

## LEITURA CLÍNICA E HISTOLÓGICA DA REAÇÃO DE MITSUDA EM COMUNICANTES CONSANGUÍNEOS E NÃO CONSANGUÍNEOS DE PACIENTES COM FORMAS BACILIFERAS DA HANSENÍASE

Maria Angela Blancooncini TRINDADE \*

Raul Negrão FLEURY \*\*

Valéria PETRI \*\*\*

**RESUMO** - Testes de Mitsuda avaliados clínica e histologicamente foram realizados em 17 consanguíneos próximos e em 23 não consanguíneos que eram comunicantes sadios de pacientes com as formas bacilíferas da hanseníase. A proporção de reações histologicamente negativas entre os comunicantes consanguíneos (35,3%) foi significativamente maior do que a observada entre os comunicantes não consanguíneos (8,7%). Reações de Mitsuda clinicamente positivas (3) e duvidosas (1) sem correspondência histológica foram encontradas entre os comunicantes consanguíneos, mas não entre os comunicantes não consanguíneos de hansenianos. Esses dados indicam que uma reação de Mitsuda positiva somente pode ser atribuída a comunicantes consanguíneos de pacientes com as formas bacilíferas da hanseníase se ela tiver comprovação histológica.

**Palavras chave:** Hanseníase. Reação de Mitsuda. Histologia.

### 1. INTRODUÇÃO

A reação tardia à inoculação intradérmica do antígeno de Mitsuda, ou reação de Mitsuda, é o resultado dos eventos que sucedem a fagocitose dos bacilos mortos, contidos nesse antígeno, pelos histiocitos (macrófagos) da pele. Quando os macrófagos são capazes de destruir esses bacilos em até cerca de quatro semanas, a reação de Mitsuda é dita histologicamente positiva, podendo essa positividade ser expressa clinicamente por intermédio de uma infiltração, púrpura ou nódulo, o qual, às vezes, pode estar ulcerado. Nem sempre, porém, a positividade clínica tem correspondência histológica, isto é, a inoculação do antígeno de Mitsuda pode

provocar o aparecimento de uma púrpura ou nódulo cuja biópsia revela, no entanto, histiocitos contendo grande número de bacilos álcool-ácido-resistentes, o que caracteriza reação histologicamente negativa. Por outro lado, já se demonstrou a existência de respostas clinicamente negativas ao antígeno de Mitsuda que se revelaram positivas a nível microscópico (V. Petri et al. 18).

As pesquisas sobre a associação entre a avaliação clínica e a leitura microscópica da reação de Mitsuda têm importância fundamental, pois somente as respostas histologicamente positivas são garantia de não manifestação da hanseníase do tipo virchoviano. Em uma grande amostra de indivíduos sadios adultos (100

(\*) Médica da Divisão de Hansenologia e Dermatologia Sanitária do Instituto de Saúde, São Paulo, SP.

(\*\*) Pesquisador do Instituto Lauro de Souza Uma Bauru, SP.

(\*\*\*) Professora Adjunta da Escola Paulista de Medicina - São Paulo, SP.

Endereço: Instituto Lauro de Souza Uma - Rod. Bauru-Jati Km 115, Caixa Postal 62 - CEP 17001- Bauru, SP

homens), não aparentados entre si nem com hansenianos e sem história de contatos com tais doentes, V. Petri, et al.<sup>18</sup> verificaram que todos aqueles com reação de Mitsuda clinicamente positiva (77) ou duvidosa (19) apresentavam respostas histologicamente positivas.

As observações de V. Petri, et al.<sup>18</sup> causaram grande impacto porque, até então, todos os estudos a respeito da histologia da reação de Mitsuda haviam sido feitos somente em hansenianos ou em seus comunicantes (para referências vide V. Petri, et al.<sup>18,1985</sup>) aceitando-se, indevidamente que tanto os comunicantes sadios quanto os não-comunicantes de hansenianos se comportariam da mesma forma face à inoculação do antígeno de Mitsuda. Assim, acreditava-se que uma reação de Mitsuda clinicamente duvidosa apresentaria mais provavelmente histologia negativa, e que, por sua vez, seria apreciável o número de respostas clinicamente positivas com negatividade histológica. Com base, por exemplo, nos dados de LM. Bechelli, et al.<sup>3</sup> podia-se estimar que uma reação de Mitsuda clinicamente duvidosa teria 57% de probabilidade de ser histologicamente negativa e que uma reação positiva teria 19% de probabilidade de não ter correspondência histológica.

Os resultados apresentados por V. Petri, et al.<sup>18</sup> passaram a exigir, pois, um novo enfoque no estudo histológico da reação de Mitsuda em comunicantes de hansenianos, porque os poucos pesquisadores que estudaram esses indivíduos (LM. Bechelli, et al.<sup>3</sup>; R.D. Azulay, et al.<sup>2</sup>; L.M.C. Andrade,<sup>1</sup>) não analisaram separadamente os comunicantes que eram parentes consanguíneos de hansenianos com as formas bacilíferas dessa doença. Essa distinção entre os comunicantes de hansenianos tem fundamento lógico pois, atualmente, existem indicações de que os parentes consanguíneos sadios dos doentes do tipo virchoviano seriam geneticamente propensos a incluir maior proporção de indivíduos com macrófagos incapazes de destruir o *M. leprae* fagocitado do que os não consanguíneos desses pacientes. Essas indicações são as seguintes:

1. o caráter familiar da reação de Mitsuda já foi demonstrado em amostras de pessoas sadias (B. Beiguelman, 6.10; B. Beiguelman & R.

Quagliato,<sup>8</sup>; S.K. Kundu, et al.<sup>16</sup>) e em famílias de hansenianos (B. Beiguelman,<sup>9</sup>, K. Saha, & S.K. Agarwal,<sup>19</sup>), podendo essa distribuição admitir que as respostas negativas ao antígeno de Mitsuda dependem de um componente genético recessivo autossômico;

2. em crianças calmetizadas com menos de 3 anos de idade, a proporção de respostas fortes ao antígeno de Mitsuda, naquelas cujos genitores tinham hanseníase virchoviana, foi significativamente menor do que nos filhos de casais sadios (B. Beiguelman et al.<sup>7</sup>);

3. em comunicantes de pacientes com hanseníase virchoviana a probabilidade de manifestação desse tipo de hanseníase, que incluíre as suas características a negatividade ao antígeno de Mitsuda, depende da consanguinidade existente entre os comunicantes e os focos virchovianos (B. Beiguelman<sup>5,6</sup>).

Se entre os comunicantes consanguíneos de pacientes com as formas bacilíferas da hanseníase existir, de fato, maior proporção de indivíduos com macrófagos geneticamente incapazes de destruir o *M. leprae* fagocitado, a probabilidade de aparecimento, entre eles, de reações de Mitsuda macroscopicamente positivas sem correspondência histológica deverá estar aumentada. Isso porque todos os comunicantes estão mais expostos não apenas a inoculações repetidas de antígeno de Mitsuda, mas, também, à vacinação pelo BCG, o qual pode provocar, experimentalmente, reação de Mitsuda clinicamente positiva com histologia negativa (W.A. Hadler & L.M. Ziti<sup>15</sup>). O objetivo do presente trabalho foi por prova essa hipótese, que havia sido aventada anteriormente por B. Beiguelman<sup>9</sup>.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 40 indivíduos (28 mulheres e 12 homens) com idades que variaram entre 15 e 69 anos completos (média de 32,27 anos e desvio padrão de 14,52 anos). Todos eram comunicantes, hi mais de um ano, de hansenianos que manifestavam as formas bacilíferas da doença. Dentre esses indivíduos 25 mantinham contato familiar (17 parentes

consanguíneos e 8 parentes afins) e 15 contato ocupacional, sem história de parentesco com hansenianos. Os 40 indivíduos estudados compuseram, pois, duas amostras, uma de 17 consanguíneos e outra de 23 lido consanguíneos de hansenianos.

Nos comunicantes não consanguíneos de hansenianos (19 mulheres e 4 homens) houve predominância de caucásios (17), sendo poucos os negros (4) ou mongolóides (2). Dentre esses comunicantes, os 8 com parentesco afim com hansenianos eram cônjuges de pacientes virchovianos (4) ou dimorfos (4). Entre os comunicantes consanguíneos (8 homens e 9 mulheres) também houve poucos negros (2) e mongolóides (1), sendo a maioria composta de indivíduos caucásios (14). Quase todos (15) apresentavam consanguinidade muito próxima com hansenianos, pois eram filhos, irmãos ou genitores de pacientes virchovianos (9) ou dimorfos (8).

O antígeno de Mitsuda humano foi preparado no Hospital Lauro de Souza Lima (Bauru, SP, Brasil) a partir de nódulos de pacientes com hanseníase virchoviana, segundo os critérios preconizados pela Organização Mundial de Saúde (B.R. Bloom et al.<sup>11</sup>). Em cada indivíduo examinado injetou-se intradermicamente, com o auxílio de seringa hipodérmica e agulha descartável 13/4,5, 0,1 ml desse antígeno na face fintero-medial do braço esquerdo, em uma Área que permitia posteriormente sua localização por intermédio de uma tatuagem puntiforme previamente assinalada (V. Petri et al.<sup>18</sup>).

As respostas clínicas à inoculação do antígeno de Mitsuda foram classificadas de acordo com as recomendações da Organização Mundial da Saúde (1980) e, depois de Was, foram biópsadas com o emprego de um "punch" com 5mm de diâmetro. Os fragmentos assim

obtidos foram seccionados ao meio para que metade fosse fixada em FMA (100 ml de formol a 40%, 209 de cloreto de mercúrio, 30 ml de ácido acético glacial e Água destilada q.s.p. 1.000 ml). A outra metade foi fixada em formalina neutra (100 ml de formaldeído a 40%, 3,5 g e NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O, 6,5g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12 H<sub>2</sub>O e água destilada q.s.p. 1.000 ml). Os cortes resultantes da metade fixada com FMA foram corados com hematoxilina-eosina, enquanto que os derivados da metade fixada em formalina neutra foram corados pelo método de Fite-Faraco (J. Faraco<sup>12</sup>; G.L Fite et al.<sup>13</sup>).

A classificação das reações do antígeno de Mitsuda analisadas microscopicamente foi feita segundo os critérios sugeridos por R.N. Fleury<sup>14</sup>, os quais são os seguintes:

**reação negativa:** ausência de resposta ou reação inflamatória crônica inespecífica ou reação inflamatória crônica granulomatosa não tuberculóide;

**reação positiva:** reação inflamatória crônica granulomatosa tuberculada na derme, com graus crescentes variando de 1- a +++, dependendo da fração ocupada pelo granuloma no derma (Ridley).

### 3. RESULTADOS

Os resultados das leituras clínicas e histológicas da reação de Mitsuda nos comunicantes consanguíneos e não consanguíneos de pacientes com as formas bacilíferas da hanseníase estão apresentados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente. Em tais tabelas é fácil constatar que a proporção de respostas histologicamente negativas foi significativamente maior (P - 0,047) nos consanguíneos (35,3%) do que nos não consanguíneos de hansenianos (8,7%).

TRINDADE, M.A.B. et al. Leitura clínica e histológica da reação de Mitsuda em comunicantes consangüíneos e não consangüíneos de pacientes com formas bacilíferas da hanseníase.

**TABELA 1** - Resultados das leituras clínica e histológica da reação de Mitsuda em 17 comunicantes consangüíneos de pacientes com as formas bacilíferas da hanseníase.

| LEITURA HISTOLÓGICA |          | LEITURA CLINICA |          |          |          | TOTAL     |              |
|---------------------|----------|-----------------|----------|----------|----------|-----------|--------------|
|                     |          | +1-             | +        | ++       | +++      | N2        | %            |
| -                   | 2        | 1               | 2        | 1        | 0        | 6         | 35,3         |
| +                   | 0        | 2               | 4        | 0        | 1        | 7         | 41,2         |
| ++                  | 0        | 0               | 1        | 0        | 3        | 4         | 23,5         |
| 1-1-1-              | 0        | 0               | 0        | 0        | 0        | 0         | 0            |
| <b>TOTAL</b>        | <b>2</b> | <b>3</b>        | <b>7</b> | <b>1</b> | <b>4</b> | <b>17</b> | <b>100,0</b> |

**TABELA 2** - Resultados das leituras clínicas e histológicas da reação de Mitsuda em 23 comunicantes não consangüíneos de pacientes com as formas bacilíferas da hanseníase.

| LEITURA HISTOLÓGICA |          |          | LEITURA CLINICA |          |          | TOTAL     |              |
|---------------------|----------|----------|-----------------|----------|----------|-----------|--------------|
|                     | -        | +/-      |                 | -FP-     | -1-1-1-  | N2        | %            |
| -                   | 2        | 0        | 0               | 0        | 0        | 2         | 8,7          |
| +                   | 1        | 1        | 4               | 5        | 0        | 11        | 47,8         |
| ++                  | 0        | 0        | 6               | 0        | 2        | 8         | 34,8         |
| -H-1-               | 0        | 0        | 0               | 1        | 1        | 2         | 8,7          |
| <b>TOTAL</b>        | <b>3</b> | <b>1</b> | <b>10</b>       | <b>6</b> | <b>3</b> | <b>23</b> | <b>100,0</b> |

Outra constatação que pode ser feita facilmente nas Tabelas 1 e 2 é a de que nos consangüíneos de hansenianos com as formas bacilíferas dessa moléstia é possível o encontro de reação de Mitsuda clinicamente positivas (3) ou duvidosas (1) com histologia negativa, o mesmo não sendo verificado nos não consangüíneos de tais doentes. Em consequência disso, quando se aplica um teste de independência para as leituras clínica e histológica da reação de Mitsuda, constata-se que entre os consangüíneos de pacientes com as formas bacilíferas da hanseníase não

existe associação entre os resultados das duas leituras, ao passo que entre os não consangüíneos de tais pacientes essa associação existe.

De fato, se reunirmos as respostas histologicamente positivas em um só grupo e considerarmos como uma única entidade as reações de Mitsuda positivas e clinicamente duvidosas, a aplicação de um teste de independência aos dados das Tabelas 1 e 2 nos obriga a aceitar a hipótese de independência entre essas duas leituras (P - 0,110) para os consangüíneos de pacientes com as formas

bacilíferas da hanseníase e a rejeitá-la, isto é, aceitar a hipótese de associação entre as duas leituras para os não consanguíneos desses doentes (P 0,012). Esses resultados se mantêm quando reunimos as respostas duvidosas its negativas, pois, nesse caso, a aplicação de um teste de independência aos dados das Tabelas 1 e 2 fornece, respectivamente, P = 0,206 e P = 0,024.

Com relação às leituras histologicamente negativas é digno de nota que a **ausência de resposta** não foi assinalada nem entre os consanguíneos nem entre os não consanguíneos de hansenianos estudados. A resposta histologicamente negativa mais comum foi a **reação inflamatória crônica inespecífica**, observada nos únicos 2 não consanguíneos e em metade (3) dos consanguíneos de hansenianos com negatividade histológica ao antígeno de Mitsuda. Os restantes 3 consanguíneos de hansenianos com resposta histologicamente negativa ao teste de Mitsuda apresentaram **reação inflamatória crônica granulomatosa não tuberculóide**.

#### 4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os tamanhos amostrais, apesar de pequenos, foram suficientes para demonstrar que a proporção de respostas histologicamente negativas ao antígeno de Mitsuda entre os consanguíneos de pacientes com as formas bacilíferas da hanseníase foi significativamente maior do que entre os não consanguíneos desses pacientes. Esse resultado vem, pois, reforçar as observações anteriores, efetuadas somente a nível clínico, de que os consanguíneos de hansenianos que respondem negativamente ao antígeno de Mitsuda têm maior probabilidade de manifestar esse tipo de reação do que os consanguíneos de pessoas que respondem positivamente a esse antígeno (B. Beiguelman<sup>9</sup>) Uma outra conclusão importante que pode ser extraída dos resultados do presente trabalho

é a de que o tipo de resposta histológica ao antígeno de Mitsuda manifestada pelos comunicantes de hansenianos, isto é, a capacidade de seus macrófagos para destruir o **M. leprae** fagocitado, depende mais da consanguinidade do que da contiguidade entre eles e o foco bacilífero. De fato, comparando a amostra de 100 não consanguíneos que não eram comunicantes de hansenianos estudados por V. Petri et al.<sup>18</sup>, entre os quais 3 apresentavam reação de Mitsuda histologicamente negativa, com a de não consanguíneos comunicantes do presente trabalho concluímos pela inexistência de diferença significativa quanto aos tipos de resposta ao teste de Mitsuda (P = 0,955). Evidentemente, chega-se à conclusão oposta quando a amostra estudada por V. Petri et al.<sup>18</sup> é comparada com a de comunicantes consanguíneos do presente trabalho (P=0,0002).

A diferença entre os comunicantes que são consanguíneos de hansenianos com as formas bacilíferas e os não consanguíneos desses pacientes, sejam eles comunicantes ou não, não parece estar restrita à maior proporção, entre os primeiros, de respostas histopatologicamente negativas ao teste de Mitsuda. Isso porque somente entre os primeiros foram encontradas reações clinicamente positivas ao antígeno de Mitsuda sem correspondência histológica. Tal resultado serve, pois para estabelecer que, entre os comunicantes consanguíneos de pacientes com as formas bacilíferas da hanseníase, uma reação de Mitsuda somente deverá ser considerada positiva se ela tiver comprovação histológica. No concernente aos comunicantes não consanguíneos de hansenianos tem-se que, se as observações feitas no presente trabalho forem confirmadas em maior número de indivíduos, elas terão grande valor prático, pois, como nos não comunicantes que não são consanguíneos de hansenianos (V. Petri et al.<sup>18</sup>), as reações de Mitsuda clinicamente positivas ou duvidosas poderão ser aceitas como histologicamente positivas.

**ABSTRACT** - Mitsuda tests clinically and histologically evaluated were performed on 17 close consanguineous relatives and 23 non consanguineous healthy contacts of patients exhibiting the bacilliferous forms of leprosy. The proportion of histologically negative Mitsuda reactions among the consanguineous contacts (35,3%) was significantly larger than that observed among the non consanguineous contacts (8,7%). Clinically positive (3) and doubtful (1) Mitsuda reactions without histological correspondence were found among the consanguineous but not among the non-consanguineous contacts of leprosy cases. The present results indicate that a positive Mitsuda reaction shall only be ascribed to consanguineous contacts of patients with bacilliferous forms of leprosy if confirmed by histological analysis.

**Key words:** Leprosy. Mitsuda reaction. Histology.

## REFERÊNCIAS

- 1 ANDRADE, L.M.C. Comparação entre os aspectos microscópicos do teste lepromínico. **Bol. Serv. Nac. Lepra**, **21**:95-124, 1962.
- 2 AZULAY, R.D.; ANDRADE, L.M.C.; SILVA, C.; RABELLO NETO, A.V.; AZULAY, J.D.; GARRIDO-NEVES, R.; MIGUEZ-ALONSO, A. Comparison of the macroscopic and microscopic findings of the lepromin reaction. **Mt. J. Lepr.**, 2838-43, 1960.
- 3 BECHELLI, L. M.; RATH DE SOUZA, P.; QUAGLIATO, R. Correlação entre os resultados da leitura clínica e do exame histopatológico da reação de Mitsuda. **Rev. Bras. Lepr.**, 27:172-182, 1959.
- 4 BEIGUELMAN, B. **Curso Prático de Bloestatística**. Revista Brasileira de Genética. Ribeirão Preto, 224p., 1988.
- 5 BEIGUELMAN, B. An appraisal of genetic studies in leprosy. **Acta Genet. Med. Gemellol.**, **21**:21-52, 1972.
- 6 BEIGUELMAN, B. Lepromin reaction. Genetic studies Including twin pair analysis. **Acta Lepr.**, \*L5-65, 1971.
- 7 BEIGUELMAN, B.; SOUZA CAMPOS, N.E.; PINTO JR., W. Fatores genéticos e efeito da calmetização na reação de Mitsuda. **Rev. Paul. Med.**, **71**, 1967.
- 8 BEIGUELMAN, B. & QUAGLIATO, R. Nature and familial character of the lepromin reaction. **Mt. J. Lepr.**, 33:800-907, 1966.
- 9 BEIGUELMAN, B. The genetics of the resistance to leprosy. **Mt. J. Lepr.** 33:808-812, 1965.
- 10 BEIGUELMAN, B. Hereditariedade da reação de Mitsuda. **Rev. Bras. Lepr.**, **30**:153-172, 1962.
- 11 BLOOM, B.R.; CONVIT, J.; GODAL, T.; NORDEEN, S.K.; PERKINS, F.T.; REES, R.J.W.; SANSARRICO, H.; SHEPARD, C.C.; TORRIGIANI, S.; WALTER, J. Recommended safety requirement for the preparation of lepromin: a WHO memorandum. **Bull. W.H.O.**, 57:921-923, 1979.
- 12 FARACO, J. Bacilos de Hansen e cortes de parafina: método complementar para a pesquisa de bacilos de Hansen em cortes de material incluído em parafina. **Rev. Bras. Lepr.** 6:177-180, 1938.
- 13 FITE, G.L.; CAMBRE, P.J.; TURNER, M.H. Procedure for demonstrating lepra bacilli in paraffin sections. **Arch. Path.**, 43:624-625, 1947.
- 14 FLEURY, R.N. **Comunicação pessoal**. 1987.
- 15 HADLER, W.A. & ZITI, L.M. Estudo da reação da lepromina no rato previamente

inoculado com *M.lepraemurium* e com *M. tuberculosis* (BCG). Rev. Bras. Leprol., 25:53-75, 1955.

16 KUNDU, S.K.; GHOSH, S.; HAZRA, S.K.; CHAUDHURY, S. Nature and familial character of lepromin sensitivity In 27 families and their siblings. *Lepr. India*, 51:465-474, 1979.

17 ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Guia para a luta antileprosa*. Genebra, 110p. 1980.

18 PETRI, V.; MENDES, E.V.; BEIGUELMAN, B. Histology of the Mitsuda reaction of healthy adults with no known contacts with leprosy patients. *Int. J. Lepr.*, 53:540-545, 1985.

19 SAHA, K. & AGARWAL, S. K. Immune deficit in patients with lepromatous leprosy: Its nature and relation to genetic factors, spectrum, and duration of the illness. *Int. J. Lepr.* 47:1-6, 1979.