

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. AMOSTRA

A amostra compreendeu 40 indivíduos residentes na cidade de São Paulo, sendo 28 do sexo feminino e 12 do sexo masculino, 31 caucasóides, 3 mongolóides e 6 negróides. A idade em anos completos variou entre 15 e 69 anos (média = 37,27 e desvio padrão = 14,52).

Todos estavam em contato com doentes de hanseníase com formas bacilíferas há mais de um ano. Apresentavam bom estado geral e não referiam história atual de doenças sistêmicas. Ao exame dermatoneurológico não foram identificados sinais de hanseníase.

Dos 40 indivíduos, 25 estavam em contato familiar com doentes de hanseníase com formas bacilíferas, dos quais eram consangüíneos ou não, conforme a distribuição das tabelas A2 e A3 (Anexos 2 e 3).

Os outros 15 indivíduos estavam em contato ocupacional com doentes de hanseníase com formas bacilíferas, durante o desempenho de suas funções (servidores de diversas instituições da Secretaria de Estado da Saúde). Esse grupo de indivíduos negou parentesco consangüíneo com doentes de hanseníase conforme a distribuição da tabela A1 (Anexo 1).

3.2. ANTÍGENO E TESTE DE MITSUDA

O antígeno de Mitsuda humano utilizado, foi preparado na seção de Imunologia do Hospital Lauro de Souza Lima, Bauru, São Paulo (1 frasco de 10ml, lote 3/81, contendo $6,0 \times 10^7$ bacilos/ml), foi obtido a partir de lesões de doentes de hanseníase do tipo virchowiano, obedecendo aos critérios de segurança recomendados pela Organização Mundial da Saúde (BLOOM e col., 1979).

O antígeno foi injetado na face anteromedial do braço esquerdo, distante cerca de 12 centímetros (cm) do centro do cavo axilar em direção à extremidade. Com o auxílio de uma régua milimetrada contendo 3 orifícios alinhados, equidistantes entre si, pontuou-se com tinta lavável a região central dos orifícios extremos e a borda inferior do orifício central. Nesse ponto do orifício central fez-se a injeção intradérmica de 0,1ml do antígeno de Mitsuda com agulha 13/4,5 e seringa hipodérmica descartáveis, de modo que o antígeno formasse uma pápula no local correspondente ao orifício central. Sucessivamente, marcaram-se os dois pontos extremos com tinta nanquim, com uma agulha de pequeno calibre (PETRI, 1982). Entre 24 e 32 dias após a injeção efetuou-se a leitura clínica da reação tardia e a biópsia dos 40 indivíduos.

Nos indivíduos com resposta negativa e duvidosa o ponto central da reação foi delimitado antes das leituras com o auxílio da régua usada por ocasião da injeção do antígeno.

Após a leitura clínica da reação foi feita assepsia local com timerosol incolor a 10% e anestesia local com xilocaína a 1%.

As biópsias foram realizadas com punche¹ de no mínimo 5mm de diâmetro. Os espécimes excisados foram colocados sobre superfície lisa e seccionados ao meio com lamina de barbear.

Metade do fragmento foi fixado em FMA² e transferida após 2 horas para uma solução de álcool etílico a 70%. A outra metade foi fixada em formalina neutra³ (RIDLEY, 1977). Os espécimes fixados pelo FMA foram corados pela hematoxilina-eosina (HE), enquanto aqueles fixados pela formalina foram corados pelo Fite-Faraco (FAROCO, 1938; FITE e col., 1947). Todos os fragmentos foram processados no laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Lauro de Souza Lima, Bauru.

1 punche a um instrumento cirúrgico cortante de diâmetros variáveis utilizado para extrair fragmentos cilíndricos de pele e tecido celular subcutâneo.

2 FMA

Formaldeído (40%)	100ml
Mercúrio clorídrico	20g
Ácido acético glacial	30ml
Água destilada para	1000ml

3 Formalina neutra

Formaldeído (40%)	100,0ml
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	3,5g
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	6,5g
Água destilada	900,0ml

3.3. CRITÉRIOS DE CLASSIFICAÇÃO DAS LEITURAS CLÍNICA E HISTOLÓGICA DA REAÇÃO DE MITSUDA

A leitura Clínica (em milímetros) foi expressa nas tabelas A1, A2 e A3 (Anexos 1,2 e 3) conforme os critérios de classificação relatados no quadro a seguir:

QUADRO 1. Critérios de classificação da leitura clínica da reação de Mitsuda^a

Classes	Leitura clínica da reação de Mitsuda
-	ausência de resposta
+ -	infiltração com diâmetro inferior a 3mm
+	pápula com diâmetro entre 3 e 5mm
+ +	pápula com diâmetro superior a 5mm e menor ou igual a 10mm
+ + +	pápula com diâmetro superior a 10mm ou ulcerada

^aOrganização Mundial da Saúde (OMS, 1980).

A leitura histológica, expressa nas tabelas A4, A5 e A6 (Anexos 4, 5 e 6), obedeceu aos critérios do quadro a seguir.

QUADRO 2. Critérios de classificação da leitura histológica da reação de Mitsuda ^a

Classes	Leitura histológica da reação de Mitsuda
-	ausência de resposta ou reação inflamatória crônica inespecífica ou reação inflamatória crônica granulomatosa não tuberculóide
+	reação inflamatória crônica granulomatosa tuberculóide em área menor que 0,5 da derme
+ +	reação inflamatória crônica granulomatosa tuberculóide em área de 0,5 a 0,75 da derme
+ + +	reação inflamatória crônica granulomatosa tuberculóide em área maior que 0,75 da derme

^a Sugeridos por Fleury, R.N. (1987).

3.4. MÉTODO ESTATÍSTICO

A análise estatística foi realizada para avaliar a significância das associações entre as variáveis estudadas. Tal análise restringiu-se a testes de independência pelo teste exato de Fisher (SIEGEL, 1975). O

nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade foi sempre igual a 0,05 (5%).