

AGLUTININAS HETERÓFILAS NA LINFOGRANULOMATOSE DE NICOLAS — FAVRE

LUÍS DE SALES GOMES

Chefe da Sub-divisão de Microbiologia e Diagnóstico do Instituto Adolfo Lutz

MANOEL DE BRITTO E SILVA

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

As investigações de Forssmann¹ sobre a produção de hemolisinas anti-carneiro, fortes e específicas, independente da ação antigênica dos glóbulos de sangue deste animal, deve-se principalmente o conhecimento dos então chamados *anticorpos heterogenéticos*, aos quais Friedemann² posteriormente deu a denominação mais expressiva e hoje usual de *anticorpos heterófilos*. Estes anticorpos seriam, pois, segundo a definição de Davidsohn³, os capazes de reagir com antígenos inteiramente diversos e filogeneticamente não relacionados com a sua produção.

Os estudos iniciais sobre o assunto restringiam-se porem às lisinas, até que Fukuhara e Ando⁴, imunizando coelhos com glóbulos sanguíneos e com órgãos heterófilos, obtiveram, em títulos comparativamente altos, não lisinas, mas aglutininas para *B.typhosus*, *B.paratyphosus B.*, *B.psittacosis*, etc. ao mesmo tempo que com relação ao *Vibrião cholérico*, *B.coli*, *B.paratyphosus A.*, etc., nada notavam.

Trou-Hia-Hsu⁵, sem dúvida, fixou fatos mui interessantes sobre a matéria com o achado de que as aglutinações dos glóbulos de carneiro, quando em face de soros imunes heterólogos, estavam condicionadas ao envelhecimento dos glóbulos utilizados nas provas. A aglutinação começaria a revelar-se com glóbulos que estivessem guardados pelo menos 2 a 3 dias, ao passo que era negativa com glóbulos recentemente colhidos. Observou ainda que as aglutininas heterófilas são suscetíveis de ser fixadas por glóbulos de sangue de carneiro, frescos, velhos ou mesmo fervidos, e também com rim de cobaio.

Kritchvesky⁶, a seguir, focaliza o alto teor aglutinante do soro de coelho imunizado com eritrócitos de galinha, não só para os glóbulos desta ave, mas também para glóbulos de carneiro.

Outros autores como Friede e Gruenbaum⁷ e Kolmer e Toyama⁸, abordaram também o assunto, tendo encontrado, os primeiros — aglutininas heterófilas para eritrócitos de gato, em soro de coelho injetado com sangue de carneiro, verificando os últimos — que sais de arsênico e de mercúrio, dados em pequenas doses, podem aumentar a produção de aglutininas para eritrócitos e para *B.typhosus*.

Estudos posteriores trazidos à publicidade nestes últimos três lustros, muito concorreram no sentido de melhor esclarecer tão palpitante capítulo da imunologia.

Deicher⁹ encontra aglutininas heterófilas em indivíduos injetados com soro de cavalo e de carneiro e, depois de estudá-las com relação a glóbulos de carneiro, de cavalo, de coelho, de cobaio e de boi, chega à conclusão de que elas não pertencem aos anticorpos do tipo Forssmann, e que aglutininas e moléstia do soro nenhuma relação têm entre si.

A conclusão contrária, entretanto, chega Davidsohn¹⁰. Este autor, não só mostra a elevação do teor em hemolisinas e aglutininas no sangue de indivíduos injetados com soro normal ou imune de cavalo, elevação essa ainda muito mais sensível nos pacientes atacados de moléstia do soro, como também demonstra, com provas de absorção feitas com rim de cobaio, a natureza rigorosamente heterófila desses anticorpos que, evidentemente, representam a resposta à introdução de um antígeno heterófilo (soro de cavalo) no organismo humano.

Impressionados com tais estudos é que, depois, Paul e Bunnell¹¹ resolveram procurar anticorpos heterófilos em estados clínicos com sintomatologia mais ou menos semelhante à moléstia do soro. Assim, é que, examinando soros de doentes com reumatismo poliarticular agudo, veio-lhes às mãos, por mero acaso, o soro de um doente de mononucleose infecciosa, material este que logo despertou-lhes a atenção pelo seu alto teor em aglutininas para glóbulos de carneiro. A seguir, mais três amostras são estudadas, apresentando a mesma particularidade, isto é, alta concentração de aglutininas heterófilas. Casos clínicos os mais variados são, então, investigados com relação à presença de anticorpos dessa natureza. Nenhuma moléstia, porém, a não ser a moléstia do soro (aliás de fácil exclusão) apresentava, como a mononucleose infecciosa, altos títulos aglutinantes para glóbulos de carneiro.

Destarte, apareceu, como auxílio precioso ao diagnóstico clínico e hematológico, nem sempre fácil, da mononucleose infecciosa, a reação sorológica de Paul e Bunnell¹¹.

Bailey e Raffel¹², porem, demonstram a capacidade dos glóbulos de boi em absorver as aglutininas para glóbulos de carneiro encontradas nos soros de pacientes com mononucleose infecciosa; e sugerem que o uso dessa prova seja adicionado à Reação de Paul e Bunnell. Logo após estes autores, Stuart, Fulton, Ash e Gregory,¹³ verificam que os anticorpos para eritrócitos de carneiro, encontrados na mononucleose infecciosa, distinguem-se dos anticorpos humanos normais, pois que são absorvidos por eritrócitos de boi, conforme foi observado por Bailey e Raffel¹², não o sendo porem pelo rim de cobaio.

À técnica desses autores, logo depois, ajuntou Davidsohn¹⁴, outra modificação, tendente aliás a eliminar causas de erro representadas não só pelas aglutininas normais, como também pelas aglutininas encontradas em indivíduos injetados com soro de cavalo e sujeitos à moléstia do soro. E sugeriu então que, nos soros positivos, fosse feita a prova de absorção, ao mesmo tempo, com absorventes para as aglutininas do tipo Forssmann (rim de cobaio) e com absorventes para as aglutininas heterófilas da moléstia do soro e da mononucleose infecciosa (glóbulos de boi).

O rim de cobaio absorveria 50 a 70% e os glóbulos de boi 100% das aglutininas da mononucleose infecciosa, enquanto que as aglutininas heterófilas da moléstia do soro, seriam absorvidas totalmente por ambos os antígenos. Por outro lado, as aglutininas para glóbulos de carneiro, existentes em título médio de 1:20 no soro de pessoas normais, seriam totalmente absorvidas pelo rim de cobaio e parcialmente (média de 55%) pelos glóbulos de boi, por isso que elas se filiam ao chamado tipo heterófilo de Forssmann.

Alguns autores, como por exemplo Kagan¹⁵, pretendem que os títulos aglutinantes para glóbulos de carneiro, em pessoas normais, sejam muito mais altos do que se supõe.

Entretanto Stuart¹⁶ e colaboradores, mostraram que estes desencontros nos resultados publicados por esses autores, têm sua origem provável, na falta de uniformidade na designação do título final de diluição do soro e, também, na grande variação da concentração final dos glóbulos de carneiro empregados nas provas.

Alem disso, não seria de se desprezar na leitura das reações, a influência das chamadas "cold agglutinin", que os citados autores

focalizam como uma outra causa provavel da diversidade dos resultados. Estas "frigo-aglutininas" (como as chamaremos), geradas quando da permanência dos tubos da reação, na geladeira, concorreriam para falsear os resultados das provas, as quais, sob sua influência, poderiam atingir títulos mais altos do que os reais. A interferência delas, elevando os títulos, desapareceria, entretanto, com a precaução de, antes da leitura, manterem-se os tubos das reações cerca de 2 horas à temperatura de 37°C..

Finalmente, Barrett¹⁷, em recente publicação, entre outros fatos que assinala, insiste na influência consideravel que a variação térmica pode exercer sobre o título aglutinante do sôro.

NOTA À MARGEM

De passagem, devemos referir que, há vários anos, vimos acompanhando com especial interesse os estudos sobre a diagnôse da mononucleose infecciosa, quer em seu aspecto hematológico, quer sorológico. Esse interesse deu ensejo a que um de nós (M. Britto e Silva)¹⁸⁻¹⁹ em números anteriores desta REVISTA, publicasse um estudo sorológico de casos da moléstia observados esparsamente em nosso meio, e uma ligeira observação de casos residuais duma epidemia da moléstia verificada em 1940, na cidade de Mogi-Mirim, neste Estado.

Posteriormente, na segunda quinzena de Março, do ano em curso, (1942), justamente no período de transição estivo-outonal, tivemos, nós ambos, oportunidade de tambem esclarecer com provas de laboratório feitas neste Instituto, suspeitas clínicas dos distintos colegas do Hospital de Isolamento "Emilio Ribas", acerca de uma moléstia que, na ocasião, reinava epidemicamente em São Paulo, e que, na opinião de uns, seria gripe, na de outros, febre tifóide, paratifóide, etc..

Das provas de laboratório para logo realizadas, em materiais de cerca de 30 doentes que haviam sido removidos de vários pontos da cidade para o Hospital "Emilio Ribas", verificou-se tratar-se hematológica e sorologicamente de casos de mononucleose infecciosa. A primeira notícia dada então a respeito dessa epidemia de mononucleose infecciosa, foi a da Diretoria do Departamento de Saude do Estado, mandada publicar pelo Governo do Estado em todos os órgãos de imprensa da Capital, na data de 1/4/1942, e que era vasa-da no seguinte teor:

“Está grassando atualmente nesta Capital, sob forma epidêmica, uma moléstia infecciosa mais comum nos moços. Os principais sintomas iniciais são: arrepios de frio, forte dor de cabeça e febre.

Após um período febril de 14 dias em média, dá-se o aparecimento de enfartamento ganglionar. Além desta forma clínica há outra em que se observa unicamente a febre, que se prolonga por 2 semanas ou mais, acompanhada ou não de náuseas e perturbações intestinais.

Para o lado da pele, principalmente do tronco, observam-se por vezes máculas roseoliformes mais ou menos discretas. Baço quasi sempre aumentado de volume.

A Secção de Epidemiologia e Profilaxia Gerais tem sido reclamada frequentemente para remoções, como casos suspeitos de febre tifóide.

Dos doentes removidos para o Hospital de Isolamento “Emílio Ribas”, onde foram cuidadosamente observados sob o ponto de vista clínico, e pelo “Instituto Adolfo Lutz” nas pesquisas de laboratório, verificou-se que não se trata de febre tifóide e sim de casos de “Mononucleose infecciosa”.

Esta moléstia já vem sendo observada esporadicamente nesta Capital, tendo agora tomado caráter epidêmico.

Sob forma epidêmica tem sido observada em vários países, e, entre nós, ha dois anos verificou-se um surto na cidade de Mogi-Mirim.

O diagnóstico é geralmente firmado pelo leucograma, podendo ser auxiliado pela reação de Paul, Bunnell e Davidsohn.

A mortalidade é nula.”

Ao fim de 40 ou 50 dias, porem, o surto epidêmico de Mononucleose infecciosa cedeu, e, ao seu breve relato, neste trabalho, emprestamos tão somente um cunho accidental.

LINFOGRANULOMATOSE DE NICOLAS-FAVRE E AGLUTININAS PARA ERITRÓCITOS DE CARNEIRO

É claro que, apresentando sua excelente contribuição à diagnose sorológica da mononucleose infecciosa, em 1932, Paul e Bunnell¹¹ não deixaram de realizar, como parte integrante das suas observações, numerosas contra-provas em casos normais e em casos apresentando condições patológicas as mais diversas.

Nos soros de uns e de outros, porem, não encontraram títulos de aglutininas para eritrócitos de carneiro, mais expressivos, que os representados pelas diluições de soro a 1:16 e (em raríssimos)

a 1:32. Os casos clínicos experimentados foram os mais variados possíveis: tuberculose (15 casos), sífilis (6), reumatismo articular (12), infecções estreptocócicas (13), angina de Vincent (2), abscesso do fígado (1) infecções mistas (11), asma brônquica (4), condições mistas (11), anemia perniciosa (4), púrpura hemorrágica (2), leucemia linfática (2), leucemia mielógena (2), moléstia de Hodgkin (1).

A estas contra-provas, outras foram posteriormente juntadas por Bunnell²⁰, contendo os seguintes estados patológicos em que, também, as aglutininas heterófilas não eram encontradas em títulos superiores aos acima indicados: agranulocitose, leucemias linfática e mielógena (aguda e crônica), timoma maligno, linfo-adenose benigna, adenite sífilítica e tuberculosa. Ao todo, mais de 2.000 casos representando 76 condições clínicas diferentes, foram, por fim, examinados sorologicamente.

O fato de, em tão extensa lista, não constarem casos de linfogranulomatose de Nicolas-Favre — moléstia infecciosa, etiologicamente definida num vírus eminentemente linfotrope, cuja ação se reflete sobre todo o sistema retículo-endotelial — foi que nos induziu às pesquisas de que damos a seguir um relato pormenorizado.

TÉCNICA

Adotamos nas nossas investigações, uma técnica eclética, isto é, inspirada principalmente nos trabalhos de Davidsohn¹⁴, e de Stuart e colaboradores¹⁶.

Título do soro em aglutininas anti-carneiro — Série de 12 tubos de hemólise. No 1º tubo põem-se 0,4 cc. e nos seguintes 0,25 cc. de soluto fisiológico. Aos 0,4 cc. de sol. fisiológico do 1º tubo, junta-se 0,1 cc. do soro a examinar, inativado previamente a 56°C., 30'. Mistura-se bem a diluição do tubo nº 2. Mesma operação de mistura e de transferência de 0,25 cc. da mistura do tubo nº 2 para o nº 3, etc., até o tubo nº 12. Neste tubo nº 12, existem a mais, 0,25 cc. da diluição, que devem ser despresados. Um 13º tubo será acrescentado à série, como *controle*, devendo este conter apenas 0,25 cc. de soluto fisiológico, sem nenhum soro.

As diluições assim preparadas vão de 1:5 (1º tubo) a 1:10.240 (12º tubo).

Glóbulos de sangue desfibrinado de carneiro, previamente lavados por centrifugação 4 vezes em soluto fisiológico esteril, e, com

este soluto, recompostos em seu volume inicial, são deixados em repouso na geladeira durante 24-48 horas.

Prepara-se uma suspensão destes glóbulos a 2% em soluto fisiológico, distribuindo-se 0,1 cc. desta suspensão em cada um dos 12 tubos que contêm 0,25 cc. das diluições do soro e, também, no tubo 13 (test).

As diluições do soro passarão então a 1:7 no 1º tubo, 1:14 no segundo tubo e assim por diante, sempre em títulos dobrados. Por outro lado, os glóbulos de carneiro terão agora, em cada tubo, sua concentração diminuída de 2% para 0,57%.

Depois de bem agitados, são os tubos levados à geladeira até o dia seguinte.

Da geladeira, são passados para uma estufa regulada a 37°C., onde permanecerão 2 horas, após as quais dá-se início à leitura das aglutinações, tão rapidamente quanto possível.

Leitura dos resultados: — Os tubos são moderadamente agitados (4 a 5 vezes), observando-se, a olho nú, até em que tubo ainda existem flóculos aglutinados. Dos dois tubos seguintes ao último em que a aglutinação é ainda visível a olho nú, retira-se uma gota que é ligeiramente distendida sobre lâmina e examinada com fraco aumento ao microscópio.

Os resultados das aglutinações podem ser representados por sinais da maneira seguinte:

Macroscópica	{	+++ : Hematias em um só floco com fracionamento mínimo.
	{	++ : Floco que se fraciona em numerosos outros flóculos.
Microscópica	{	+ : Grupos de 10-15 hematias, invisíveis a olho nú.
	{	± : Grupos de 5-8 hematias

DOENTES

Os doentes que forneceram sangue para as provas de aglutinação dos eritrócitos de carneiro, apresentavam, uns, a forma inguinal clássica da Moléstia de Nicolas-Favre, outros, complicações dela, como sejam retite estenosante, fístulas ano-retais, etc.. A febre era sintoma freqüente nos doentes que tinham bubão inguinal.

Todos os doentes reagiram fortemente ao antígeno de Frei (pús inguinal humano) injetado intradermicamente, sendo esta reação realizada com duas amostras de antígeno humano de diferentes procedências.

Se o doente apresentava adenite purulenta, fazia-se o controle bacteriano do pús inguinal, semeando-se o material em meios comuns (agar, caldo) e em meio com sangue de coelho, próprio para *H. ducreyi*. Utilizado sob a forma de antígeno de Frei para diagnóstico, o pús, deu, sempre que experimentado, ótimos resultados em numerosos outros casos de quarta moléstia venérea.

Nenhum dos doentes portadores de gânglios inguinais enfiados ou purulentos, apresentava lesões ulcerosas do penis. Contudo, às vezes, a reação intra-dérmica de *Ito-Reenstierna* ("Piraducrey") era praticada, afim de eliminar pequenas dúvidas. Porém, mostrou-se ela sempre negativa.

Houve dois doentes portadores de infecção mista: quarta moléstia venérea e úlcera mole. Nestes, ambas as reações intradérmicas foram fortemente positivas, tendo-se ademais, encontrado o bacilo de Ducrey nas lesões ulcerosas existentes.

Houve igualmente um caso misto de poradenite inguinal e lues (primo-infecção venérea). Este caso apresentava supuração ganglionar na região inguinal esquerda e enfartamento à direita.

O tempo de moléstia era variavel nos nossos doentes: os portadores de gânglios inguinais enfiados ou supurados (geralmente homens) estavam doentes entre 20 dias e 3 mēzes; e os que apresentavam reñite, com ou sem estenose, fístulas ano-retais, etc., (geralmente mulheres), sofriam do mal desde 6 mēses até 15 anos.

Estes doentes, em sua maioria, não haviam ainda feito qualquer tratamento. Alguns dentre os mais antigos, entretanto, já tinham feito uso do iodeto de sódio na veia. Nenhum porem, havia tomado em época mais ou menos próxima, injeções de soro de cavalo ou de outro animal.

Os leucogramas de quasi todos os casos aqui relatados, não forneceram a mais leve sugestão referente a mononucleose infecciosa. Ao contrário disso, muitos deles, apresentavam um quadro hematológico visinho do normal.

Todos os pacientes eram suspeitos clinicamente de Moléstia de Nicolas-Favre e, ao procurarem o laboratório, dependiam somente do resultado da *reação intradérmica de Frei* para confirmação diagnóstica. Estas reações foram praticadas por um de nós no Laboratório do Hospital Central da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

RESULTADOS

Nossos resultados baseiam-se em 75 provas de aglutinação de eritrócitos de carneiro, feitas em soros de doentes de linfogranulomatose de Nicolas-Favre, sob vários aspectos clínicos.

Os quadros que damos mais adiante, indicam pormenores referentes à idade, sexo, tempo de moléstia, Reação de Frei, e, finalmente, aos títulos aglutinantes dos soros desses doentes.

Reduzindo-se, à sua frequência e porcentagem, os títulos dos 75 soros representados nos referidos quadros, verificam-se os seguintes números:

PROVAS NA LINFOGRANULOMATOSE DE NICOLAS-FAVRE

<i>Título</i>	<i>Frequência</i>	<i>%</i>
1:7	1 vez	1,33
1:14	6 vezes	8,00
1:28	11 "	14,66
1:56	9 "	12,00
1:112	17 "	22,66
1:224	14 "	18,66
1:448	7 "	9,33
1:896	5 "	6,66
1:1792	2 "	2,66
1:3584	2 "	2,66
1:7168	1 vez	1,33

Título médio de aglutinação: 1:296.

Para contra-provar a técnica posta em prática nas nossas pesquisas, dosámos as aglutininas anti-carneiro de 75 pessoas normais. Destes 75 soros normais, 50 foram colhidos de indivíduos que, seguramente, não tinham febre na ocasião e que nem a haviam tido pelo menos 60 dias antes da colheita do sangue. Nunca haviam tomado qualquer injeção de soro, e repartiam-se entre crianças, médicos e técnicos de laboratório. Os 25 soros restantes, foram escolhidos, sem distinção, dentre os enviados ao Instituto pelos Centros de Saude, afim de neles serem procedidas as reações sorológicas para lues.

Registamos abaixo, em frequência e porcentagem, os títulos alcançados por esses soros normais:

PROVAS EM INDIVÍDUOS NORMAIS

<i>Diluição</i>	<i>Frequência</i>	<i>%</i>
Negativo	3 vezes	4,00
1:7	7 "	9,33
1:14	14 "	18,66
1:28	33 "	44,00
1:56	16 "	21,33
1:112	2 "	2,66
1:224	0 "	0,00

Título médio de aglutinação: 1:30.

DISCUSSÃO

a) *Da parte técnica* — Muitas têm sido ultimamente as sugestões propostas por investigadores, no sentido de concorrer para o aperfeiçoamento da parte propriamente técnica da soro-aglutinação heterófila para glóbulos de carneiro.

Assim é que uns, procuram estabelecer títulos médios normais mais exatos; outros, computam pequenos detalhes de diluição de soro e de concentração de glóbulos; outros ainda, visam a parte econômica relativa ao material empregado; e outros, finalmente, procuram eliminar causas indiretas capazes de falsear os títulos.

Baseados em muitas dessas sugestões, foi que optámos pela técnica atraz indicada. Experimentada em soros normais, ela nos deu títulos aglutinantes médios, isto é, mais ou menos equidistantes das médias exageradamente altas de certos autores, e das muito baixas de outros. Além disso, em casos reconhecidos de moléstia do soro e de mononucleose infecciosa, temos aplicado esta técnica com ótimos resultados quanto à sua sensibilidade.

A propósito das variações a que ficam expostos os resultados, quando diferentes concentrações de glóbulos são usadas, devemos dizer que, tais variações, não foram por nós praticamente notadas ao empregarmos, comparativamente, suspensões de glóbulos a 2% e a 1%. Essas suspensões correspondiam, nos tubos, respectivamente, às concentrações finais de 0,57% e 0,285% de glóbulos. É possível que, somente concentrações variando em limites mais largos do que estes, possam exercer influência na variação do título aglutinativo de um mesmo soro.

N.º	Doente	Idade - sexo	Forma clinica	Tempo de molestia	R. de Frei	Título aglutinante para glóbulo de carneiro										
						1/7	1/14	1/28	1/56	1/112	1/224	1/448	1/896	1/1792	1/3584	1/7168
1	J. S.	31	fem.	Retite estenosante	—	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
2	A. D.	35	fem.	» »	11 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
3	E. A.	40	fem.	» »	14 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
4	M. A.	38	fem.	» »	±8 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
5	J. S.	36	fem.	» »	±8 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
6	M. F.	28	mas.	Adenite fistulada.....	4 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+
7	G. F.	26	mas.	Adenite inguinal	1 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
8	T. A.	42	mas.	Cicatriz inguinal antiga .	Ad. inguin.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
9	N. B.	23	mas.	Adenite bilateral.....	12 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
10	M. X.	33	fem.	Retite estenosante	30 d.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
11	R. E. J.	36	fem.	Retite estenosante	4 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
12	M. B.	38	fem.	Retite.....	8 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
13	F. S.	30	fem.	Adenite esq.....	1 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
14	R. A.	25	fem.	Ulceração inguinal crô-	12 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
15	B. O.	43	mas.	nica	45 d.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
16	B. M.	45	mas.	Adenite supurada.....	12 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
17	A. S.	30	fem.	Adenite bilateral fistu-	42 d.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
18	A. C.	47	fem.	lada	5 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
19	J. R. S.	31	fem.	Adenite bilateral supu-	6 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
20	A. G.	28	fem.	rada	2 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
21	B. S.	27	fem.	Retite estenosante	2 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
22	J. F. D.	23	mas.	Retite estenosante	3 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
23	E. C.	30	mas.	Adenite supurada.....	2 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+
24	M. M.	21	mas.	Adenite inguinal esquer-	1 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+
25	R. O.	38	mas.	da	1 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
26	S. L.	34	fem.	Adenite bilateral.....	1 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
27	A. P.	20	mas.	Adenite supurada.....	3 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
28	C. B.	27	mas.	Ulceração vag. crônica.	3 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
29	A. G.	28	fem.	Adenite supurada.....	40 d.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
30	L. C.	33	mas.	Adenite supurada.....	25 d.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
31	B. C.	22	mas.	Retite estenosante	2 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
32	D. G.	24	mas.	Adenite ing. dir. supu-	1 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
33	L. R.	27	fem.	rada	1 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
34	M. S.	29	fem.	Adenite supur. bilateral	3 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	±	±	±	±	±
35	J. A. O.	19	mas.	Adenite supurada.....	3 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
36	M. D.	31	fem.	Retite esten. fistulada..	8 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
37	D. M.	50	fem.	Ret. fist. ano. - ret.....	1 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+
38	P. D.	24	mas.	Adenite supurada.....	3 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
39	J. F.	48	mas.	Estenose retal	9 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
				Retite estenosante.....	alguns anos	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
				Adenite bilateral.....	25 d.	+++	+++	+++	+++	+++	+	±	±	±	±	±
				Adenite direita.....	—	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—

N.º	Doente	Idade - sexo	Forma clínica	Tempo de molestia	R. de Frei	Titulo aglutinante para glóbulo de carneiro -											
						1/7	1/14	1/28	1/56	1/112	1/224	1/448	1/896	1/1792	1/3584	1/7168	
40	M. T.	35	fem.	Retite estenosante	4 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
41	V. Z.	23	fem.	Físt. ano-retais	2 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
42	M. A.	48	fem.	Retite e ulc. vag.	15 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
43	T. M.	26	mas.	Lesão prep. e aden.	30 d.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
44	O. S.	25	mas.	Adenite ing. cicatrizada	Ha 1 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
45	B. S.	34	fem.	Estenose ret. e uretr.	1 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
46	M. S.	23	mas.	Adenite bilateral	3 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
47	Gustavo	23	mas.	Adenite supurada esq.	1 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
48	M. T.	28	mas.	Adenite bilat. supur.	2 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
49	M. F.	19	mas.	Adenite bilateral	8 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
50	D. R.	26	mas.	Cicatriz inguinal	Ha 4 a. teve Frei	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
51	L. L.	27	fem.	Estenose retal	1 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
52	J. B.	46	mas.	Retite	6 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
53	M. L.	24	mas.	Adenite supur. dir.	1 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
54	M. G.	23	mas.	Prisão de ventre	3 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
55	P. C.	43	mas.	Adenite supur. esq.	4 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
56	A. P.	21	mas.	Adenite supur. bilat.	35 d.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
57	J. D.	19	mas.	Adenite supur. esq.	30 d.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
58	I. G.	30	fem.	Fístulas peri-anais	8 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
59	O. C.	30	fem.	Retite	vários anos	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
60	D. D.	23	mas.	Aden. ing. dir. supur.	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
61	H. L.	26	mas.	Adenite bilateral	1 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
62	J. P.	17	mas.	Adenite ing.	20 d.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
63	O. S.	30	mas.	Adenite bilateral	12 d.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
64	C. L.	25	mas.	Adenite ing. esquerda	60 d.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
65	L. S.	28	mas.	Lesão margem do anus	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
66	O. D.	22	mas.	Adenite ing. esquerda	20 d.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
67	T. J.	18	mas.	Adenite ing. sup.	25 d.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
68	F. G.	32	fem.	Dór uterina com cofri- mento	3 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
69	E. A.	28	mas.	Adenite ing. dir.	3º d.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
70	B. B.	26	mas.	Adenite ing. dir.	30 d.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
71	M. V. S.	38	mas.	Adenite ing. esq.	18 d.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
72	J. M.	20	mas.	Adenite ing. esq.	3 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
73	C. P.	38	fem.	Retite	2 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
74	F. F.	18	mas.	Adenite ing. bilat.	3 m.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
75	M. G.	31	mas.	Perturbação intest. - Ci- catriz ing. antiga	Teve bubão ing. sup. ha 9 a.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

A ação das frigo-aglutininas (*cold agglutinin* de Landsteiner²¹) para cuja existência e reversibilidade em face do calor, neste tipo de provas, Stuart¹⁶ e colaboradores chamam a atenção, foi também por nós comparativamente examinada. Dessa pesquisa, pudemos constatar que, realmente, estas aglutininas geradas à baixa temperatura, podem concorrer para falsear o título do soro, elevando-o quasi sempre de uma diluição, e, às vezes, até de duas. Aliás, na técnica utilizada por nós, os falsos resultados devidos às frigo-aglutininas, desapareciam em face da incubação dos tubos a 37°C..

b) *Dos resultados* — Passando a considerar agora a questão dos títulos limites para soros humanos normais, vemos que este é, precisamente, um dos pontos mais controvertidos nas provas de hetero-aglutinações com eritrócitos de carneiro. Essa controvérsia filia-se, como vimos, à influência exercida por fatores vários, decorrentes todos de técnicas as mais diversas.

Para ilustrar o que acabamos de referir, transcrevemos aqui um quadro muito demonstrativo emprestado ao excelente trabalho de Stuart¹⁶ e colaboradores, e por onde se terá uma idéia nítida da diversidade dos valores normais atribuídos por alguns autores:

COMPARAÇÕES DOS TÍTULOS DE AGLUTININAS PARA GLÓBULOS DE CARNEIRO EM SOROS NORMAIS, SEGUNDO VÁRIOS INVESTIGADORES (STUART E COLABORADORES)

DEICHER		DAVIDSOHN		BUNNELL		STUART e col.		KAGAN	
Dil.	Neg. e Pos.	Dil.	Neg. e Pos.	Dil.	Neg. e Pos.	Dil.	Neg. e Pos.	Dil.	Neg. e Pos.
	%		%		%		%		%
Neg. muitos		Neg. — 7		Neg. — 40,7		Neg. — 0,00		Neg. — 0,00	
1:4 poucos		1:3,5 — 20		1:8 — 23,3		1:5 — 3,00		1:7 — 0,00	
		1:7 — 24		1:16 — 22,2		1:10 — 23,00		1:14 — 0,55	
		1:14 — 30		1:32 — 9,0		1:20 — 46,33		1:28 — 20,29	
		1:28 — 18		1:64 — 4,0		1:40 — 20,66		1:56 — 23,39	
		1:56 — 1		1:128 — 0,8		1:80 — 6,00		1:112 — 30,43	
						1:160 — 0,66		1:224 — 11,59	
						1:320 — 0,33		1:448 — 1,45	
								1:896 — 4,34	

Entretanto, se examinarmos detidamente este quadro, fazendo-se naturalmente abstração dos resultados que ocupam, de um

e de outro lado, seus extremos, vemos que ele sugere títulos limites de normalidade visinhos às diluições de 1:112. Atingiram, no máximo, essa diluição, 1 a 2% dos soros normais — o que representa uma causa de erro por assim dizer desprezível, principalmente se considerarmos as possíveis pequenas faltas decorrentes da seleção, mesmo rigorosa, de casos normais.

Vimos que o título de 1:112 foi atingido apenas por 2,66% dos nossos soros normais — o que aliás está mais ou menos de acordo com a maioria dos autores.

Passando entretanto, a considerar os soros colhidos de linfogranulomatosos, temos que eles atingiram, nesse mesmo título (1:112), a alta porcentagem de 22,66%. É pois razoável, que se deva pensar, que muitos desses 22,66% de soros tenham suas aglutininas aumentadas, mercê de uma influência estranha, isto é, no caso, mui provavelmente a moléstia de Nicolas-Favre, ou melhor, o seu virus.

Levando-se portanto, em consideração a diluição de 1:112, teremos, para os soros de linfogranulomatosos de Nicolas-Favre, a respeitável porcentagem de 64,00% de positividade.

Se, porem, desprezarmos como normal essa diluição (1:112), e só considerarmos bôa a diluição seguinte, isto é, 1:224, obteremos então, para os soros dos doentes, uma porcentagem de positividade equivalente a 41,33% — o que não deixa de ser, ainda assim, bastante expressivo.

Não menos expressivas são, também, as médias dos títulos de aglutinação verificadas nos soros. Para os soros normais essa média correspondeu à diluição de 1:30, enquanto que para os soros dos doentes ela elevou-se à considerável diluição de 1:296.

Devemos, de resto, focalizar um aspécto muito interessante das nossas observações: é o que se refere aos altos títulos por nós encontrados nos soros dos casos crônicos da moléstia. Referímo-nos aos doentes nº 10, 21, 40, 41, 42, 45, 51 e 73. Nestes 8 casos, os títulos aglutinantes variavam de 1:224 a 1:1792. O tempo de moléstia distribuía-se, entre eles, da maneira seguinte:

<i>Tempo de moléstia</i>	<i>Casos</i>
1 ano	2
2 anos	2
3 anos	1
4 anos	2
15 anos	1

Estes dados, destacados do conjunto das nossas observações, levam-nos a pensar numa possível interferência, lenta e contínua, do vírus da moléstia, na gênese dessas aglutininas heterófilas. Isso explicaria, talvez, a razão do encontro de tais aglutininas mesmo em alguns doentes já em franco estágio crônico da moléstia.

Estamos longe de pensar, entretanto, que o nosso achado de aglutininas heterófilas, em altos títulos, na Moléstia de Nicolas-Favre, possa invalidar a Reação sorológica de Paul e Bunnell¹¹, à qual, posteriormente, ajuntou Davidsohn¹⁴ provas de absorção que lhe deram ainda maior segurança diagnóstica.

Mas, por outro lado pensamos que, paralelamente à moléstia do soro, a hipótese da Linfogranulomatose de Nicolas-Favre deverá ser também considerada sempre que, praticando-se a 1.^a fase da reação para o diagnóstico da Mononucleose infecciosa, depararmos com altos títulos de aglutinação. Aliás, uma breve indagação anamnésica do doente, por si só, orientaria perfeitamente o clínico na interpretação da prova de laboratório.

Releva notar ainda que, no caso especial da Linfogranulomatose de Nicolas-Favre e de suas complicações, as crianças ficariam praticamente afastadas, incidindo nos adultos entre 18 e 45 anos de idade, mais ou menos, a maior frequência da moléstia.

Finalizando, diremos que, prosseguem as nossas investigações no sentido de identificar o tipo dessas aglutininas heterófilas. Para isso já iniciámos as provas de absorção com rim de cobaio, com glóbulos de boi e com o próprio vírus poradênico.

Os resultados dessas provas serão oportunamente comunicados.

RESUMO

Depois de fazerem uma síntese dos trabalhos publicados desde 1911 sobre anticorpos heterófilos, referem-se os A.A. à aplicação prática desses trabalhos na diagnóstico da Mononucleose infecciosa (Reação de Paul — Bunnell — Davidsohn).

Em nota à margem do assunto, relembram provas por eles realizadas no Instituto Adolfo Lutz, no sentido de esclarecer a epidemia que grassou em São Paulo, este ano, nos meses de Março e Abril, e transcrevem o comunicado oficial sobre essa epidemia, fornecido na ocasião pelo Departamento de Saude do Estado.

Relatam, a seguir, pesquisas de aglutininas heterófilas para eritrócitos de carneiro, por eles realizadas nos soros de numerosos doentes de Linfogramulomatose de Nicolas-Favre.

Justificando suas pesquisas, dizem os A.A. que, entre 76 condições clínicas diferentes, examinadas por vários autores, e nas quais os títulos aglutinantes eram baixos, não constavam casos de moléstia de Nicolas-Favre. E, no entanto, esta moléstia é produzida por um vírus eminentemente linfótropo, cuja ação se reflete sobre todo o sistema retículo-endotelial, como acontece na Mononucleose infecciosa.

Examinando soros de 75 linfogranulomatosos (adenite inguinal, retite estenosante, etc.), diagnosticados todos sob o ponto de vista clínico e alérgico (Reação de Frei), encontraram os A.A., com frequência, nesses soros, aglutininas anti-carneiro em altos títulos.

Tomando como título positivo mínimo, a diluição de 1:112, obtiveram 64% de aglutinações positivas.

Tomando como título positivo mínimo, a diluição de 1:224, obtiveram, ainda assim, a expressiva porcentagem de 41,33% de aglutinações positivas.

O título máximo encontrado foi de 1:7168. O título médio de aglutinação dos soros de linfogranulomatosos, foi igual a 1:296.

Contra-provaram sua técnica com 75 soros normais, dos quais apenas 2,66% atingiram o título de 1:112. Nenhum atingiu o título de 1:224. O título médio de aglutinação dos soros normais, foi igual a 1:30.

Demoram-se os A.A. em considerações sobre a parte técnica e sobre os resultados obtidos, focalizando depois um aspecto interessante das suas observações: os altos títulos aglutinantes encontrados nos soros de alguns doentes crônicos. Em 8 destes casos crônicos, cujo tempo de moléstia variava de 1 a 15 anos, acharam títulos entre 1:224 e 1:1792. Estas observações parecem indicar uma possível ação, lenta e contínua, do vírus poradênico.

Os A.A. dizem que estão longe de pensar que o seu achado possa invalidar a Reação de Paul e Bunnell, à qual, posteriormente, juntou Davidsohn provas de absorção que lhe deram ainda maior segurança diagnóstica.

Mas, por outro lado, acham que, paralelamente à moléstia do soro, a hipótese da Linfogranulomatose de Nicolas-Favre deverá ser também considerada sempre que, praticando-se a 1.^a fase da

reação para o diagnóstico da Mononucleose infecciosa, depararmos com altos títulos de aglutinação. Aliás, uma breve indagação anamnésica do doente, por si só, orientaria perfeitamente o clínico na interpretação da prova de laboratório.

Salientam ainda que, no caso especial da Linfogramulomatose de Nicolas-Favre, as crianças ficariam praticamente afastadas, incidindo a maior frequência da moléstia, nos adultos entre 18 e 45 anos de idade.

Dizem finalmente os A.A. que, prosseguem suas investigações no sentido de identificar o tipo dessas aglutininas heterófilas. Para isso já iniciaram as provas de absorção com rim de cobaio, glóbulos de boi e com o próprio virus poradênico.

Os resultados dessas provas serão oportunamente comunicados.

SUMMARY

Having made a synthesis of the works published since 1911 on heterophile antibodies the A.A. point out the practical application of such works on the diagnosis of the infectious mononucleosis (Paul — Bunnell — Davidsohn Reaction).

The A.A. recall the tests done by them in the Instituto Adolfo Lutz, in a effort to throw light on an epidemic proved by them to be infectious mononucleosis, which occurred in São Paulo (Brasil), this year, in April and May, and quote the official note on such epidemic published at that time by the Public Health Department.

Next they report the researches on heterophile agglutinins for sheep erythrocytes which they did on the sera of a number of lymphogramulomatosis (Disease of Nicolas-Favre) patients.

Justifying their research, the A.A. say that amongst 76 different clinical conditions examined by various authors and in which the agglutination titres were low, there were not included cases of Nicolas-Favre diseases. Yet such disease is caused by an eminently lymphotropic virus which, therefore, affects the reticulo-endothelial system, as happens in the infectious mononucleosis.

Testing the sera of 75 lymphogramulomatosis patients (inguinal adenitis, stenosing rectitis, etc.), all of them diagnosed clinically and allergically (Frei's Reaction), the A.A. met with, frequently in these sera, anti-sheeps agglutinins in high titre.

Taking as positive reactions the agglutinations occurring in dilutions of 1:112 they obtained 64% positive agglutination. And

taking as positive reactions the agglutinations occurring in dilutions of 1:224, they still obtained the expressive percentage of 41,33% positive agglutination. The highest serum dilution with positive agglutination was 1:7168. The average titre of agglutination for the sera in lymphogranulomatosis was 1:296.

The technic was controlled with 75 normal sera out of which only 2,66% gave positive agglutination, in dilution as high as 1:112. None gave a positive reaction with dilution of 1:224. The average positive agglutination titre for normal sera was 1:30.

Next the A.A. deal with the technic and the results obtained laying stress on agglutination titres met with in the sera of some of the chronically diseased patients. In 8 of such chronic cases of lymphogranulomatosis whose disease lasted from 1 to 15 years, agglutination was between 1:224 and 1:1792. Such reactions seem to indicate a slow and progressive action of the poradenic virus.

Far from the A.A. to think that their findings might render useless the Paul and Bunnell's reaction, to which, lately, Davidsohn added the absorption test, giving it surer diagnostic value. But on the other hand they think that alongside the serum disease the hypothesis of lymphogranulomatosis of Nicolas-Favre ought to be considered when, on performing the first phase for the diagnosis of infectious mononucleosis, we meet high agglutination titres.

Usually a brief inquiry on the patients condition is sufficient to help interpretation of the laboratory tests.

Besides they lay stress on the fact that, concerning the lymphogranulomatosis of Nicolas-Favre, children are practically excluded since the disease occurs mainly between the ages of 18 and 45.

Finally the A.A. say that they are still trying to ascertain the type of these heterophile agglutinins. For that, they have already began the absorption tests with guinea-pig kidney, ox erythrocytes and the virus itself. The results of these researches will be published later on.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — FORSSMANN, J. — 1911, *Biochem. Ztschr.*, 37, 78.
- 2 — FRIEDEMANN, U. — 1917, *Biochem. Ztschr.*, 80, 333.
- 3 — DAVIDSOHN, I. — 1927, *Arch. of Path.* n.º 4, 776-806.

- 4 — FUKUHARA, Y. e ANDO, J. — 1914, *Ztschr. f. Imm. und. Exp. Therap.*, 22, 631
- 5 — TROU-HIA-HSU — 1922, *Ztschr. f. Imm. und Exp. Therap.*, 34, 507.
- 6 — KRITCHEVSKY, I. L. — 1923, *Ztschr. f. Imm. und Exp. Therap.*, 36, 1.
- 7 — FRIEDE, K. A. e GRUENBAUN, F. F. — 1925, *Imm. u. Exp. Therap.*, 44, 314.
- 8 — KOLMER, J. A. e TOYAMA, I. — 1918, *J. of Imm.*, 3, 326.
- 9 — DEICHER, H. — 1926, *Zeitschr. f. Hyg.*, 106, 561.
- 10 — DAVIDSOHN, I. — 1929, *The Journ. of Imm.*, 16, 259.
1930, *The Journ. of Imm.*, 18, 31.
1933, *The Journ. of Inf. Dis.*, 53, 219.
- 11 — PAUL, J. R. e BUNNELL, W. W. — 1932, *Am. Journ. of Med. Sc.*, 183, 90.
- 12 — BAILEY, G. H. e RAFFEL, S. — 1935, *J. Clin. Investigation*, 14, 228.
- 13 — STUART, FULTON, ASH e GREGORY — 1936, *Journ. Inf. Dis.*, 39, 70.
- 14 — DAVIDSOHN, I. — 1937, *The Journ. of the Amer. Med. Assoc.*, 108, 289.
- 15 — KAGAN, N. W. — 1931, *Ztschr. f. Imm. u. Exp. Ther.*, 72, 20.
- 16 — STUART, C. A. e col. — 1934, *Arch. of Internal Med.*, 54, 199.
- 17 — BARRETT, A. M. — 1941, *Journ. of Hygiene*, 41, 330.
- 18 — M. BRITTO E SILVA — 1941, *Revista do Inst. Adolfo Lutz*, 1, n.º 1, 160.
- 19 — M. BRITTO E SILVA — 1942, *Revista do Inst. Adolfo Lutz*, 2, n.º 1, 42.
- 20 — BUNNELL, W. W. — 1933, *The Amer. Journ. of Med. Sc.*, 186, 346.
- 21 — LANDSTEINER, K., e LEVINE, P. — 1926, *Journ. Imm.*, 12, 441.