

DA RELAÇÃO IMUNOBiolÓGICA ENTRE TUBERCULOSE E LEpra

I. Ação positivante do BCG sobre a lepromino-reação

O valor prognóstico da lepromino-reação¹, constitui hoje ponto pacífico em leprologia. Na forma lepromatosa, grave, de mau prognóstico, ela é negativa. Na forma tuberculóide, benigna, de bom prognóstico, ela é positiva.

Também sabe-se que entre os comunicantes de doentes de lepra, com lepromino-reação negativa, a moléstia incide mais frequentemente, ao passo que naqueles que apresentam uma lepromino-reação positiva, só excepcionalmente contraem a enfermidade e quando isto acontece a adquirem sempre sob forma benigna. Em outras palavras, pode-se dizer que uma lepromino-reação positiva, traduz elevado grau de resistência à infecção.

As relações presumíveis de natureza físico-química entre o *M. tuberculosis* e *M. leprae* e o estudo comparativo das reações de Mitsuda e as reações tuberculinicas em indivíduos supostamente sãos, em regiões onde a lepra não é endêmica, fizeram desde logo acreditar que o organismo poderia se tornar lepromino positivo à custa da infecção tuberculosa.

Neste particular dois são os fatos fundamentais que vieram reforçar esta idéia:

- a) aumento progressivo da positividade da reação à tuberculina e à lepromina com o evoluer da idade;
- b) a alta frequência com que indivíduos tuberculino positivos reagem ao Mitsuda.

Não seria pois de estranhar que se procurasse investigar os efeitos da co-sensibilização que a vacina BCG pudesse porventura exercer sobre a lepromino-reação.

Entretanto a bibliografia sobre o assunto é pequena e relativamente recente. Fernandez, 1939 ⁶ relata que em 123 crianças de 3 a 15 anos que

(*) Médico-Chefe do Dispensário Modelo do Instituto "Clemente Ferreira" da Divisão do Serviço de Tuberculose de São Paulo e Docente de Tisiologia da Faculdade Fluminense de Medicina e da Faculdade de Medicina e Cirurgia do Rio de Janeiro.

(**) Médico do Departamento de Profilaxia da Lepra de São Paulo e médico do Educandário Santa Teresinha.

(***) Médico da Divisão do Serviço de Tuberculose de São Paulo e Assistente Extranumerário da Cadeira de Clínica Médica da Fac. de Medicina da Universidade de São Paulo.

(1) No decorrer deste trabalho empregaremos os termos "reação de Mitsuda" e "lepromino-reação". com o mesmo significado.

apresentavam reações de Mantoux e Mitsuda negativas, uma vez vacinadas pelo BCG (o autor não descreve a via empregada para a vacinação), 113 apresentaram posteriormente uma lepromino-reação positiva. Todas as crianças, com exceção de uma, positivaram-se à tuberculina. Posteriormente este mesmo autor, 1943-44 ^{7 e 8}, relata haver encontrado 4 casos de pessoas com tuberculose cutânea, indenes de lepra, Mitsuda positivas, as quais haviam recebido BCG em tempos pregressos com finalidade terapêutica.

Ginés e Poletti, 1945 ⁹, vacinaram com. BCG pela técnica original de Rosenthal (multipunturas), 19 indivíduos Mitsuda negativos, de idades variáveis entre 9 meses e 18 anos, internados em um preventório de filhos de leprosos. Esta vacinação foi realizada independentemente da presença ou ausência da alergia tuberculínica. Experimentados novamente ao Mitsuda, 27 dias após a vacinação, esta se revelou positiva em 15 casos.

Azulay, 1948¹, em 15 crianças filhas de leprosos, uns isolados ao nascer, outros tendo convivido com os pais por tempos variáveis, negativos à tuberculina e à lepromina, administrou o BCG por via oral em dose única de 0,10 g. Uma nova reação de Mitsuda realizada 60 dias após a vacinação, mostrou resultados positivos em 12 delas. As três únicas crianças cujo Mitsuda foi negativo nas leituras tardias, foram exatamente as que não se sensibilizaram à tuberculina após a vacinação.

Chaussinand, 1948 ³, em 30 crianças nas quais aparentemente não havia contaminação leprosa (inquérito realizado em Paris), negativas à tuberculina e à lepromina, verificou a sensibilização à esta última após uma vacinação pelo BCG (faltam referências quanto à técnica da vacinação). Esta mesma sensibilização à lepromina foi também notada pelo referido autor em animais previamente inoculados com bacilo tuberculoso ou vacinados pelo BCG.

Interessados em estudar as interrelações que aparentemente existem entre os fenômenos imunobiológicos da tuberculose e da lepra, resolvemos iniciar uma série de pesquisas das quais esta primeira comunicação representa os resultados que obtivemos na sensibilização à lepromina com a vacinação BCG por via oral.

Em crianças, filhos de leprosos, isoladas de seus pais logo ao nascer, após a pesquisa prévia das reações tuberculínicas e de Mitsuda, praticamos a vacinação BCG em dose única e intensiva em dose diária.

Passamos a relatar a técnica empregada e os resultados obtidos.

NATUREZA DO MATERIAL

Trata-se de 39 crianças, filhos de leprosos, separadas logo ao nascer e internadas, no máximo com 24 horas de vida, no Berçário do Educandário Santa Teresinha, Carapicuíba, Estado de São Paulo (a).

(*) Agradecemos ao Dr. Herondino de Barros, Pediatra do Educandário Santa Teresinha, Carapicuíba, e à Sra. Margarida Galvão, Diretora do Educandário, por nos haverem franqueado e prestigiado as investigações desenvolvidas sobre o assunto que nos ocupa.

Em 28 casos só a mãe era a doente e em 11 casos ambos os progenitores.

A forma clínica da lepra materna foi a seguinte: lepromatosa, 35; tuberculóide, 1; incompleta, 3. Em 14 casos houve reação leprotica durante a gravidez.

Todas as crianças eram brancas, sendo 14 do sexo feminino e 25 do sexo masculino. Quando foram feitas as provas tuberculínicas prévias e a reação de Mitsuda, elas apresentavam a seguinte idade:

1 mês.....	1
2 meses.....	1
4 meses.....	4
6 meses	3
De 7 a 12 meses.....	16
De 13 a 18 meses	14
Total	39

PROVAS PRÉVIAS DO MANTOUX E DO MITSUDA

As reações de Mantoux foram realizadas em 30-8 e 1-9-49, constando de uma prova a 1:1000 e outra a 1.10 Empregou-se tuberculina preparada no Instituto "Clemente Ferreira", da Divisão do Serviço de Tuberculose do Estado de São Paulo, sendo todas as diluições feitas no momento de sua utilização.

Todas as crianças responderam negativamente à reação a 1:10, isto é, a 10 mg. de tuberculina. Leitura com 48 horas de prazo.

Em 3-9-49, ou seja, 48 horas depois de realizada a última prova de Mantoux, praticou-se a reação à lepromina.

Esta foi praticada com antígeno preparado segundo a técnica clássica de Mitsuda-Hayashi, pelo Instituto "Conde de Lara" do Departamento de Profilaxia da Lepra¹.

ADMINISTRAÇÃO DO BCG

O BCG foi sempre administrado por via oral. As crianças foram separadas para efeito da vacinação BCG, em 2 grupos: A e B.

Grupo A, composto de 12 crianças, que receberam 1 dose única de 0,10 g. de BCG em 14-10-49.

(I) O critério de leitura das reações de Mitsuda foi o seguinte:

LEITURA PRECOCE — As 48 horas — **Negativa** (|—|) : ausência de qualquer eritema ou eritema até 5 mm. no local da picada. **Duvidoso** (±) : eritema de mais de 5 mm. até 10 mm., sem infiltração. **Positivo** (+) : eritema de mais de 10 a 20 mm., com infiltração. **Positivo forte** (++) eritema de mais de 20 mm. com infiltração.

LEITURA TARDIA — 25 a 30 dias — **Negativo** (|—|) : ausência de qualquer reação no local da inoculação. **Duvidoso** (±) : presença de pequeno nódulo, apenas palpável, sem modificação de coloração da pele, ou apenas leve tom eritematoso. **Positivo** (+) : nódulo saliente, visível, infiltrado, até 5 mm., de coloração eritemato-arroxeadada. **Positivo forte** (++) : nódulo saliente, visível, maior que 5 mm., arroxeadado, ulcerado ou não.

Grupo B, composto de 27 crianças, que receberam doses diárias de BCG, distribuídas da seguinte maneira: 0,01 g. por dia na 1ª semana, 0,02 g. por dia na 2.ª semana, 0,04 g. por dia na 3ª semana e 0,10 g. por dia na 4ª semana, perfazendo um total de 1,19 g. ingeridas no prazo de 28 dias (*). Neste grupo a vacinação foi iniciada em 14-10-49 e terminada em 10-11-49.

A tolerância foi perfeita, desenvolvendo-se normalmente a curva ponderal dos observados.

EVOLUÇÃO DAS REAÇÕES DE MITSUDA E DE MANTOUX APÓS A VACINAÇÃO BCG

A sensibilização à reação de Mitsuda e o evoluir da alergia tuberculínica após a vacinação BCG, estão discriminados nos quadros 1 e 2.

A idéia inicial era, como seria natural, proceder-se a uma nova introdução de lepromina sob a pele, tempos após a becegeização, para se observar o comportamento dêste novo Mitsuda. Sucede, porém, que em um número apreciável dos casos, observamos que o antigo Mitsuda, isto é, aquele realizado antes da vacinação e considerado como negativo na leitura tardia aos 30 dias, veio a se positivar remotamente entre o 70.º e 78.º dias, depois de decorridos 40 dias da data da ingestão do BCG.

Esse fato fez com que nos abstivéssemos de realizar nesses casos, um segundo Mitsuda, uma vez que a viragem da reação lepromínica, por efeito do BCG, já estava patenteada por essa "positivação remata".

Nos outros casos, nos quais o Mitsuda anterior à vacinação se manteve negativo até o 40.º dia após a administração inicial do BCG, praticamos então um novo Mitsuda.

E' de interesse anotar, que em apreciável contingente dêstes casos, ao lado da positivação dêste novo Mitsuda, observamos paralelamente positivações remotas do antigo Mitsuda, destas vezes ocorridas com prazos mais longos, até o 112.º dia a partir da data da introdução da lepromina sob a pele.

Grupo A — Das 12 crianças dêste grupo (ingestão única de 0,10 g. de BCG), nas quais o Mitsuda foi praticado 41 dias antes da vacinação verificamos que este se positivou em 7 casos entre o 70.º e 78.º dias e portanto mais ou menos no decorrer dos 40 dias após a vacinação (3 casos com reações equivalentes a $\pm$ e 4 com +) (*).

(*) O BCG utilizado, preparado pela Fundação "Ataulfo de Paiva", nos foi fornecido pelo Serviço de BCG da Divisão do Serviço de Tuberculose, São Paulo, com exceção daquele empregado na última semana, que nos foi enviado diretamente pelo Dr. Arlindo de Assis. Aproveitamos as emulsões dos tubos de vacinas, fazendo sempre as diluições na véspera de seu emprêgo. Agradecemos ao Dr. Napoleão Baldo a colaboração que nos prestou na execução das referidas diluições.

(*) As reações lepromínicas tidas como correspondentes e intensidade de $\pm$, foram consideradas como verdadeiramente positivas, por isso que, feita a biopsia, constatou-se a estrutura típica de uma reação francamente positiva, corno se vê no exemplo da microfotografia da figura 2.

QUADRO 1

Lote A: 12 crianças Mitsuda e Mantoux a 1:10 negativas, vacinadas posteriormente (14-10-49) com dose única de 0.10 g. de BCG.

Evolução das reações tuberculinicas e leprominicas:

Mitsuda I — realizado em 3-9-49, portanto 41 dias antes da vacinação.

Mitsuda II — realizado em 3-12-49, portanto 49 dias depois da ingestão do BCG.

Casos N.º	Reações	20-11-49	24-12-49	20-1-50	Observações
28	Mantoux Mitsuda I	— +	16 mm.	10 mm.	Positivção remota entre 70.º e 78.º dia.
29	Mantoux Mitsuda I	12 mm. ±	11 mm.	13 mm.	Positivção remota entre 70.º e 78.º dia.
30	Mantoux Mitsuda	10 mm. ±	—	10 mm.	Positivção remota entre 70.º e 78.º dia.
31	Mantoux Mitsuda I	14 mm. —	18 mm. +	15 mm.	Positivção remota entre 101.º e 112.º dia.
	Mitsuda II		+		Positivção com 21 dias.
32	Mantoux Mitsuda I	— +	12 mm.	—	Positivção remota entre 70.º e 78.º dia.
33	Mantoux Mitsuda I	10 mm. +	—	—	Positivção remota entre 70.º e 78.º dia.
34	Mantoux Mitsuda I	12 mm. +	5 mm.	5 mm.	Positivção remota entre 70.º e 78.º dia.
35	Mantoux Mitsuda	10 mm. ±	5 mm.	5 mm.	Positivção remota entre 70.º e 78.º dia.
36	Mantoux Mitsuda I	12 mm. —	—	7 mm.	
	Mitsuda II		—		
37	Mantoux Mitsuda I	—	—	—	
	Mitsuda II	—	—	—	
38	Mantoux Mitsuda I	—	—	—	
	Mitsuda II	—	—	—	
39	Mantoux Mitsuda I	—	—	—	
	Mitsuda II	—	—	—	

QUADRO 2

Lote A : 12 crianças Mitsuda e Mantoux a 1:10 negativas, vacinadas posteriormente com doses diárias de BCG durante 28 dias (14-10-49 a 10-11-49), perfazendo um total de 1.19 g. de BCG.

Evolução das reações tuberculinicas e lepromínicas:

Mitsuda I — realizado em 3-9-49, portanto 41 dias antes da vacinação.

Mitsuda II — realizado em 3-12-49, portanto 23 dias após o término da vacinação.

Casos N.º	Reações	20-11-49	24-12-49	20-1-50	Observações
1	Mantoux	—	20 mm.	15 mm.	Positivação remota entre 101.º e 112.º dia. Positivação com 21 dias.
	Mitsuda I	—	++		
	Mitsuda II		++		
2	Mantoux	13 mm.	12 mm.	10 mm.	Positivação remota entre 70.º e 78.º dia e acentuação entre 101.º e 112.º dia.
	Mitsuda I	+	++		
3	Mantoux	18 mm.	17 mm.	15 mm.	Positivação remota entre 70.º e 78.º dia.
	Mitsuda I	++			
4	Mantoux	15 mm.	18 mm.	11 mm.	Positivação remota entre 70.º e 78.º dia.
	Mitsuda I	++			
5	Mantoux	—	—	13 mm.	Positivação com 21 dias.
	Mitsuda I	—	—		
	Mitsuda II		+		
6	Mantoux	15 mm.	17 mm.	17 mm.	Positivação entre 70.º e 78.º dia.
	Mitsuda I	+			
7	Mantoux	10 mm.	15 mm.	9 mm.	Positivação remota entre 70.º e 78.º dia, com acentuação entre 101.º e 112.º dia.
	Mitsuda I	±	+		
8	Mantoux	10 mm.	15 mm.	13 mm.	Positivação remota entre 70.º e 78.º dia.
	Mitsuda I	+			
9	Mantoux	—	11 mm.	9 mm.	Positivação remota entre 70.º e 78.º dia, com acentuação entre 101.º e 112.º dia.
	Mitsuda I	±	+		
10	Mantoux	10 mm.	15 mm.	12 mm.	Positivação remota entre 70.º e 78.º dia.
	Mitsuda I	+			

QUADRO 2 (continuação)

Casos N.º	Reações	20-11-49	24-12-49	20-1-50	Observações
11	Mantoux Mitsuda I	8 mm. +	8 mm.	9 mm.	Positivção remota entre 70.º e 78.º dia.
12	Mantoux Mitsuda I	10 mm. ±	14 mm. +	11 mm.	Positivção remota entre 70.º e 78.º dia, com acentuação entre 101.º e 112.º dia.
13	Mantoux Mitsuda I Mitsuda II	 	12 mm. + +		Positivção remota entre 101.º e 112.º dia. Positivção com 21 dias.
14	Mantoux Mitsuda I Mitsuda II	 	10 mm. + +	9 mm.	Positivção remota entre 101.º e 112.º dia. Positivção com 21 dias.
15	Mantoux Mitsuda I Mitsuda II	 	10 mm. + ±	13 mm.	Positivção remota entre 101.º e 112.º dia. Positivção com 21 dias.
16	Mantoux Mitsuda I Mitsuda II	 	10 mm. ± ±	12 mm.	Positivção remota entre 101.º e 112.º dia. Positivção com 21 dias.
17	Mantoux Mitsuda I Mitsuda II	10 mm. 	5 mm. ± ±	9 mm.	Positivção remota entre 101.º e 112.º dia. Positivção com 21 dias.
18	Mantoux Mitsuda I	 ±	10 mm. +	10 mm.	Positivção remota entre 70.º e 78.º dia e acentuação en- tre 101.º e 112.º dia.
19	Mantoux Mitsuda I Mitsuda II	8 mm. 	8 mm.  ++	12 mm.	Positivção com 21 dias.
20	Mantoux Mitsuda I Mitsuda II	7 mm. 	14 mm. + +	15 mm.	Positivção remota entre 101.º e 112.º dia. Positivção com 21 dias.

QUADRO 2 (continuação)

Casos N.º	Reações	20-11-49	24-12-49	20-1-50	Observações
21	Mantoux	—	15 mm.	13 mm.	Positivação remota entre 101.º e 112.º dia. Positivação com 21 dias.
	Mitsuda I	—	+		
	Mitsuda II		+		
22	Mantoux	6 mm.	12 mm.	12 mm.	Positivação remota entre 101.º e 112.º dia. Positivação com 21 dias.
	Mitsuda I	—	+		
	Mitsuda II		+		
23	Mantoux	4 mm.	16 mm.	4 mm.	Positivação remota entre 101.º e 112.º dia. Positivação com 21 dias.
	Mitsuda I	—	±		
	Mitsuda II		+		
24	Mantoux	—	10 mm.	9 mm.	Positivação remota entre 101.º e 112.º dia. Positivação com 21 dias.
	Mitsuda I	—	+		
	Mitsuda II		+		
25	Mantoux	—	12 mm.	—	Positivação remota entre 70.º e 78.º dia e acentuação entre 101.º e 112.º dia.
	Mitsuda I	±	+		
26	Mantoux	—	7 mm.	—	Positivação remota entre 70.º e 78.º dia e acentuação entre 101.º e 112.º dia.
	Mitsuda I	±	+		
27	Mantoux	—	8 mm.	—	Positivação entre 101.º e 112.º dia. Positivação com 21 dias.
	Mitsuda I	—	+		
	Mitsuda II		+		

Nos 5 restantes que se mantiveram negativos ao primeiro Mitsuda (MI) até essa ocasião, praticamos um segundo Mitsuda (MII) em 3-12-49, ou seja aos 49 dias após a becegeização (**). Em 4 casos o MII permaneceu negativo às leituras tardias. Em 1 caso o MII foi positivo com 21

(*) Para facilidade de exposição designaremos de MI e MII, respectivamente, o primeiro Mitsuda, realizado antes da ingestão do BCG, e o segundo Mitsuda, procedido após a vacinação.

dias, sendo que nessa ocasião, positivou-se também o MI remotamente entre 101 e 112 dias (ambas as reações com intensidade de +).

A relação entre a positivação dos Mitsudas e a viragem tuberculínica pareceu bem nítida. Sete crianças mostraram-se sensíveis à tuberculina (Mantoux a 1:10) aos 37 dias após a vacinação e 2 aos 71 dias, perfazendo assim um total de 9 casos positivados à tuberculina. Em 8 dêstes, a lepro-mino-reação também foi positiva e em 1 negativa. Nos 3 casos com alergia tuberculínica negativa, o MI e MII também permaneceram negativos. Houve, portanto, uma única discordância, de um caso tuberculino positivo com Mitsuda negativo (quadro 3).

QUADRO 3

Grupo A: 12 crianças.

Relação entre a viragem das reações de Mantoux e de Mitsuda, após a vacinação pelo BCG com dose única de 0.10 g. por via oral.

	Mitsuda			
	—	±	+	++
Mantoux positivo — infiltrações de 10 mm. ou maiores (9 casos)	1	3	5	0
Mantoux negativo (3 casos)	3	0	0	0

Grupo 2 — Das 27 crianças dêste grupo (ingestão diária durante 4 semanas, de BCG, totalizando 1,19 g.), verificamos que em 13 casos o MI (realizado 41 dias antes do início da becegeização) positivou-se remotamente entre o 70.º e 78 º, ocorrendo essa positivação logo nos primeiros dias após o término da vacinação (6 casos com ±, 5 com + e 2 com ++).

Nas 14 crianças cujo MI permanecia negativo até 3-12-49, realizamos MII naquela data, isto é, aos 23 dias depois de concluída a vacinação. Êste MII mostrou-se positivo em todos os casos com a leitura com 21 dias (3 casos com ±, 9 com + e 2 com ++). Nessa mesma ocasião verificou-se que nestes 14 casos, os MI que ainda permaneciam negativos em 3-12-49 (razão porque se praticou o MII) positivaram-se posteriormente até o 112º dia, a partir da introdução de lepromina.

Por outro lado esclarecemos que nos 6 casos anteriormente citados onde o MI apresentou-se com ± aos 70 dias, houve uma intensificação posterior para +.

Como se vê, neste grupo, houve positivação do Mitsuda em tôdas as crianças.

Do mesmo modo que no grupo A, observamos aqui um estreito paralelismo entre a viragem tuberculínica e a reação lepromínica (veja-se quadro 4).

QUADRO 1

Grupo B: 27 crianças.

Relação entre a viragem das reações de Mantoux e de Mitsuda, após a vacinação pelo BCG com dose diária progressiva totalizando 1.19 g. por via oral.

	Mitsuda			
	—	±	+	++
Mantoux positivo — infiltrações de 10 mm. ou maiores (24 casos)	0	2	17	5
Mantoux duvidoso — infiltrações de 6 a 9 mm. (3 casos)	0	0	3	0

Os testes tuberculínicos (Mantoux a 1:10) feitos 10, 44 e 71 dias após o término da vacinação, revelaram que das 27 crianças, 24 se tornaram alérgicas mostrando uma ou mais reações iguais ou superiores a 10 milímetros de infiltração, enquanto 3 responderam com reações duvidosas (infiltrações entre 7 e 9 milímetros).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como se verificou pelo exposto, a vacinação BCG por via digestiva em crianças de 1 mês a 18 meses de idade, negativas ao Mitsuda, revelou-se capaz de sensibilizá-las à lepromina, de modo indiscutível.

Analisando mais detidamente os resultados por nós obtidos, verifica-se que no grupo A, onde as crianças foram vacinadas com uma dose única de 0,10 g. de BCG, a viragem do Mitsuda não atingiu a totalidade destes (8 casos de Mitsuda positivos em 12 crianças, ou seja 66,66%). No grupo B, entretanto, onde o BCG foi administrado diariamente, totalizando-se 1,19 g., observou-se a viragem do Mitsuda em 100% dos casos. Em 2 casos com Mitsuda considerado com intensidade de ±, feita a biopsia, constatou-se a estrutura típica de uma lepromino-reação positiva.

Foi ainda neste grupo, que surgiram as reações lepromínicas mais intensas (5 casos com ++).

Isso tudo demonstra a estreita relação entre a dose de BCG, a frequência da viragem da lepromino-reação e a sua intensidade.

Queremos chamar também a atenção para o fato que denominamos de "positivações remotas" do Mitsuda praticado antes da administração do BCG e considerado negativo na leitura tardia de 30 dias. Após a vacinação, esse mesmo Mitsuda por influência daquela, veio a se positivar remotamente entre o 70.º e 112.º dias.

Nas 12 crianças vacinadas com dose única de BCG, a positividade remota foi observada 8 vezes (66,66%). Nas 27 crianças que ingeriram doses de BCG, 12 vezes superior à administrada na vacinação única, a positividade remota foi verificada 25 vezes (93%). Fernandez ⁶ relata que em 33 de suas 123 crianças o antigo Mitsuda se positivou com 60 dias (26,8%).

Em nossos casos, o número de positificações remotas foi muito maior como se vê e estas ocorreram em prazos muito mais longos. Com toda certeza, a nossa técnica de vacinação por via oral, permitiu a introdução no organismo de uma soma de antígeno muito grande em pouco tempo, de modo a facultar a criação do estado de sensibilização, antes que a lepromina depositada sob a pele, tivesse tido tempo de cor completamente reabsorvida.

Esses fatos todos constituem mais uma eloquente afirmação da capacidade de absorção do BCG pelo tracto digestivo, ao lado das outras inúmeras provas já acumuladas pela experiência brasileira sobre a eficiência da técnica de calmetização por via oral, na imunização antituberculosa.

Também queremos chamar a atenção para a estreita concordância que observamos entre a viragem tuberculínica e a reação de Mitsuda após a vacinação BCG.

Das 39 crianças constantes do nosso material, 36 reagiram à tuberculina, sendo que 33 apresentaram reações de Mantoux nitidamente positivas e 3 duvidosas. Dessas 36 crianças alérgicas, 35 se positivaram à lepromina. Nos 3 outros casos que se mantiveram insensíveis à tuberculina (Mantoux a 1:10) a reação de Mitsuda também foi negativa.

Dêse modo apenas constatamos discordância nítida entre essas duas reações, em um único caso, onde o Mantoux foi francamente positivo e o Mitsuda se manteve negativo.

No que tange à relação entre a alergia tuberculínica e a leprominoreação, lembramos que o estudo dêse problema nos doentes de lepra e nos indivíduos sãos, tem sido objeto de um número de trabalhos já bem respeitável, uns visando a verificação da difusão da tuberculose no meio leproso, outros encarando simplesmente o percentual de concordância entre as reações tuberculínicas e lepromínicas e outros finalmente procurando interpretar a natureza dos fenômenos de sensibilidade e de resistência que elas possam significar.

Entretanto, é preciso acentuar que as reações tuberculínicas já são suficientemente conhecidas nos seus aspectos experimentais e clínicos, enquanto a reação à lepromina permanece obscura quanto à sua natureza, seu significado e seu mecanismo íntimo. As técnicas de preparo da tuberculina, do tuberculino diagnóstico, já estão bem firmadas. A natureza alérgica da reação tuberculínica está igualmente bem estabelecida. O mesmo não se pode

dizer da reação de Mitsuda, pois seu antígeno não é padronizado, o critério do tempo de leitura e de seu resultado não está uniformemente adotado, sua natureza é ainda controversa, seu mecanismo íntimo ainda é desconhecido, apenas restando de modo indiscutível seu valor prognóstico, pois sabe-se que os indivíduos Mitsuda positivos revelam um estado de resistência à lepra.

Pondo de lado todos os demais aspectos do problema, para tão semente focalizar a questão da especificidade da lepromino-reação, digamos de passagem, de que aquela é discutível, pois substâncias várias como por exemplo as de natureza química, podem provocar a viragem desta, como aliás já foi verificado por um de nós, com um derivado sulfônico, a Diasone ¹⁹.

A positividade da lepromino-reação em países não endêmicos, em coletividades sãs, põe, à primeira vista, de lado sua especificidade, sendo que o conceito de Fernandez ⁶ de que, lepromina + M. leprae + resistência = reação positiva, poderia ser substituído com mais fundamento por este outro: lepromina + fator X de resistência de Rotberg ¹⁷ = reação positiva.

Enquanto sabemos que a tuberculina do bacilo de Koch ou sua fração protéica, por si só, são responsáveis pelas reações alérgicas, não estamos ainda em condições de estabelecer o agente causal da reação à lepromina. Isso porque, no caso de um leproma, com o qual se prepara o antígeno lepromínico, existem sempre corpos bacilares além do tecido leprótico, responsáveis pela reação tardia, pois é sabido que quando se usa lepromina filtrada, apenas se obtém a reação precoce.

Esse estado particular de resistência, ou seja a presença desse fator X de resistência, deveria e poderia ser estabelecido, por causas ainda desconhecidas e que condicionariam a positividade da reação, independentemente da presença do *Mycobacterium leprae*, o que invalidaria portanto o princípio de especificidade.

Todavia, um fato incontestável, é a permanente negatividade do Mitsuda nos doentes de forma lepromatosa, o que só poderia significar a existência nesses doentes, de um estado particular do organismo, dependente de sua forma de reação à infecção, o que não deixaria de traduzir uma certa especificidade. Nesses doentes a situação seria a seguinte: lepromina + M. leprae + ausência do fator X de resistência = reação negativa.

Agora pergunta-se: essa condição particular do organismo, ou seja a presença desse fator X que condicionaria a positividade à lepromino-reação, poderia ser criada por uma co-sensibilização ou sensibilização de grupo? Essa questão tem suscitado a atenção de vários pesquisadores, os quais observaram a positividade da lepromino-reação em pessoas sãs, em países endêmicos ou não, o que confirma a existência de outro fator, além do bacilo da lepra, capaz de sensibilizar o organismo para o antígeno de Mitsuda (Cummins e Williams ⁴ na Inglaterra, Dubois ⁵ na Bélgica. Boncinelli ² na Itália Radna ¹⁴ na África, Negro ¹² e Montañes ¹¹ na Espanha, Chaussinand ³ na França, e outros).

Fernandez ⁶, em exaustivo estudo comparativo da reação de Mitsuda com as reações tuberculinicas em doentes de lepra e seus comunicantes, em in-

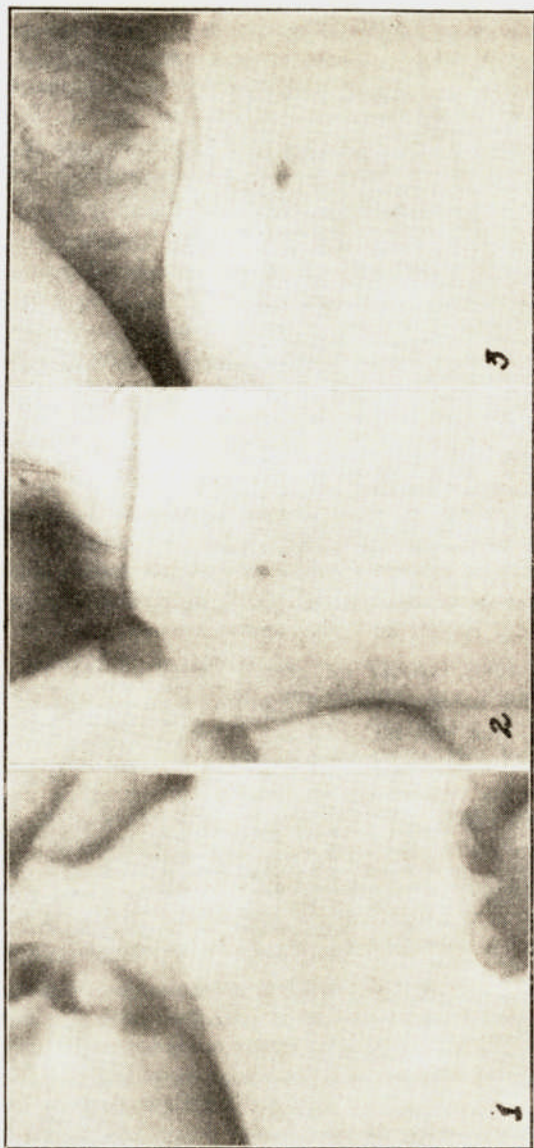
divíduos supostamente são de países onde a lepra é ou não endêmica, concluiu: a) nos indivíduos supostos indenes de lepra, procedentes de países em que a lepra não é endêmica, a reação de Mitsuda acusa índice de positividade tão elevado como a que se observa nos indivíduos são, de países endêmicos de lepra; b) que nestes indivíduos supostos indenes de lepra, procedentes de países endêmicos ou não, as reações de Mitsuda e de tuberculina, coincidem via de regra em seus resultados, em um mesmo caso; c) que entre os doentes de lepra e seus comunicantes, é freqüente observar-se, em um mesmo caso, resultados discordantes, isto é, reação de Mitsuda positiva e tuberculina negativa e vice-versa.

Essas observações tôdas e ainda outras que evidenciaram o aumento progressivo da positividade da reação tuberculínica e da reação lepromínica com o evolir da idade, bem como a alta freqüência com que os indivíduos que reagem à tuberculina são também Mitsuda positivos, tem levado a incriminar o bacilo de Koch, dentre os ácidos resistentes, como causador da sensibilização ao Mitsuda, ou melhor dessa co-sensibilização (Cummins e Williams ⁴, Rabello e Machado ¹³, Rotberg e Fleury de Oliveira ¹⁸, Chaussi-nand ³ e outros).

Mas, essa correlação de resultados, a nosso ver não indica todavia que essas reações expressem fenômenos de naturezas semelhantes, visto que uma (reação tuberculínica) reflete na tuberculose um estado alérgico, isto é, de sensibilidade, ao passo que outra (reação lepromínica) traduz na lepra um estado de imunidade, isto é, de resistência.

Por isso pensamos, apesar da grande concordância que obtivemos na viragem das reações tuberculínicas e lepromínicas em nossas crianças vacinadas com o BCG, que êste fato não nos autoriza a estabelecer uma relação de causa e efeito entre a primeira e a segunda em face das concepções atuais da independência dos fenômenos da alergia tuberculínica e da imunidade na infecção tuberculosa e em face da expressão de resistência que encerra a lepromino-reação na lepra. Sabemos que a alergia tuberculínica pode se esvaír permanecendo a imunidade antituberculosa. Por outro lado, sabemos também que uma vez positivada a lepromino-reação, ela é fixa e estável, não se verificando em coletividades sãs a diminuição de sua positividade.

Julgamos, pois, que urge desenvolver pesquisas nesse campo com o fim de introduzir um pouco mais de luz no determinismo dos fenômenos relatados. Vários procedimentos poderiam ser indicados neste terreno, dos quais os de maior interesse seriam: a) Aguardar a queda da alergia tuberculínica criada pelo BCG em nossos casos e verificar o grau de permanência da positividade da lepromino-reação, depois de desaparecida aquela. b) Estudar nos casos negativos à tuberculina e positivos à lepromina a relação com a coexistência de possíveis estados de alergia infratuberculínica. c) Verificar se nos indivíduos tuberculino e lepromino positivos se pode dissociar as duas reações, dessensibilizando-os à tuberculina pela administração do BCG (dessensibilização essa que já foi estudada por um de nós ^{15 e 16}) e se a reação de Mitsuda permanece inalterada nestas condições.



Fotos 1-2-3 — Reações de Mitsuda positivadas aos 72 dias após a beceigização

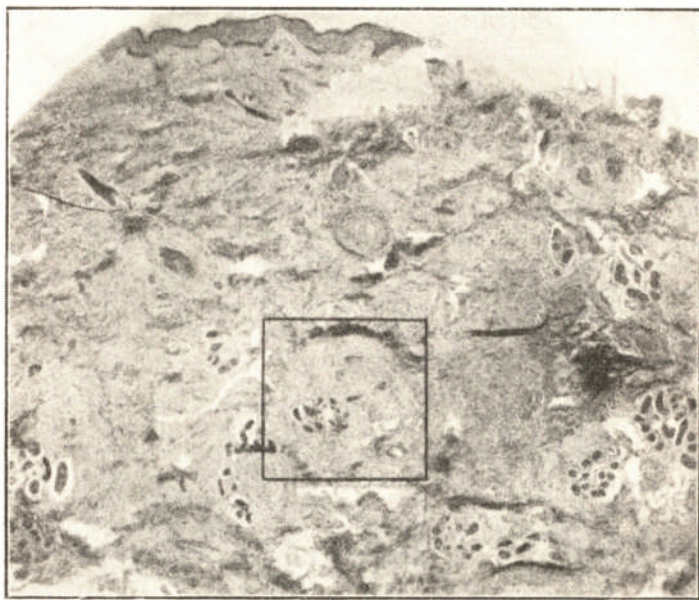
Estes aspectos, e outros, que serão estudados em doentes de lepra, farão objeto de nossos próximos trabalhos sobre o assunto.

De qualquer maneira, um fato de grande interesse prático fica inegavelmente estabelecido: é o poder que demonstra a vacinação BCG por via oral de sensibilizar ao Mitsuda, rapidamente e em massa, crianças de tenra idade.

A não ser as referências de Lara ¹⁰ em Culion nas Filipinas, onde, devido às condições particulares do meio, as crianças são amamentadas até aos 6 meses de idade pela mãe leprosa, quando então são recolhidas aos preventórios, nas quais aquele autor relata, não somente a incidência da lepra abaixo de um ano de idade, como a positividade da reação lepromínica, este fato é raro e entre nós excepcional.

Em nossa experiência no preventório Santa Teresinha, nunca tivemos ocasião de observar lepromino-reações positivas, abaixo dos dois anos de idade.

Por isso os resultados que relatamos da positividade maciça do Mitsuda por efeito do BCG em crianças de pouca idade e mesmo lactentes (a mais



Microf. N.º 556 — Lamina: 16.577.

Paciente: N. N. S.

Coloração: Hensvat.- Eosina.

Aumento: $\times 42$.

Descrição: O quadro histológico corresponde ao de uma reação de Mitsuda positiva, vendo-se uma infiltração inflamatória crônica de tipo tuberculoide, ocupando vários pontos do derma. Ver microf. .557.

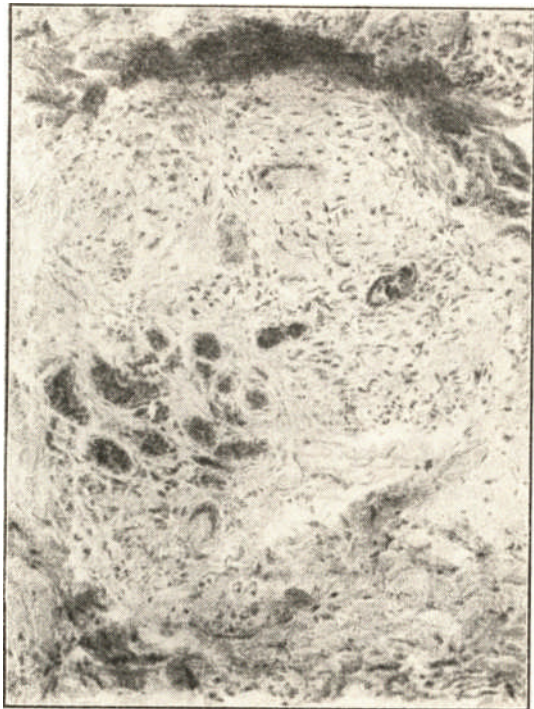
idosas tinham 18 meses), são de grande importância profilática no terreno da lepra, visto o conceito que se tem atualmente da expressão de resistência que esta reação traduz em relação à essa doença e justificam a preconização da prática da calmetização sistemática de todos os filhos de leprosos, logo nos primeiros dias da vida.

SUMÁRIO

Este trabalho é o primeiro de urna série que visa pesquisar a relação imunobiológica entre a tuberculose e a lepra.

Procurou-se inicialmente estudar a ação positivante do BCG sobre a leprominoreação em crianças internadas no Educandário Santa Terezinha, Carapicuíba, Estado de S. Paulo.

Com êsse propósito foram vacinadas com BCG, pela via digestiva, 39 crianças de 1 a 18 meses de idade, filhos de leprosos, separadas de seus pais logo ao nascer, tidas elas negativas ao Manioux a 1/10 e à lepromina.



Microf. N.º 557 - Lâmina 16.177.

Paciente: N. N. S.

Coloração: Hemat.-Eosina.

Aumento: X 235.

Descrição: Representa a parte assinalada da Microf. 556, vendo-se, em torno de uma glândula sudorípara um infiltrado inflamatório de tipo tuberculoide coma presença de duas células gigantes.

Grupo A — Doze crianças receberam uma dose única de 0.10 g. de BCG. Nove se sensibilizaram à tuberculina em prazos variáveis. Em 8 destas, a lepromino-reação realizada 40 dias antes da vacinação, e considerada negativa na leitura tardia com 30 dias, positivou-se remotamente por efeito do BCG, entre o 70.º e 112.º dias. No caso restante apesar de se constatar a sensibilidade à tuberculina, não se verificou essa positividade remota do antigo Mitsuda, bem como em 3 outros que não desenvolveram alergia tuberculínica. Nesses 4 casos, um segundo Mitsuda realizado 49 dias após a vacinação, resultou igualmente negativo. O total de viragens da lepromino-reação devido à ingestão do BCG, atingiu pois, neste grupo a 66,66%.

Grupo B — Vinte e sete crianças receberam doses diárias progressivas de BCG, durante 28 dias, completando um total de 1.19 g. A alergia tuberculínica apareceu com prazos variáveis em Mias, sendo o Mantoux francamente positivo em 24 e duvidoso em 3. A lepromino-reação realizada 40 dias antes de se iniciar vacinação e considerada negativa na leitura tardia com 30 dias, positivou-se remotamente em 28 casos, por efeito do BCG, entre o 70.9 e 112.9 dias (93%).

Um segundo Mitsuda realizado aos 23 dias após o término da vacinação, foi positivo em todos os casos em que assim se procedeu, inclusive naqueles nos quais não houve positividade remota do antigo Mitsuda realizado antes da ingestão do BCG, bem como ainda naqueles que desenvolveram uma alergia tuberculínica duvidosa. Em suma, verificou-se neste grupo, 100% de viragens da lepromino-reação por efeito da ingestão do BCG.

Constatou-se uma influência nítida da dose de BCG administrada, sobre a frequência das positivities remotas das lepromino-reações praticadas antes da vacinação, bem como sobre a percentagem de positividade das reações de Mitsuda em geral e sua intensidade.

Ao lado da viragem maciça e rápida da reação de Mitsuda provocada pela administração do BCG, quer das lepromino-reações praticadas antes da vacinação (positivities remotas), quer daquelas realizadas depois da vacinação, chamou-se atenção para o fato da estreita concordância dessa reação com as provas de Mantoux. Das 39 crianças becegeizadas, 36 reagiram à tuberculina, sendo que 33 apresentaram reações de Mantoux nitidamente positivas e 3 duvidosas. Dessas 96 crianças alérgicas, 36 se positivaram à lepromina. Nos 3 casos restantes que se mantiveram insensíveis à tuberculina (Mantoux a 1/10), a reação de Mitsuda também foi negativa. Dêsse modo verificou-se uma discordância nítida entre essas duas reações, somente em um único caso, onde o Mantoux foi francamente positivo e o Mitsuda se manteve negativo.

Considerações foram desenvolvidas sobre a provável relação entre essas duas reações e a especificidade do Mitsuda. Acentuou-se a propósito, o aspecto aparentemente paradoxal da concordância e paralelismo das reações tuberculínicas e lepromínicas, uma vez que as primeiras exprimem na tuberculose um estado de alergia, isto é, de sensibilidade e as segundas traduzem na lepra um estado de resistência.

Várias hipóteses de trabalho foram aventadas no sentido de melhor esclarecer as relações por ventura existentes entre esses dois testes biológicos, as quais constituirão objeto de publicações futuras.

O fato fundamental de interesse prático imediato, que eleve ser frisado, é a capacidade que demonstra o BCG administrado por via oral, de desenvolver a positividade do Mitsuda, rapidamente, e em massa, em crianças de baixa idade inclusive lactentes, constituindo isso mais uma afirmação eloquente da capacidade de absorção do bacilo biliado pelo tracto digestivo, ao lado das outras inúmeras provas já acumuladas pela experiência brasileira, sobre a eficiência da técnica de calmetização por via oral, na imunização antituberculosa.

Em face do conceito que se tem atualmente, em leprologia, sobre a expressão de resistência do teste lepromínico positivo, os Autores julgam que se deve preconizar a administração do BCG a todos os filhos de leprosos, logo nos primeiros dias de vida, encarecendo a importância profilática dessa medida.

IMUNOBIOLOGICAL RELATION BETWEEN TUBERCULOSIS AND LEPROSY. EFFECT OF THE BCG UPON THE POSITIVATION OF MITSUDA'S REACTION WITH LEPRIMIN.

SUMMARY

This contribution is the first of a series whose purpose is investigating the immunobiological relation between tuberculosis and leprosy.

We intended, as a start, to study the positivating action of the BCG upon the lepromin test on children interned in the "Educandário Santa Teresinha", in Carapicuíba, State of S. Paulo.

With this purpose, BCG vaccination, by oral, has been performed on 39 children, 1 to 18 months old, separated from their leprous parents as soon as they were born, and all of them negative to Mantoux test at 1:10 and to the lepromin test.

Group A — 12 children received one single dose of 0.10 g. of BCC. Nine proved tuberculin sensitive at variable time periods. On 8 of them, the lepromin test made 40 days before vaccination, and found negative 30 days afterwards, became remotely positive as an effect of the BCG, between the 70th and 112th days. On the remaining case, in spite of it's being tuberculin allergic, this remote positivation of the old Mitsuda's test did not show, as well as on 3 other cases which did not develop tuberculin allergy. On these 4 cases, a second Mitsuda, made 49 days after vaccination, proved equally negative. Thus, the total of positivities of the lepromin test due to the BCG vaccination reached, in this group, 66.66%.

Group B — 27 children received daily, progressive doses of BCG, for 28 days, reaching a total of 1.19 g. All of them proved tuberculin allergic at variable time intervals, Mantoux test at 1:10 showing clearly positive on 24, and dubious on 3 of them. The lepromin reaction, performed 40 days before starting vaccination, and found negative 30 days afterwards, showed remotely positive on 25 cases, by effect of the BCC, between the 70th and 112th days (93%). A second Mitsuda, performed 23 days after end of vaccination, showed positive in all of the cases on which this procedure was used, including those on which the remote positivation of the old Mitsuda, made far before the ingestion of BCC, did not appear, as well as on those which developed a doubtful tuberculin allergy. Thus, this group showed 100% of positivities of the lepromin reaction due to the ingestion of BCC.

It has been evidenced that the dose of 13CC taken in has a definite influence upon the incidence of remote positivities of the lepromin tests performed before vaccination, as well as upon the percentage of positivities of Mitsuda's test in general, and their intensity.

Together with the prompt and massive positivities of Mitsuda's reactions brought about by the administration of BCG, either of the lepromin tests performed before the vaccination (remote positivities), or of those made after the same, attention has been drawn upon the fact of the close concordance of this reaction with Mantoux tests. Of the 39 children treated with BCG, 36 reacted to the tuberculin test, 33 having shown definitely positive Mantoux' reactions, and 3 dubious. Of these 36 allergic children, 35 proved lepromin positive. On the 3 remaining cases, which stayed tuberculin negative (Mantoux at 1:10), Mitsuda's test was negative also. Thus, a nitid discordance between the two tests has been observed in one case only, where Mantoux' reaction was clearly positive, whereas Mitsuda's test stayed negative.

Considerations have been developed around the probable relation between these two reactions and the specificity of Mitsuda's test. In connection with this, the apparently contradictory aspect of the concordance and parallelism of the tuberculin and lepromin reactions has been emphasized, since the former expresses, in tuberculosis, a state of allergy, i.e., of hypersensitiveness, whereas the latter means, in leprosy, a state of immunity, i.e., resistance. Several plans of work have been suggested, in order to clarify the relations that eventually exist between these two biological tests. This matter will be returned to in future contributions.

The fundamental fact, of immediate practical interest, which should be emphasized, is the capacity shown by the BCC vaccination by oral, of developing the positivation

of Mitsuda's a test, quickly and massively, on children of minor age, including sucklings. This is a further, eloquent demonstration of the capacity of absorption of the BCG through the digestive tract, together with all the other, numberless proofs already accumulated by the Brazilian experience, of the efficiency of the technique of oral calmetization, in the antituberculous immunization.

In view of the notion, at the present time, in leprology, about the significance of resistance of the positive lepromin reaction, the Authors believe that the vaccination with BCG should be recommended for all children of leprous parents, to be performed during the very first days of life, with emphasis on the prophylactic importance of this measure.

RELATION IMMUNOBIOLOGIQUE ENTRE LA TUBERCULOSE ET LA LEPRE. INFLUENCE DU BCG ADMINISTRE PAR VOLE BUCCALE SUR LA REACTION DE MITSUDA.

Ce travail eat le premier d'une série qui a pour but la recherche de la relation emunobiologique entre la tuberculose et la lepra. On é est appliqué, en premier lieu, à etudier l'action positive du BCC our la réaction à la lépromine, chez lee enfants du Pensionnat Ste. Teresinha, Carapicuíba, dans l'Etat de Silo Paulo.

Dans ce but, on a inocule le BCG, par vole digestive, e 39 enfants, de un à dix-huit moios, file de lépreus, separe de leure parents des la naissance at toas négatifs à la réaction de Mantoux à 1:10 et it la lépromine.

Groupe A — Douze enfants ont reçu une dose unique de 0,10 g. de BCC. Neuf ant até sensibles à la tuberculina dens des délais variables. Chez 8 d'entre eux, In réaction à la lépromine, pratiquée 40 inure avant la vaccination et considérée negative au bout de 30 jours, é eat avé réa plus tard positive sous l'effet du BCG, entre lea 70e at 112e jours. Chez le 9e enfant, bless que l'on sit constate la sensibilité it la tuberculine, on n'a pas note d'action positive à retardement de la réaction de Mitsuda, pas plus que dans les trois nutres cas oil ne s'étaïi développée autuas allergic tuberculinique. Dane ces 4 can, une 2e reaction de Miteuda falte 49 jours apres la vaccination a eu un résuhât également négatif.

Le total des ens où l'ingestion du BCG a modifié lea rééultats de la réaction à la lépromine a done attoint, dens ce grupo d'enfants, la proportion de 66,66%.

Groupe B — 27 enfants ant reçu, pendant 28 jours, des doses journalières progressives de BCG arrivant au total de 1,19 g. L'allergie tuberculinique é eat declares chez tour à délais variables, la réaction de Mantoux étant indiscutablement positive chez 24 sujete, et douteuse chez trois. La réaction h la lépromine, pratiquée 40 joure avant le début de la vaccination at consideres negative spree 30 lours, éest, dane 25 cos, démontree positive sous l'effet du BCG, entre les 70e at 112e jours.

Une seconde réaction de Mitsuda falte 23 inure aprêe la fin de la vaccination a été positive dans taus lee can, inclus dans lee deus cas oft 11 n'y avant pas eu résultat positif à retardement de la réaction de Mitsuda pratiquée avant absorpion du BCG, de même que dens lee 3 cas où l'allergie tuberculinique éalt diecutable. En résumé, dens ce groupe, on a constate 100% de modifications de la réaction à la lépromine sous l'effet de l'ingestion du BCG.

On a constate une nette influence de la dose de BCG administree our la fréquence des modifications tardivee des réaction à la lépromine pratiquées avant la vaccination, afinnee que our le pourcentage das resultate positif e des reactions de Mitsuda en general et sur lour intensité.

Outro Is transformation massive at rapide de la réaction de Mitsuda provoques par l'adminietration du BCG, soli des reactions e la lépromine pratiquées avant la vaccination (rééultat positif tardif), soft de cellos faltes après vaccination, on a particulièrement note l'étruite relation de cette réaction avec cellos de Mantoux. Des 39 enfants ayant reçu le BCG, 36 oat reagi à la tuberculina et, parml eux, 33 ant presente des reactions de Mantous nettement positives, at 3, des reactions douteuses. De ces 36 enfants aller-giques, 35 ont donne des reactions positives à la lépromine. Dane les 3 cas restantes

restes insensibles e In tuberculine (Mantoux à 1:10), la réaction de Mitsuda, aussi, a été négative. Dans ces conditions, on n'a noté discordance absolue entre ces 2 réactions que dans un seul cas, où la réaction de Mantoux a été franchement positive tandis que celle de Mitsuda était restée négative.

Des discussions se sont ouvertes sur la relation probable entre ces 2 réactions et la spécificité de la réaction de Mitsuda. On a même en évidence, à ce propos, l'aspect apparemment paradoxal de la concordance et du parallélisme des réactions à la tuberculine et à la lépromine, du fait que les premières révélaient, dans la tuberculose, un état d'allergie, à dire, de sensibilité, alors que les secondes traduisent, dans la lèpre, un état d'immunité, c'est-à-dire, de résistance.

Diverses méthodes de travail ont été envisagées en vue de mieux déceler des relations qui peuvent exister entre ces 2 tests biologiques, et elles feront l'objet de publications à venir.

L'intérêt pratique immédiat, pour lequel on doit insister, est la capacité que prouve le BCG administré par voie buccale, de rendre positive la réaction de Mitsuda, rapidement et massivement, chez des enfants en bas âge, y compris de nourrissons; et ceci constitue une nouvelle affirmation éloquente de la capacité d'absorption du bacille de Calmette-Guérin, en sus des innombrables autres preuves déjà amoncelées par l'expérience brésilienne pour l'immunisation anti-tuberculeuse, en ce qui concerne l'efficacité de la technique de calmettisation par voie orale.

Devant la conception que l'on a actuellement, en léprologie, pour la valeur de résistance du test léprominique positif, les auteurs estiment que l'on doit recommander l'administration du BCG à tous les enfants lépreux, dès les premiers jours de leur vie, et insistent sur l'importance prophylactique de cette mesure.

REFERÊNCIAS

1. Azulay, R. D. — A ação do BCG sobre a reação lepromínica. O Hospital, XXXIV, 853, 1948.
2. Boncinelli, V. — Ricerche ed osservazioni sulla reattività cutanea dei lebbrosi alle cosiddette lépromine. Glom. Ital. de Derm. e Sifil., LXXVIII, 630, 1937.
3. Chaussinand, R. — Premunition Relative Antilepreuse par la Vaccination au BCG. Primeiro Congresso Internacional do BCG. Paris, 66, 1948.
4. Cummins, L. D. e Williams, E. M. — Cutaneous sensitivity to acid-fast bacilli in suspension. Brit. Med. Journal, I, 702, 1934.
5. Dubois — La reaction de Mitsuda. Bull. Soc. Pat. Exot., XXIX, 649, 1936.
6. Fernandez, J. M. M. — Estudio comparativo de la reaccion de Mitsuda con las reacciones tuberculínicas. Rev. Argentina de Dermatosisifilologia, XXIII, 425, 1939.
7. Fernandez, J. M. M. — Relaciones entre alergia tuberculosa y lepra. Duodécimo curso de perfeccionamiento de fisiologia. Cordoba, 141, 1943.
8. Fernandez, J. M. M. — Influencia del Factor Tuberculosis sobre la Reaction a la Lepromina. Rev. Argentino-Norteamericana de Ciencias Médicas, 5-6, 3, 1944.
9. Ginés, A. R., Poletti, J. G. — La Reación de Mitsuda en los vacunados con BCG. Hoja Tisiologica, V, 284, 1945.
10. Lara, C. P. — Mitsuda's skin reaction leprolin test in young children of leprosy parents. Observations on children from one to five years old. Month. Bulletin of the B. of health. Manila, XIX, 15, 1939.
11. Montañes, P. — La intradermoreaccion al bacilo de Hansen. Trabajos del Sanatorio Nacional de Fontilles, Espada, 55, 1934.

12. Negro, E. — Contribucion al estudio de la alergia en la lepra. Trabajos del Sanatorio Nacional de Fontilles, España, 179, 1934.
13. Rabello Jr. e Machado, J. C. — Aspectos da patogenia da lepra tuberculoide: A soro reação de Witebsky. Rev. Bras. de Leprologia, IV, 307, 1936.
14. Radna — Note sur la reaction de Mitsuda chez des sujets indemnes de lepre. Ann. de la Soc. Beige de Med. Trop., I, 63, 1938.
15. Rosemberg, J. — A Vacinação BCG em alérgicos. O Hospital, XXXV, 11, 1949.
16. Rosemberg, J. — Resultados da vacinação BCG no Brasil. Rev. Bras. Tuberculose, 124, 831, 1949.
17. Rotberg, A. — Some aspects of immunity in leprosy and their importance in epidemiology patogenesis and classification of forms of the disease. Rev. Bras. de Leprologia, V, 45, 1937.
18. Rotberg e Fleury de Oliveira — A reação de lepromina na tuberculose. Rev. Bras. de Lepr., V, 287, 1937.
19. Souza Campos, N. — O emprego da sulfona nos comunicantes Mitsuda negativos. Interpretação imunobiológica de sua ação positivante. Estudo do preventivo Sta. Teresinha. São Paulo. Rev. Bras. de Leprologia, XVI, 89, 1948.