

INTRADERMORREAÇÕES COM ANTÍGENO DE
CULTURAS DE *LEISHMANIA BRAZILIENSIS*
SUBMETIDAS À AÇÃO DO ULTRA-SOM:
RESULTADOS OBTIDOS (*)

MARCELO O. A. CORRÊA (**)

VICENTE AMATO NETO (***)

A utilização da injeção intradérmica de “extrato alcalino” de leptomonas oriundas de cultivos de *Leishmania braziliensis*, como prova diagnóstica da leishmaniose tegumentar americana, deve-se a MONTENEGRO, que publicou seus resultados em 1926, quando já os realizara em 1924. Estudos posteriores, efetuados por ROTBERG (1952), vieram demonstrar que os referidos “extratos alcalinos”, obtidos pela extração de uma suspensão de leptomonas pelo líquido de Coca, deviam a sua ação alergênica específica à presença de leptomonas íntegras ou parcialmente desintegradas em suspensão no extrato e não a qualquer princípio solúvel aí existente.

Em outras palavras, o “extrato alcalino”, utilizado por Montenegro, funcionou como alérgeno desencadeante da intradermorreação, por ser uma suspensão de leptomonas, mais fraca é verdade do que a utilizada por Buss (1929), com três milhões de leptomonas por cm^3 , ou por Gomes (1939), com um milhão de leptomonas por cm^3 .

Pessôa e Pestana introduziram a reação de Montenegro como prova diagnóstica em larga escala, nos estudos realizados em 1940 e 1941 pela Comissão de Estudos da Leishmaniose, utilizando suspensão de dois a cinco milhões de leptomonas por cm^3 , cuja técnica de preparo foi minuciosamente descrita por Corrêa (1941).

(*) Trabalho da Seção de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz (Laboratório Central de Saúde Pública).

(**) Chefe da Seção de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz.

(***) Médico da Seção de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz.

Recebido para publicação em 24 de outubro de 1957.

ROTBURG (1952) efetuou uma série de interessantes estudos referentes à intradermorreação de Montenegro, demonstrando que os antígenos tipo Jessner-Buss e o "extrato alcalino" de Montenegro devem seu poder alergênico à presença de leptomonas íntegras ou parcialmente desintegradas, isto é, a restos somáticos de leptomonas. Preparou, outrossim, um hidrolisado sem restos somáticos, o qual apresentou poder antigênico.

Em 1953 preparamos nova modalidade de antígeno, submetendo suspensões de leptomonas de *L. braziliensis* à ação desintegradora do ultra-som; na presente nota relatamos os resultados obtidos, em parte já apresentados ao II Congresso Médico Regional da Associação Paulista de Medicina, levado a efeito em São José do Rio Preto, Estado de São Paulo, em maio de 1954.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo do antígeno — Retirado o sedimento de cultivos de *L. braziliensis* em meio de Rugai, foram as leptomonas lavadas em solução fisiológica e suspensas na proporção de dois milhões por cm³, sendo a contagem feita pela técnica adequada. A suspensão foi submetida à ação dos ultra-sons, sendo a frequência de 800 quilociclos, o consumo de energia de cerca de 30 watts e de 20 minutos o tempo de exposição. Examinada novamente ao microscópio, não se constatou qualquer leptomona ou qualquer fragmento visível, notando-se apenas a presença de pequenos grânulos de cerca de um micron, brilhantes ao exame. Foi adicionado mertiolato a 1:1000. Antes de sua utilização, foram praticados contrôles de esterilidade. O aparelho gerador de ultra-sons utilizado pertence ao Serviço de Fisioterapia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, dirigido pelo dr. Waldo Rolim de Moraes, a quem consignamos os nossos agradecimentos.

Crítério de leitura — Foi adotado o critério seguido por PESSOA e BARRETTO (1944), resumido a seguir: a) reações fortemente positivas, com formação de pústulas, vesículas ou pápula cercada de forte área infiltrada, são designadas por quatro cruces (++++); b) reações bem positivas, com pápula persistente, cercada de regular área inflamatória, são designadas por três cruces (+++); c) reações positivas, cuja pápula persiste por mais de 72 horas com medíocre zona de infiltração, são designadas por duas cruces (++) ; d) reações fracamente positivas, nas quais a pápula é perceptível

apenas pelo tacto, com zona rubra não evidente ou que desaparece antes de 72 horas, são designadas por uma cruz (+).

As provas foram efetuadas em 18 doentes da Clínica Dermatológica ou da Clínica de Doenças Tropicais e Infetuosas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (casos de leishmaniose tegumentar americana e grupo testemunho). Estes 18 casos de leishmaniose tegumentar americana foram devidamente comprovados pelo exame parasitológico ou histopatológico de fragmento de lesão. O grupo testemunho compunha-se de dois pacientes com complicação nervosa de vacinação anti-rábica, dois com leishmaniose visceral, dois com moléstia de Hodgkin, dois com febre reumática e quatro indivíduos normais.

RESULTADOS

Em todos os pacientes com leishmaniose tegumentar americana, a intradermorreação, lida com 48-72 horas, foi positiva, sendo de quatro cruces a intensidade em dez casos, de três cruces em quatro, de duas cruces em três e fracamente positiva (uma cruz) em apenas um caso. A evolução da reação cutânea foi seguida durante período mínimo de sete dias.

No grupo testemunho a intradermorreação foi negativa; em um indivíduo normal a prova resultou levemente positiva (uma cruz), o que, aliás, pode ocorrer com a utilização de outros antígenos, sendo valiosa para a interpretação a consideração de outros dados relativos ao caso em questão.

O antígeno conservado em geladeira mostrou ter mantido plenamente seu poder antigênico até, pelo menos, depois de dois anos, última ocasião em que foi testado.

O interesse prático deste novo método de preparo do antígeno reside em sua rapidez de obtenção, simplicidade técnica e homogeneidade do produto resultante.

RESUMO

Os autores relatam os resultados conseguidos com antígeno obtido por fragmentação de culturas de *Leishmania braziliensis* pela ação do ultra-som, aplicado à prova diagnóstica da intradermorreação no homem.

Uma suspensão de dois milhões de leptomonas por cm^3 foi submetida à ação do ultra-som, sendo a frequência de 800 quilociclos, o consumo de energia de cerca de 30 watts e de 20 minutos o tempo de exposição.

A intradermorreação foi efetuada em 18 doentes com leishmaniose tegumentar americana (diagnóstico parasitológico ou histopatológico), sendo positiva em todos, com a intensidade de quatro cruces em dez casos, de três cruces em quatro, de duas cruces em três e fracamente positiva (uma cruz) em um caso. Em 12 indivíduos normais ou portadores de outras afecções, a reação foi negativa, com exceção de um indivíduo normal, em quem foi fracamente positiva (uma cruz).

A longevidade do antígeno é maior que dois anos. O interesse prático dêste novo método de preparo do antígeno reside na sua simplicidade, rapidez e homogeneidade do produto obtido.

SUMMARY

The authors performed the intradermal test for cutaneous leishmaniasis in 18 cases with parasitologic or histopathologic diagnosis. The antigen employed was obtained by ultrasonic disintegration of *Leishmania braziliensis* cultures. Suspensions containing two millions leptomonas per ml were subjected to a frequency of 800 kilocycles for 20 minutes with an energy consumption of 30 watts. The intradermal test was positive in all 18 cases. In four, the test result was 4+, 3+ in 4 others, 2+ in 3 cases and 1+ in the remaining case. In 11 out of 12 subjects with other diseases or just normal, the test was negative. In one normal individual, the test result was 1+.

The antigen preparation technic reported here is simple, rapid and yields a homogeneous preparation. Antigen preparations are still active after two years.

BIBLIOGRAFIA

MONTENEGRO, J. — 1926 — A cutis-reação na leishmaniose. *Ann. Fac. Med. S. Paulo.* 1: 323-330.

PESSÔA, S. B. e M. P. BARRETTO — Leishmaniose tegumentar americana. Ministério da Educação e Saúde, Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, 1948. 527 pp.

ROTBURG, A. — 1952 — Contribuição para o estudo da alergia na leishmaniose tegumentar americana. *Rev. Hosp. N. S. Aparecida* 5: 3-88.