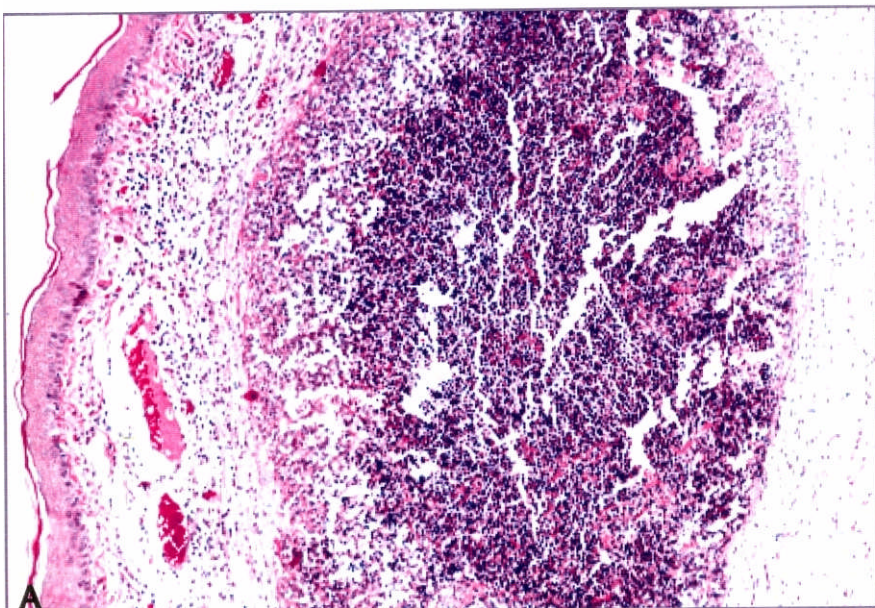


FIGURA 6. G2. - Bolsa Jugal - 20 h - p.i

A) Lesão exsudativa representada por processo supurativo central, circundado por macrófagos em meio a edema com moderada congestão.
(HE - 40 X)

B) Detalhe da lesão demonstrando área central predominantemente neutrofílica, circundado por macrófagos (HE - 200 X)

C) Bacilos granulados.
IB = 3+ (Faraco - Fite - 1000 X).

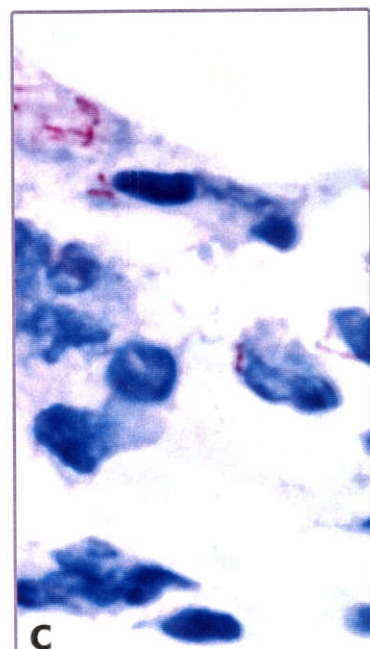
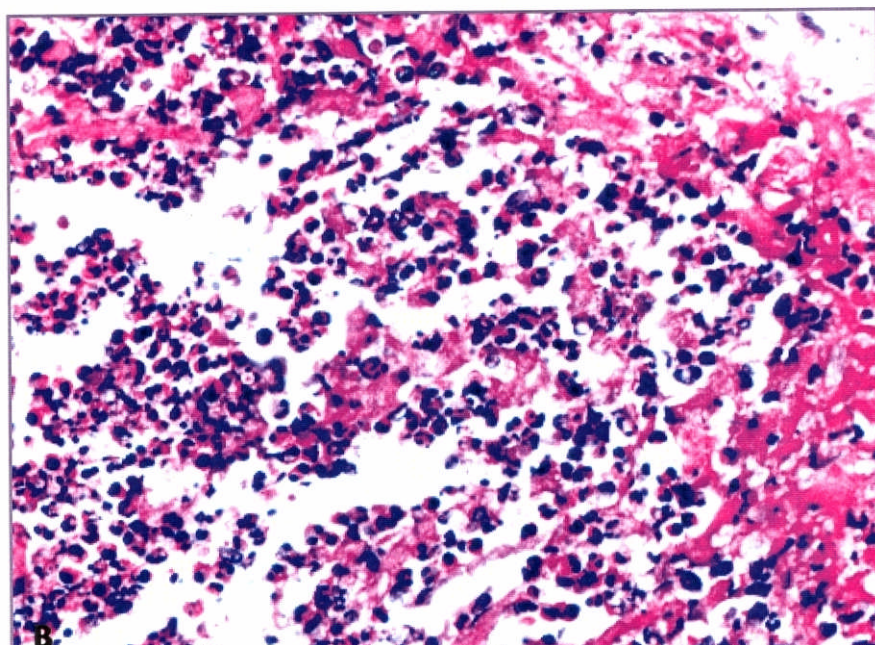
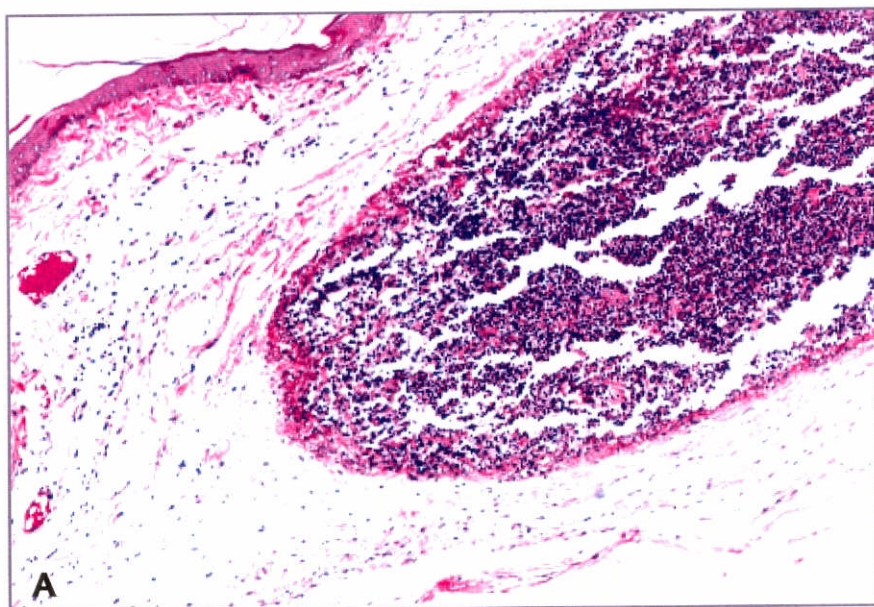


FIGURA 7. G2. - Bolsa Jugal - 48 h - pi

A) Lesão exsudativa com área central predominantemente neutrofílica em meio a edema, congestão e exsudação de células no tecido circunjacente.
(HE - 40 X).

B) Detalhe da lesão demonstrando neutrófilos fragmentados na parte central, circundado por alguns macrófagos.
(HE - 200 X).

C) Bacilos granulosos.
IB: 4+ (Faraco - Fite - 1000 X).

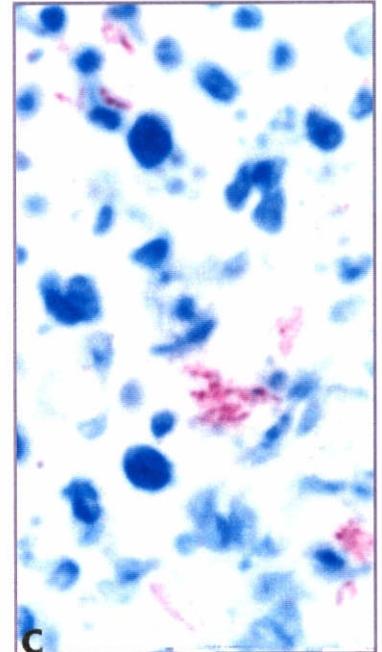
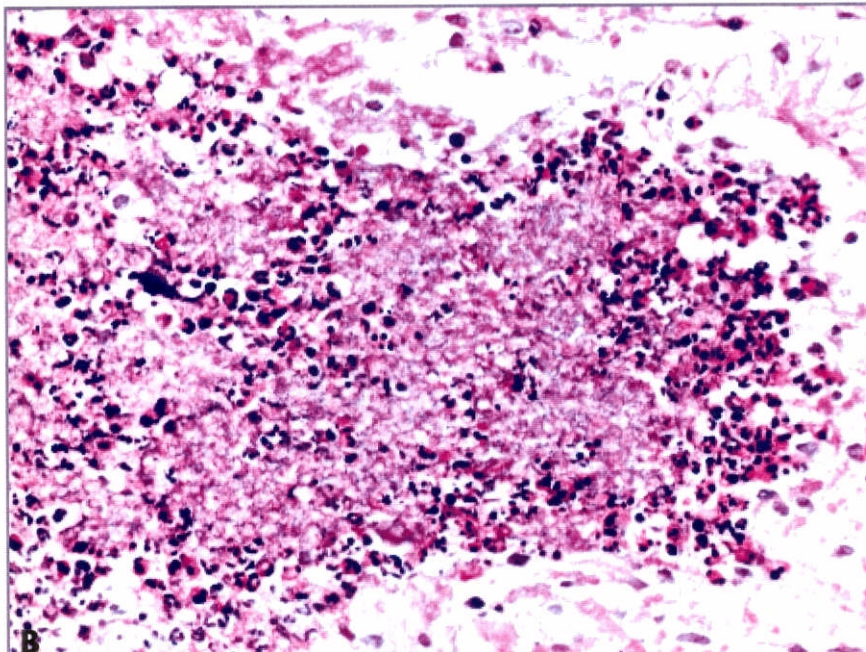
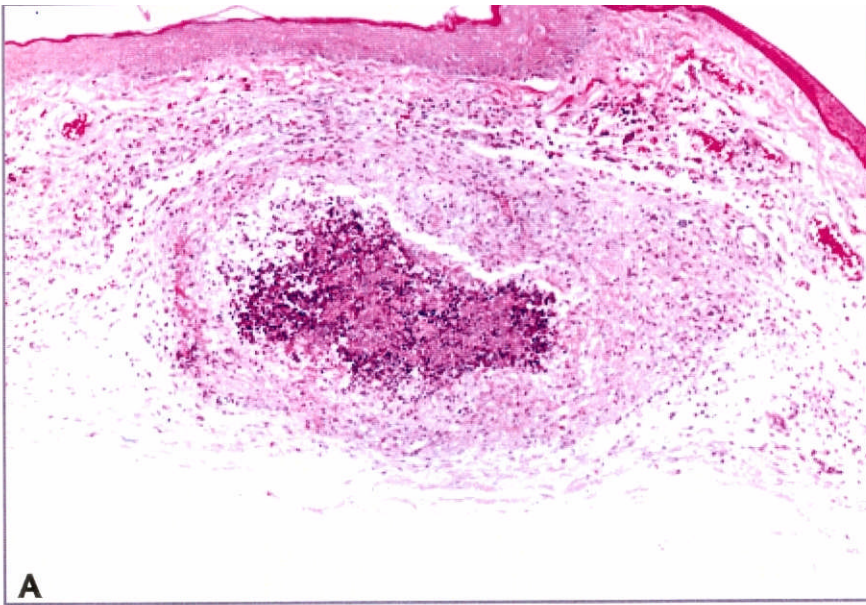


FIGURA £3 G2 - Bolsa Jugal - 7 dias - p.i

A) Granuloma macrofágico com área central supurativa.
(HE - 40 X).

B) Detalhe da lesão mostrando área central supurativa.
(HE - 200 X).

C) Bacilos granulosos.
IB: 5+ (Faraco - Fite - 1000 X).

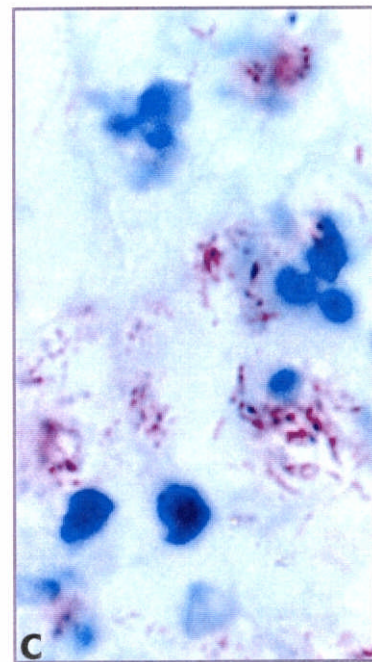
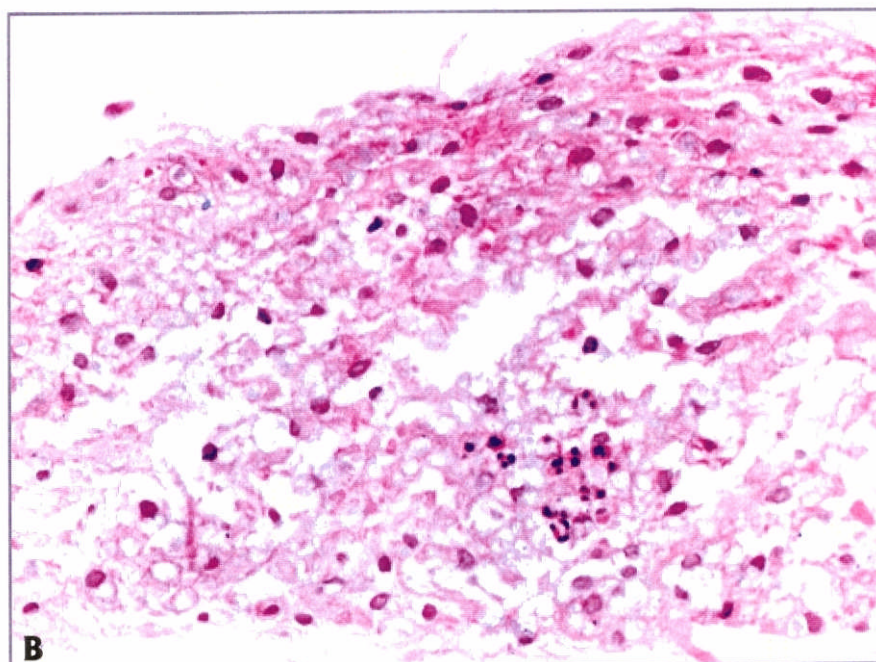
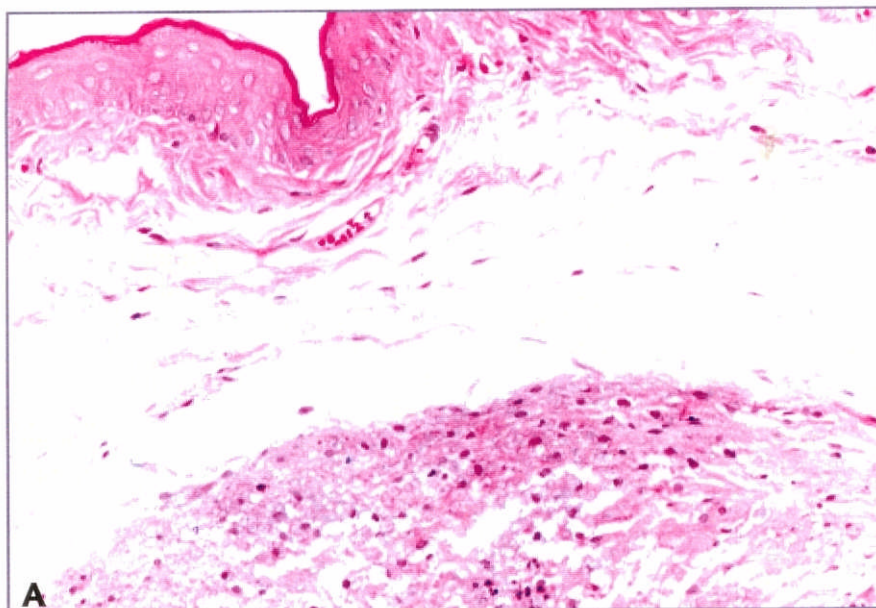


FIGURA 9. G2. - Bolsa Jugal - 14 dias - p.i

A) Granuloma macrófágico com raros neutrófilos.
(HE - 100 X).

B) Detalhe da lesão demonstrando macrófagos multivacuolados com citoplasma abundante e raros neutrófilos fragmentados no centro.
(HE - 200 X).

C) Bacilos granulosos.
IB: 5+ (Faraco - Fite - 1000 X).

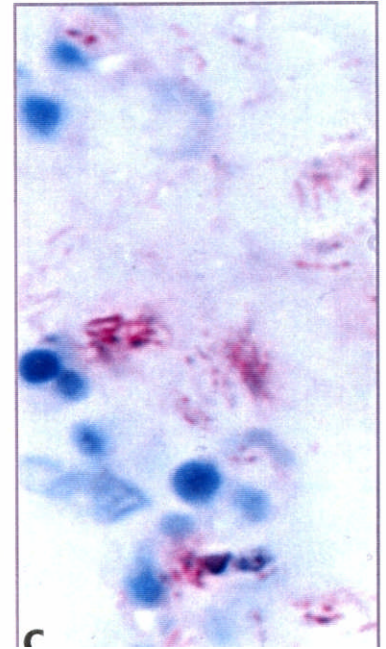
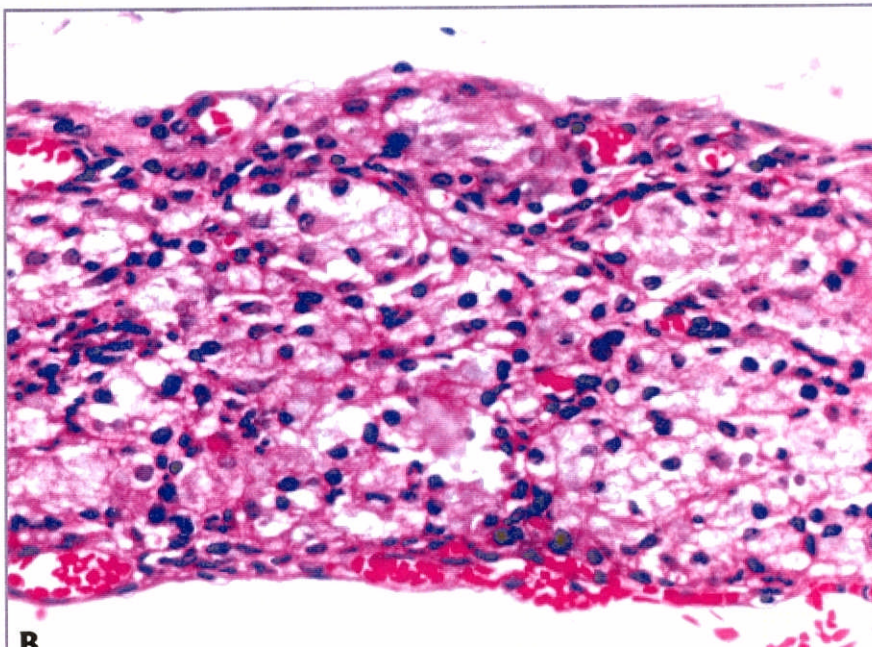
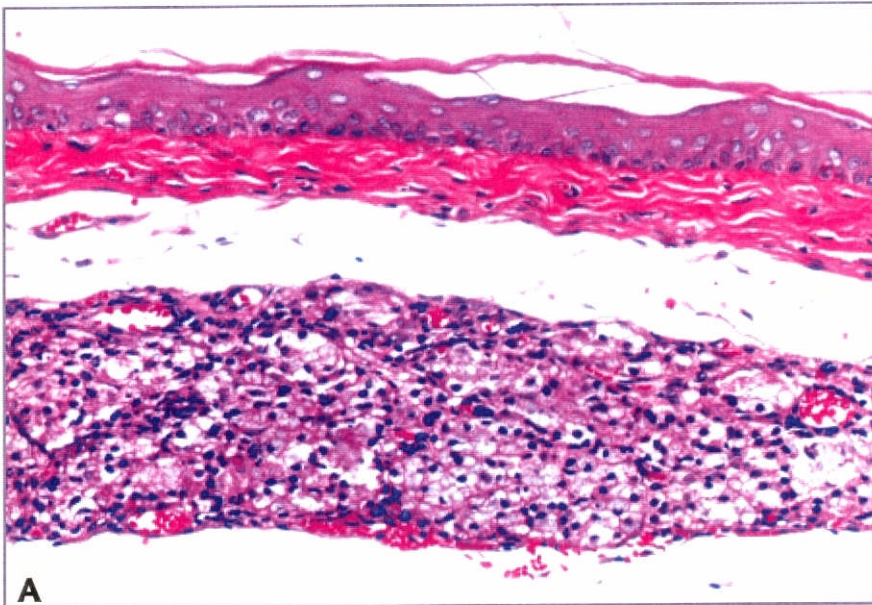


FIGURA 10. G2. - Bolsa Jugal - 21 dias - p.i

A) Granuloma macrófágico bem delimitado desprovido de neutrófilos.
(HE - 100 X).

B) Detalhe demonstrando congestão e macrófagos com citoplasma abundante.
(HE - 200 X).

C) Bacilos granulosos.
IB: 5+ (Faraco - Fite - 1000 X).

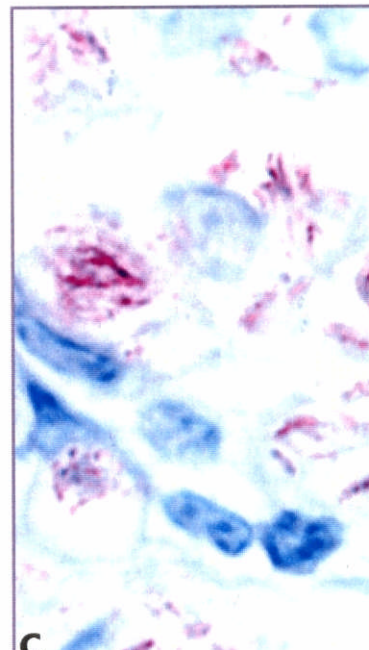
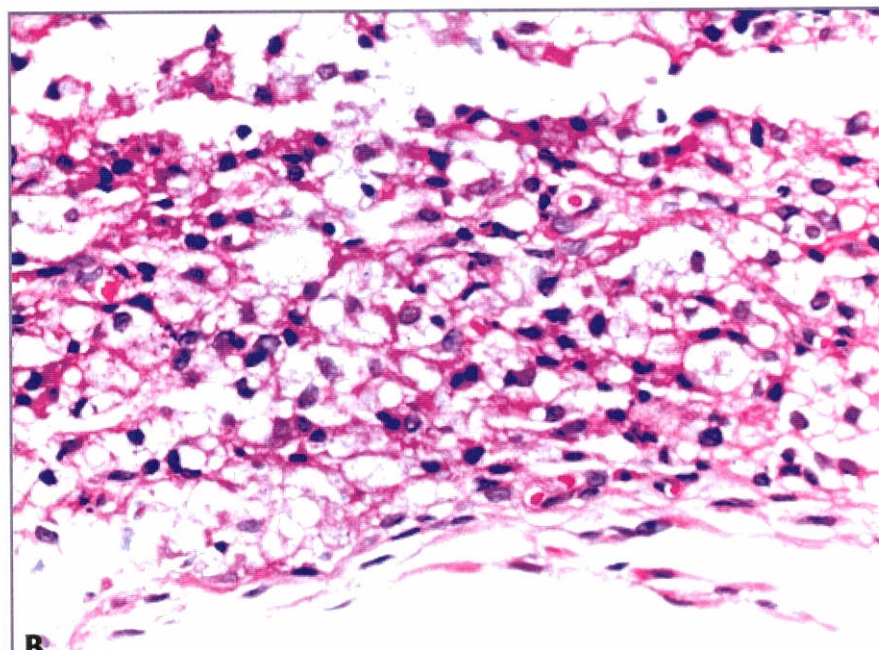
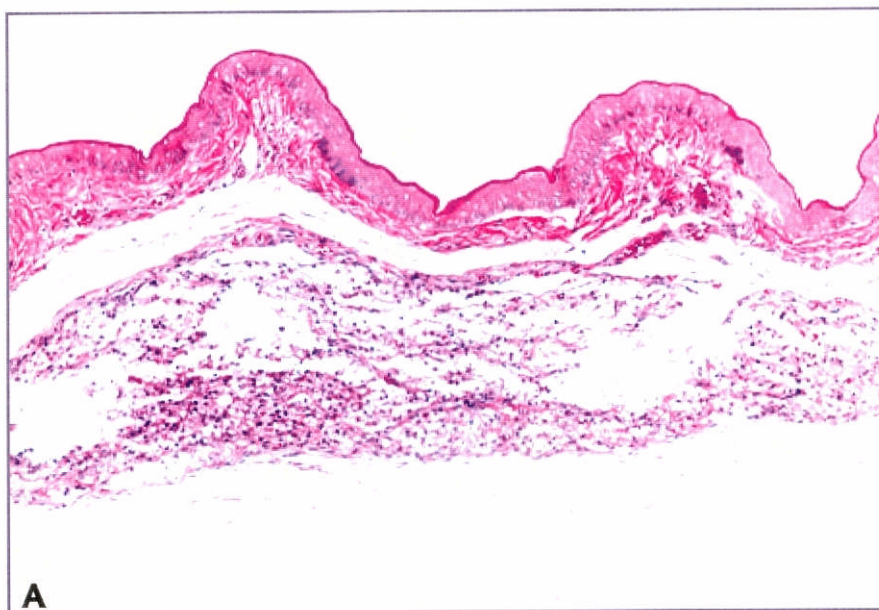


FIGURA 11. G2 - Bolsa Jugal - 28 dias - p.i

A) Granuloma macrófágico.
(HE - 40 X).

B) Detalhe mostrando macrófagos multivacuolados.
(HE - 200 X).

C) Bacilos granulosos.
IB = 6+ (Faraco - Fite - 1000 X).

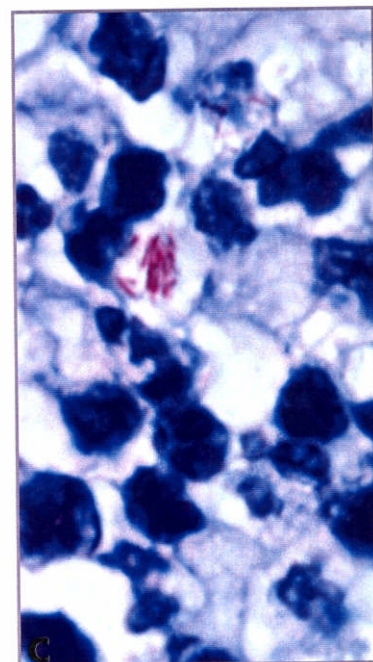
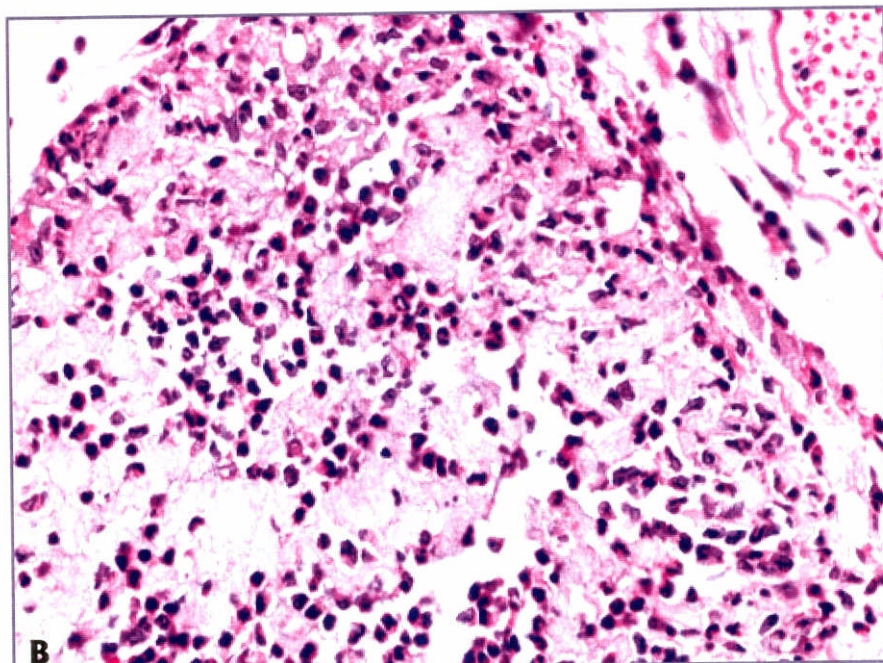
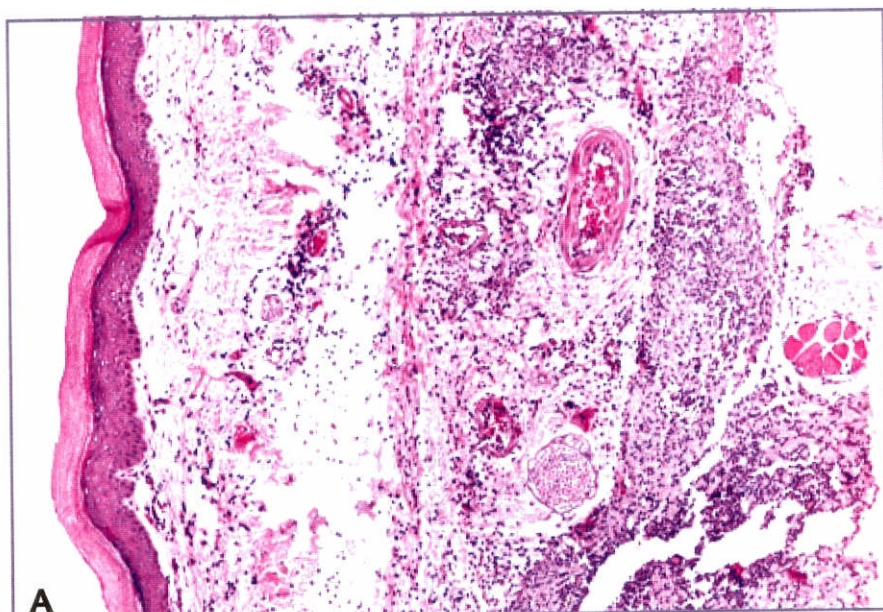


FIGURA 12. G3- Coxim Plantar - 20 h - p.i

A) Lesão exsudativa com edema e congestão circundando aglomerados de fibrina e neutrófilos. (HE - 40 X).

B) Detalhe demonstrando um aglomerado exsudativo de neutrófilos. (HE - 200 X).

C) Bacilos granulados e alguns íntegros. IB: 3+ (Faraco - Fite - 1000 X).

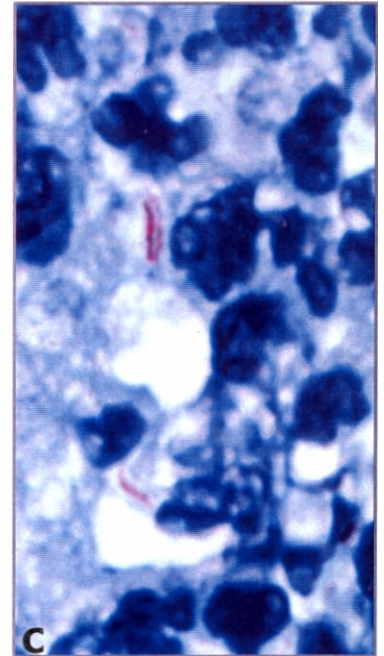
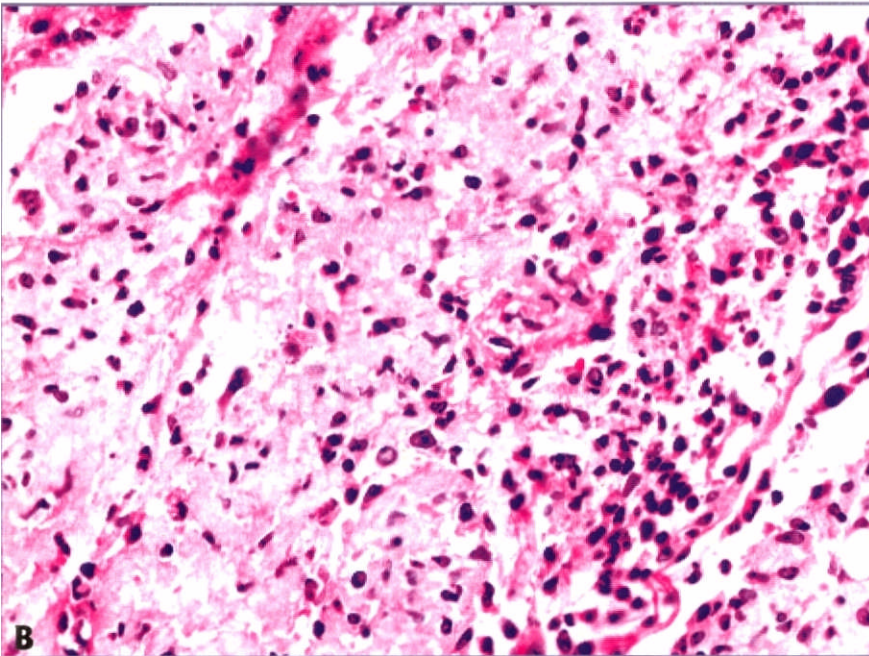
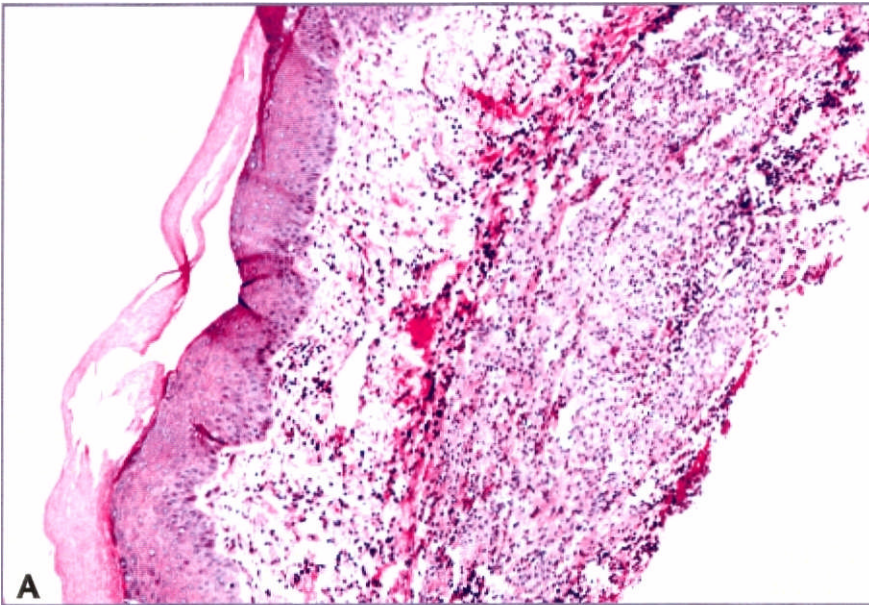


FIGURA 13. G3 - Coxim Plantar - 48 h - p.i

A) Acúmulo de macrófagos e redução acentuada de neutrófilos em meio a congestão e edema. (HE - 100 X).

B) Detalhe demonstrando o centro da lesão com macrófagos e neutrófilos fragmentados. (HE - 200 X).

C) Bacilos granulosos e alguns íntegros. IB: 3+ (Faraco - Fite - 1000 X).

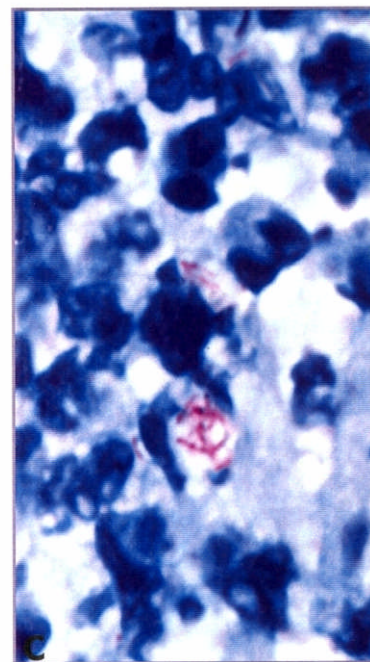
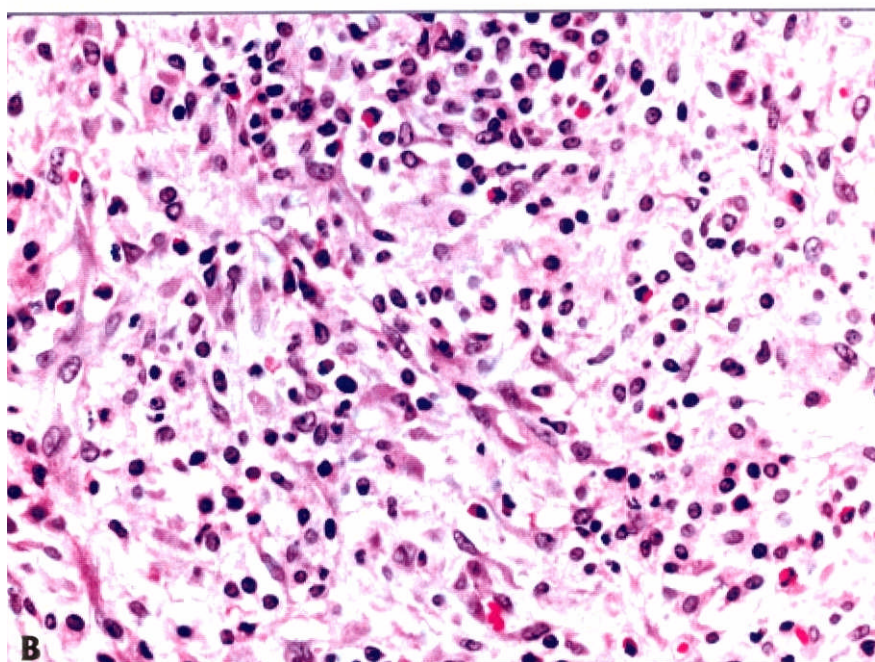
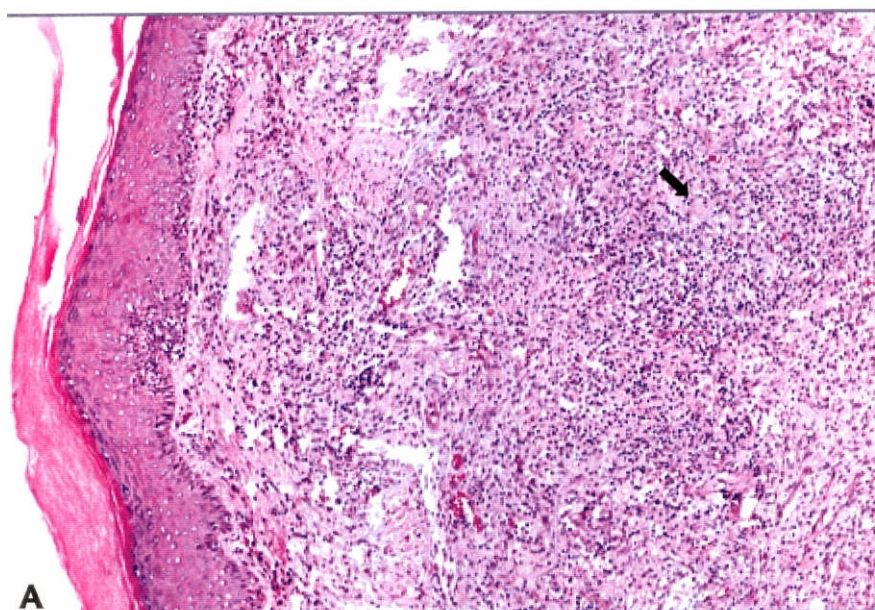


FIGURA 14. G3 - Coxim Plantar - 7 dias - p,i

A) Granuloma epitelióide com uma célula gigante multinucleada (seta), permeado por neutrófilos, linfócitos e eosinófilos.
(HE - 100 X).

B) Detalhe.
(HE - 200 X).

C) Bacilos granulosos.
IB: 4+ (Faraco - Fite - 1000 X).

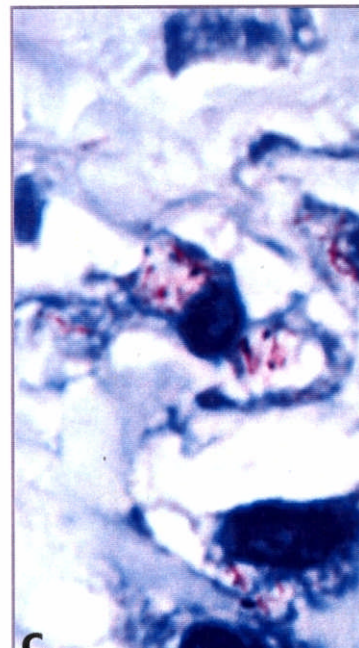
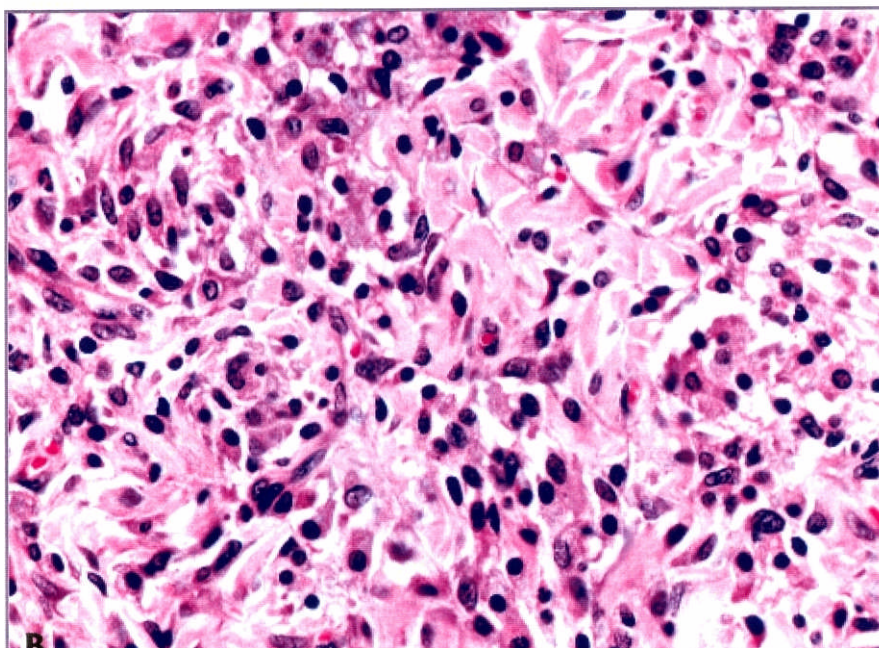
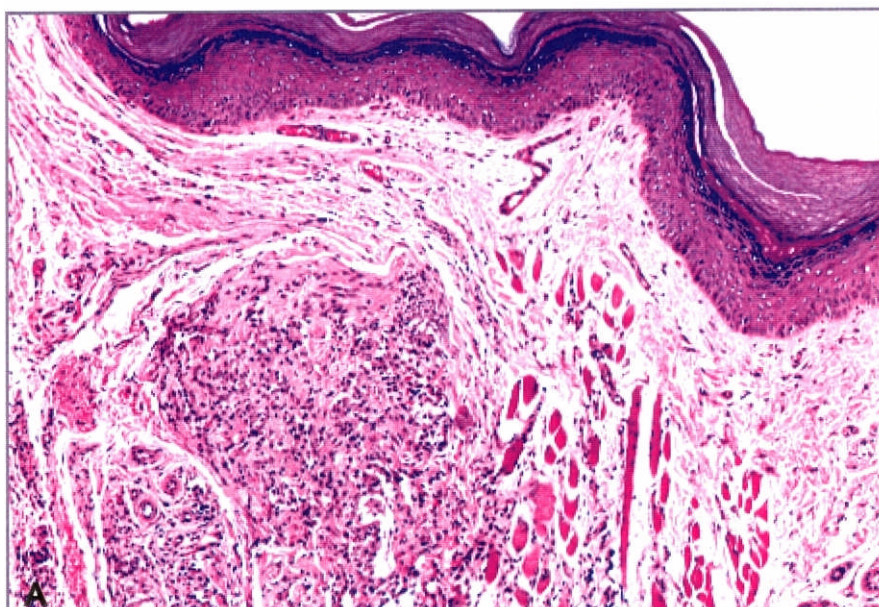


FIGURA 15. G3 - Coxim Plantar - 14 dias - p.i

A) Granuloma epitelióide delimitado, contendo linfócitos e células gigantes.
(HE - 100 X).

B) Detalhe demonstrando as células epitelióides e linfócitos.
(HE 200 X).

C) Bacilos granulosos.
IB: 4+ (Faraco - Fite - 1000 X).

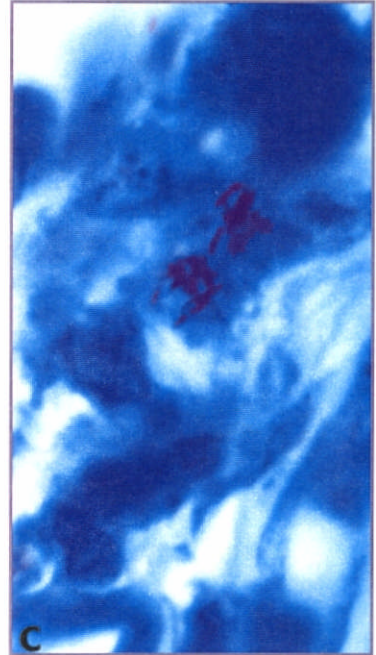
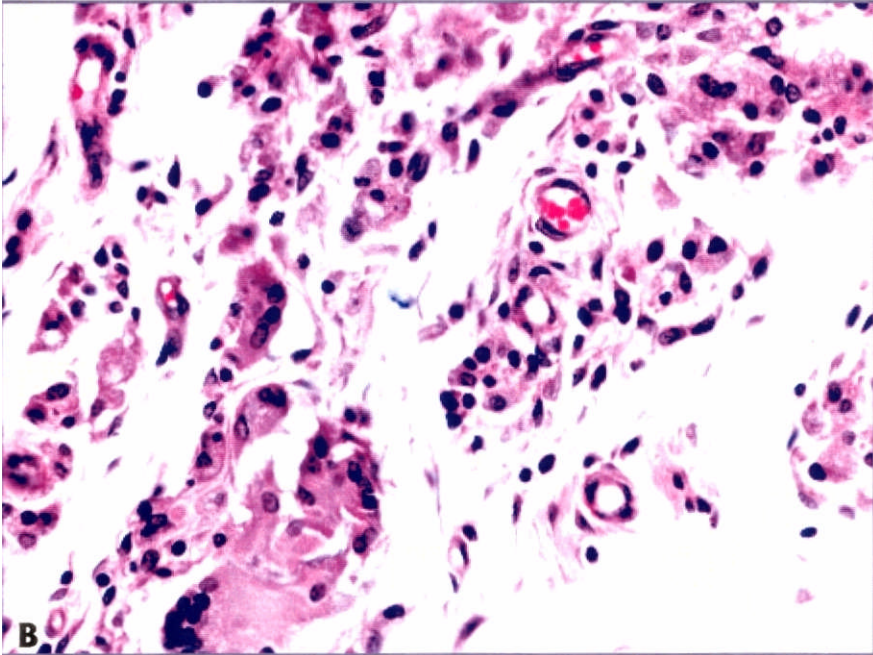
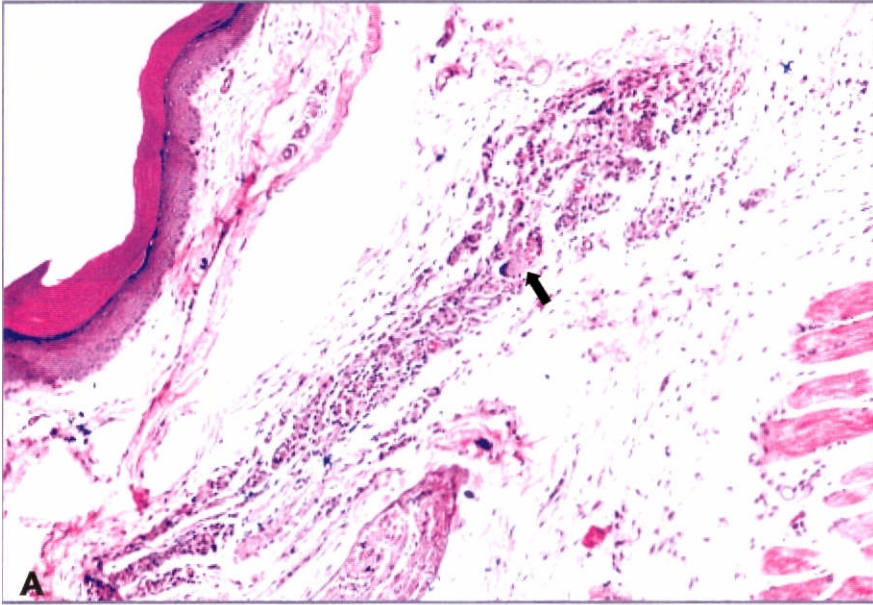


FIGURA 16. G3 - Coxim Plantar - 21 dias - p.i

A) Granuloma epitelióide pequeno com células gigantes multinucleadas (seta) e linfócitos, (HE - 40 X).

B) Detalhe da lesão demonstrando a célula gigante. (HE - 200 X).

C) Bacilos granulosos. IB: 2+ (Faraco - Fite - 1000 X).

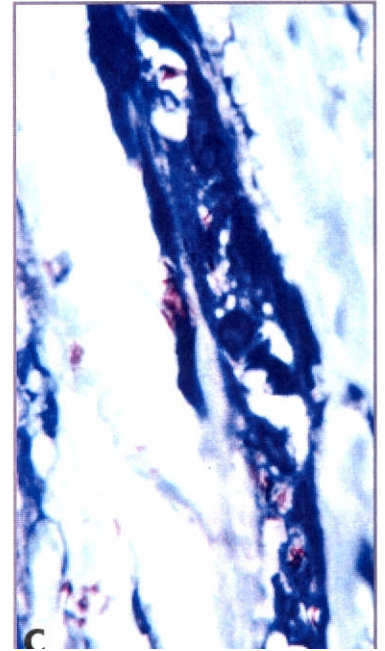
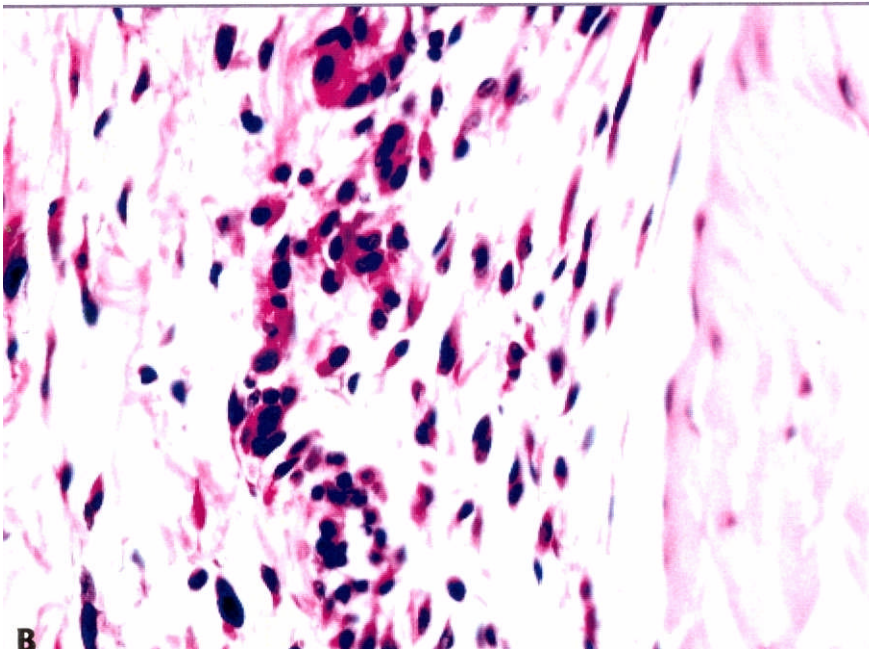
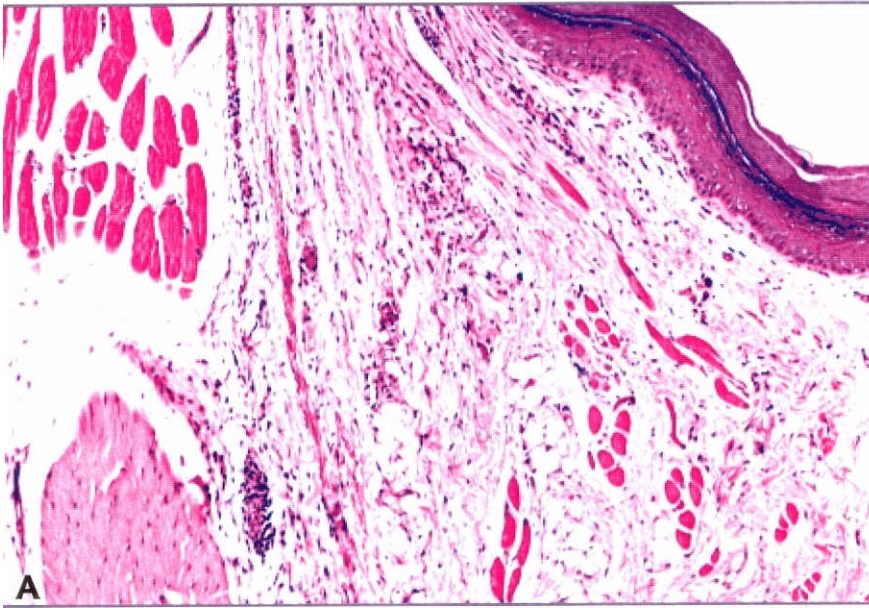


FIGURA 17. G3 - Coxim Plantar - 28 dias - p.i

A) Pequeno granuloma epitelióide, frouxo, com linfócitos e células gigantes multinucleadas.
(HE - 100 X).

B) Detalhe.
(HE -, 200 X),

C) Bacilos granulosos.
IB: 2+ (Faraco - Fite - 1000 X).

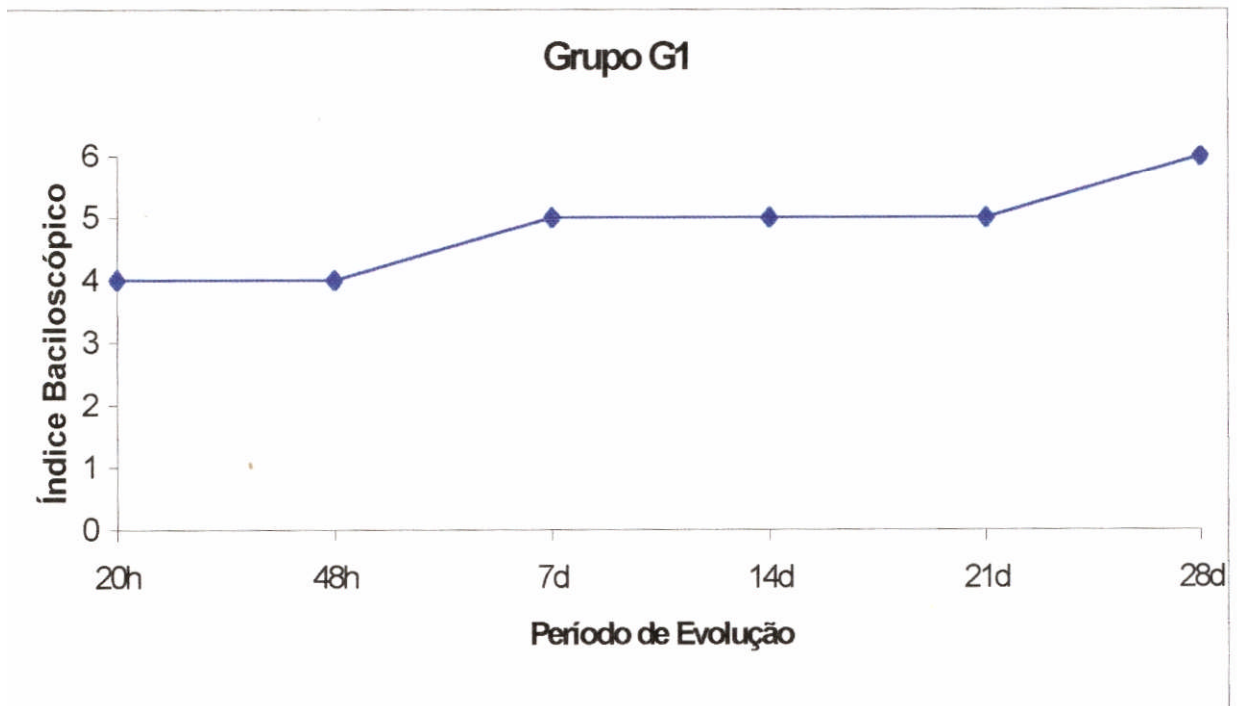


Figura 18. Correlação entre IB e tempo de evolução da inoculação do *M. leprae* na bolsa jugal do hamster - grupo G1.

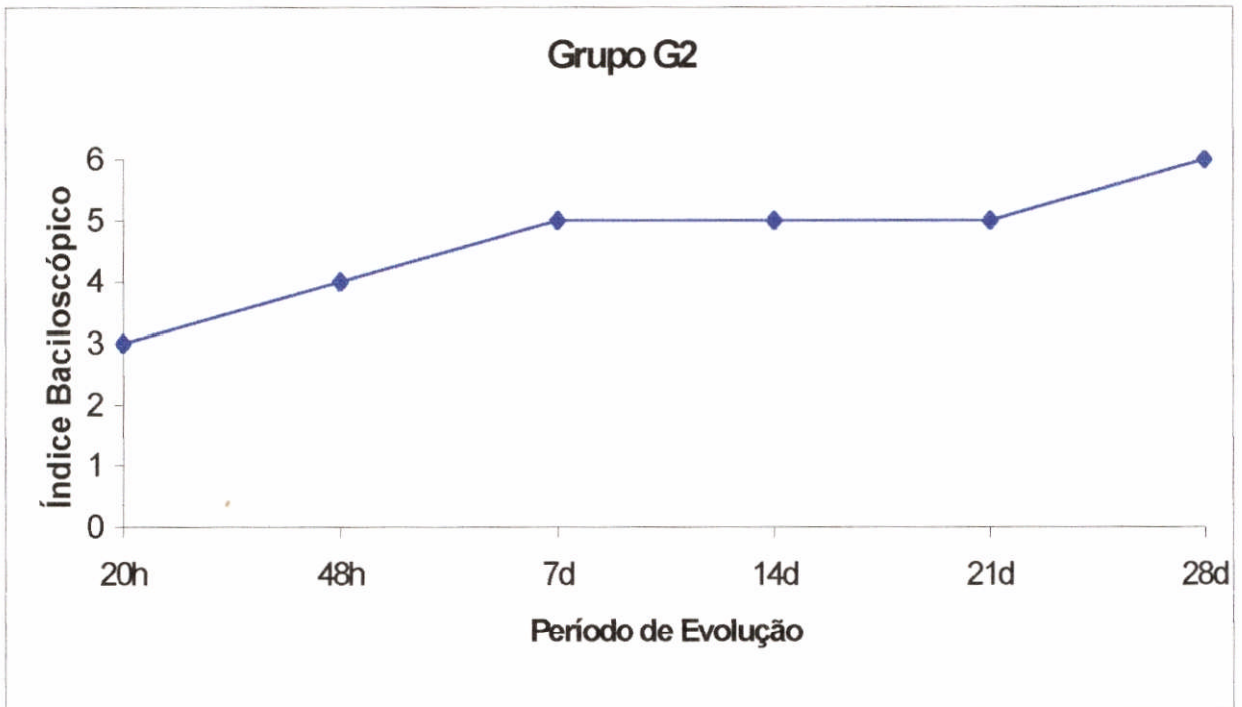


Figura 19. Correlação entre IB e tempo de evolução da inoculação do *M. leprae* na bolsa jugal do hamster - grupo G2.

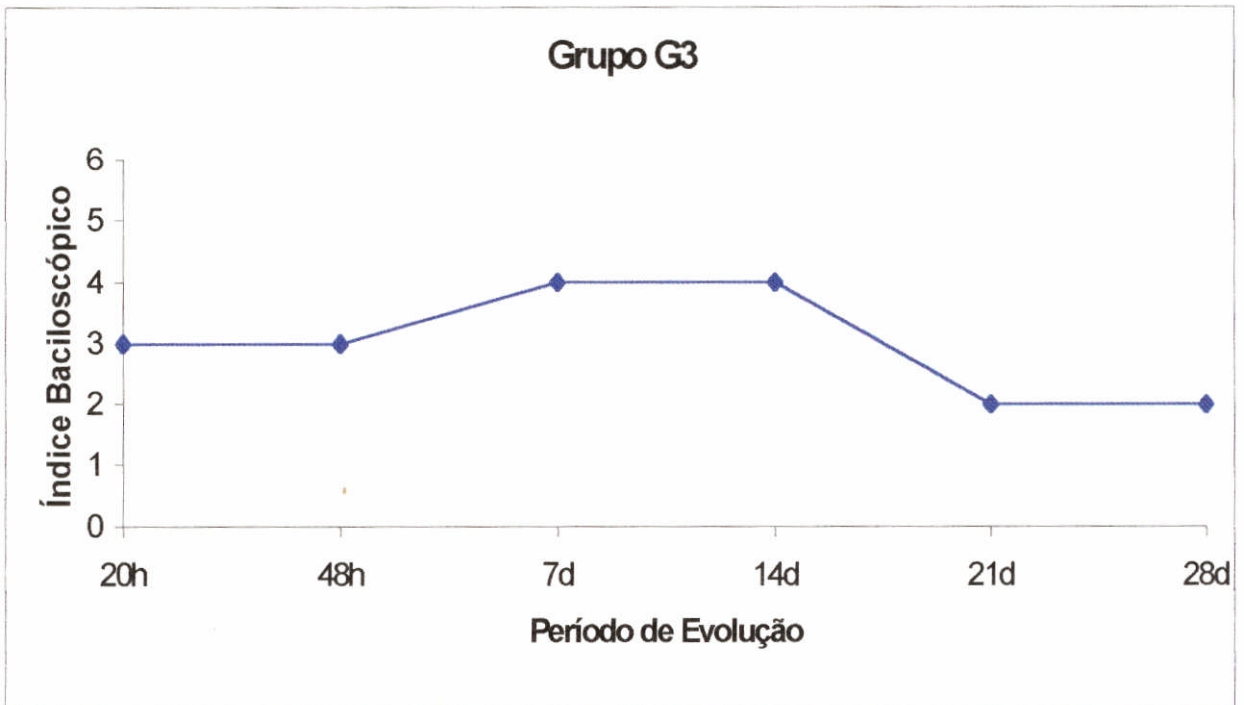


Figura 20. Correlação entre IB e tempo de evolução da inoculação do *M. leprae* no coxim plantar do hamster - grupo G3.