

# PROVA DA ESPOROTRIQUINA. CONTRIBUIÇÃO PARA SEU ESTUDO (\*)

RAYMUNDO MARTINS CASTRO (\*\*)

## CAPÍTULO I

### INTRODUÇÃO. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A esporotricose é moléstia extremamente comum em nosso meio.

PUPPO (1920) já chamava a atenção para a freqüência com que ocorre essa micose em São Paulo, verificando naquela época que já eram conhecidos 76 casos no Serviço de Pele e Sífilis da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

SAMPAIO & colab. (1954) referem que 0,5% dos doentes que procuram o Ambulatório da Clínica Dermatológica do Hospital das Clínicas são portadores de esporotricose.

A moléstia em sua manifestação típica e mais comum, isto é, a cutâneo-linfática, é bastante característica e não apresenta dificuldade para o seu diagnóstico. São, contudo, também bastante freqüentes formas clínicas outras, atípicas e que exigem para seu diagnóstico preciso e conseqüente terapêutica específica o emprêgo de recursos laboratoriais. A pesquisa direta do agente etiológico na lesão, apesar do progresso das técnicas micológicas, ainda é método pouco prático e inseguro. O melhor recurso para o diagnóstico da esporotricose, no laboratório, ainda é o cultivo do material da lesão, para isolamento do fungo. Este método não é infalível, pois é sabido que culturas negativas não invalidam o diagnóstico de esporotricose (DE BEURMANN, 1909; PUPPO, 1917). No decorrer

---

(\*) Tese de doutoramento apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Aprovada com distinção.

(\*\*) Assistente — Instituto de Medicina Tropical — Departamento de Microbiologia e Imunologia (Dir.: Prof. Dr. Carlos da Silva Lacaz), e Médico — Instituto Adolfo Lutz — Diretoria de Microbiologia e Diagnóstico (Dir.: Dr. Luís de Salles Gomes).

Recebido para publicação em 13 de abril de 1960.

das experimentações que serão expostas no presente trabalho tivemos, também, oportunidade de verificar que, várias vezes, apesar de cuidadosa técnica usada no exame, não foi possível obter o fungo em cultura. Esse fato, por si só, justifica, a nosso ver, o estudo de outras provas para o diagnóstico da esporotricose.

Há vários anos vimos estudando, sob orientação do Prof. Carlos da Silva Lacaz, a prova intradérmica com antígenos preparados a partir do *Sporotrichum schencki*,<sup>(1)</sup> prova conhecida na literatura médica com o nome de esporotricosina ou esporotriquina. Foram nossos propósitos primordiais nesse estudo:

- 1) avaliar, à base de experimentação suficientemente grande, o real valor dessa prova como método de diagnóstico da moléstia, dado que os trabalhos existentes na literatura são escassos, feitos com casuística pequena e, até certo ponto, discordantes;
- 2) contribuir para o melhor conhecimento da imuno-alergia desta micose, principalmente a questão da possibilidade da existência de "esporotricose-infecção".

O presente trabalho, como se depreenderá de sua leitura, é em sua maior parte dedicado ao estudo da reação à esporotriquina em pacientes portadores de esporotricose, atual ou pregressa, e isso deve-se ao fato de ter sido necessário o estudo de numerosos casos (66), para que pudéssemos padronizar os antígenos preparados. Inicialmente, tentamos fazê-lo em cobaios com esporotricose experimental e, mais recentemente, em ratos brancos. Ambos, em nossas mãos, deram resultados inseguros, motivo pelo qual foram abandonadas as tentativas de padronização em animais de laboratório.

MACKINNON & colab. (1953) chegaram a conclusões semelhantes, tentando padronizar a esporotriquina-filtrado em cobaios.

#### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As referências existentes sobre a esporotriquina são escassas.

Os primeiros estudos datam do início deste século, sendo o assunto abordado com 3 técnicas distintas.

DE BEURMANN & GOUGEROT (*in* DE BEURMANN, 1909a) iniciaram seus estudos fazendo uma cutirreação, a qual foi abandonada

---

(1) Usaremos no presente trabalho a notação recomendada pelo Medical Research Council (1958).

por ter fornecido resultados duvidosos ou negativos, fato êsse confirmado por SICARD & GOUGEROT (1908).

Retomaram o assunto posteriormente, fazendo, não mais cutir-reação, mas sim intradermo-reação. A técnica e os resultados a que chegaram são extensamente discutidos em sua clássica monografia (DE BEURMANN & GOUGEROT, 1912).

CHOPIN (1910) estudou o assunto sob orientação dos dois Autores supracitados, tendo sido sua técnica de trabalho idêntica a de seus mestres.

Os antígenos usados por DE BEURMANN & GOUGEROT (1912) e por CHOPIN (1910) eram preparados filtrando culturas em fase filamentosa de *Sporotrichum schencki*, sendo o grau de concentração do mesmo avaliado por contagem dos esporos em hemátimetro. Expressam-na em cifras, 50, 100, 250, etc., as quais significam o número médio de esporos encontrados à contagem, nos retângulos do hemátimetro de MALLASSEZ.

Os resultados obtidos com a intradermo-reação são apresentados no trabalho de CHOPIN (1910) e referem-se à sua casuística, bem como às de DE BEURMANN, GOUGEROT & VERDUN, RAVAUT & VERDUN e GOUGEROT. Estudou 6 casos de esporotricose, sendo a reação positiva em todos. Em portadores de outras micoses, obteve reações positivas e negativas. Atribui as reações positivas à sensibilização cruzada com outros fungos. Particular importância é dada à presença de *Sporotrichum* e de leveduras vivendo saprofiticamente no trato digestivo, como agentes sensibilizantes à esporotriquina. Em pacientes portadores de afecções não micóticas, encontrou, se bem que raramente, reações positivas. Não apresenta nenhuma hipótese para interpretar o fato. Consta também da casuística de CHOPIN (1910) intradermo-reação negativa (repetida duas vezes) em indivíduo curado de esporotricose há 2 anos.

CHOPIN (1910) e também DE BEURMANN & GOUGEROT (1912) julgando o valor da intradermo-reação, como método de diagnóstico, crêem que somente a reação negativa tem valor, permitindo afastar o diagnóstico de esporotricose.

Ainda na França, o assunto foi estudado por PAUTRIER & LUTEMBACHER (1909, 1909a) os quais usaram como antígeno suspensão salina de cultura em fase filamentosa, mortos os germes por aquecimento a 110° C. O antígeno assim preparado era injetado na quantidade de 0,5 cm<sup>3</sup> por via subcutânea. Nos indivíduos que

reagiram positivamente, notaram reação local, geral e focal. Com sua subcutirreação diagnosticaram esporotricose em paciente no qual as culturas haviam sido negativas (PAUTRIER & LUTEMBACHER, 1909a).

Após a prova, repetidas as sementeiras, foi, então, obtido o isolamento do fungo. É, sem dúvida, o primeiro caso registrado na literatura, no qual o diagnóstico de esporotricose foi feito por alérgo-reação. Nessa comunicação relatam também que, praticada a reação em 13 testemunhos, 11 nada apresentaram e 2 tiveram "reações esboçadas". O 14.º reagiu violentamente; é o que motivou a comunicação. Tinha o diagnóstico de lúpus, mas posteriormente revelou-se ser esporotricose. Nessa mesma comunicação, PAUTRIER & LUTEMBACHER (1909a) dizem pretender continuar seus estudos, tanto com a subcutirreação, como com a intradermo-reação. Ao que parece não prosseguiram suas investigações pois, pesquisas ulteriores desses Autores não foram por nós encontradas.

BERTIN & BRYANT (1910) referem reação positiva em caso de esporotricose gomosa devido à inoculação acidental de laboratório. Usaram antígeno isento de elementos figurados.

BLOCH em 1909, na Suíça, apresentou à Sociedade Médica de Basileia, observação de caso de esporotricose disseminada aguda, no qual obteve cutirreação positiva, observação essa que foi apresentada, em resumo, por DE BEURMANN & GOUGEROT (1909), na Sociedade Francesa da Dermatologia. A observação de BLOCH despertou interesse nos meios franceses, e foi após sua divulgação que DE BEURMANN & GOUGEROT (1909) iniciaram suas pesquisas e orientaram o trabalho de CHOPIN (1910).

Após a publicação da clássica monografia de DE BEURMANN & GOUGEROT (1912), o assunto caiu praticamente no esquecimento, não tendo aparecido, até 1947, na literatura, trabalhos que versassem sobre a reação. Encontramos, nesse período, quase somente referências a casos isolados de esporotricose no qual foram feitas reações à esporotriquina. Tais são entre outros, os de MOORE & DAVIS (1918), RAY & ROKWOOD (1942), SMITH (1945) e LEIBY & colab. (1945). Nesse período, existem somente referências isoladas à prova da esporotriquina, feita geralmente com o propósito de complementar observações clínicas.

DU TOIT (1942) ao relatar o extenso surto de esporotricose nas minas do Witwatersrand faz ligeira referência à esporotriquina, dizendo ser ela regularmente positiva nos casos de esporotricose.

Cita também que, num voluntário, propositadamente infetado, a reação foi positiva 5 dias após a infecção. Julga que uma reação negativa exclui o diagnóstico de esporotricose.

SMITH (1945) estudando 4 casos atípicos fez esporotriquina num dêles, com resultado positivo.

GELBER (1946) obteve reação positiva em caso de esporotricose do dedo indicador; SHAFFER & ZACKHEIM (1947) referem reação positiva, num caso, 5 meses após a cura.

GONZALEZ-OCHOA & SOTO FIGUEIROA (1947) publicam trabalho fundamental sôbre o assunto. Obtiveram substância de natureza polissacarídica, extraída de cultivos do *Sporotrichum schencki* em meio líquido e com êsse antígeno, diluído a 1/1.000, efetuaram provas intradérmicas e de precipitação. A prova cutânea foi feita em 18 casos de formas variadas de esporotricose, obtendo reações nitidamente positivas em 17 dêles. Num caso, de esporotricose generalizada, a prova foi negativa. Não verificaram reações positivas em outros casos, de afecções dermatológicas diversas, inclusive micoses outras (micetomas, cromomicose e dermatofitose). Concluem, com referência à reação cutânea, que a mesma parece ter valor diagnóstico em casos de esporotricose. GONZALEZ-OCHOA (1959) refere que em centenas de casos na qual a reação foi usada, mostrou-se específica e também que a positividade desaparece alguns meses após a cura. É largamente usada no México (LAVALLE, 1959).

JANKE (1948), num caso de esporotricose por *Sporotrichum gougeroti*, obteve reações negativas tanto com antígeno preparado com o fungo isolado do paciente, como com esporotriquina de *Sporotrichum schencki*.

LEIBY & colab. (1950), revendo os casos de esporotricose ocorridos no Estado de New York, relatam mais 2 casos nos quais fizeram a prova, sendo ela positiva. Nos comentários julgam que a reação é valioso recurso auxiliar no diagnóstico precoce, devendo ser empregada como complemento às culturas.

KATZENSTEIN (1950), estuda 2 casos de esporotricose nos quais foi feita reação com 4 antígenos, a saber: histoplasmina, blastomicetina, coccidioidina e esporotriquina. A esporotriquina foi positiva em ambos, sendo que num dêles foi também positiva a reação à blastomicetina. A esporotriquina em casos de outras micoses foi, na pequena série estudada, negativa.

LOEWENTHAL & colab. (1950) obtiveram reação positiva à esporotriquina num caso de esporotricose dermo-epidérmica. CONANT

(1950) estudando o diagnóstico de laboratório das micoses, julga que a prova é destituída de valor diagnóstico, opinião essa não emitida posteriormente (CONANT & colab., 1954).

THOMAS & colab. (1951), estudando 1 caso tratado por febre artificial, relatam que a prova com esporotriquina foi negativa e com "vacina" foi positiva. Não apresentam esclarecimentos sobre o que entendem por "vacina" e por esporotriquina. SHOEMAKER & colab. (1957) referem reação positiva num caso de leptomeningite por *Sporotrichum schencki*, usando como antígeno suspensão do fungo em sua fase filamentosa, preparado com amostra isolada do *liquor* do paciente; ARTHUR & ALBRITAIN (1958) registraram reação positiva num caso de esporotricose disseminada, utilizando o antígeno de GONZALEZ OCHOA; LATAPI & colab. (1959) mostram reação positiva, utilizando o mesmo antígeno num caso, tratado pela Griseofulvina.

WILSON (1959) fazendo apreciação sobre os testes intradérmicos nas micoses, refere-se à esporotriquina como prova de boa especificidade, muitas vezes útil para o diagnóstico.

Deixamos, propositadamente, para o final, a análise da literatura nacional sobre o assunto. Conquanto pouco citada no estrangeiro, nela encontramos vários trabalhos sobre o tema. Tomou êle desenvolvimento em nosso meio, em torno de 1949-1950, época na qual o Prof. Carlos da Silva Lacaz preparou numerosas partidas de esporotriquina, distribuindo-as a diversos dermatologistas e microbiologistas brasileiros, vários dos quais apresentaram e publicaram suas observações a respeito. SILVA & GONÇALVES (1950) estudaram 10 casos de esporotricose comprovados por cultura, sendo em todos a reação positiva. Num paciente, 1 ano após a cura clínica, a reação ainda se mostrava positiva. Fazendo, em portadores de esporotricose, provas com tricofitina e levedurina, obtiveram reações de grupo, sendo contudo notável a diferença entre a intensidade. Em 9 de 10 doentes a reação foi fortemente positiva (+++ ou mais o que, na notação dos Autores significa reação local com 25 ou mais mm) e num deles a reação foi positiva (++) , com reação local de 15-25 mm. Em portadores de outras micoses obtiveram 11 resultados negativos, 8 resultados fracamente positivos (+), reação local com 5-15 mm e 1 positivo (++) , reação local com 15-25 mm, o qual numa segunda prova passou a fortemente positiva (++++) , reação local de 35-50 mm. Interpretaram o fato como de alergia específica à esporotriquina, determinada por infecção anterior, reativada pela segunda prova.

Em 1953, a Sociedade Brasileira de Dermatologia e Sifilografia incluiu entre os temas oficiais de sua X Reunião Anual, a esporotricose. Foram então, apresentadas várias comunicações versando sobre a reação à esporotriquina.

LACAZ & colab. (1953) apresentaram à referida reunião o resultado de suas observações sobre a prova da esporotriquina.

Sendo êsse trabalho o mais extenso, com maior casuística, da literatura nacional, não tendo sido posteriormente publicado e também como o nosso é, até certo ponto, uma continuação do mesmo, julgamos útil e interessante resumi-lo.

LACAZ & colab. (1953) estudaram 3 tipos de antígeno, a saber: antígeno preparado a partir do *Sporotrichum schencki* em fase filamentosa; antígeno da fase leveduriforme ou em "naveta" e antígeno polissacarídico obtido segundo a técnica de GONZALEZ-OCHOA & SOTO FIGUEIROA (1947). Os dois primeiros tiveram sua concentração padronizada no tubo 5 da escala de Mac Farland. A técnica exata do preparo desses antígenos está exposta, com minúcia, no Capítulo II dêste trabalho, exceto a do polissacarídeo, em cujo preparo foram seguidas as indicações dos Autores.

Êsses antígenos foram experimentados em 65 casos de esporotricose em atividade, dos quais 58 haviam sido diagnosticados por isolamento do fungo; nos 7 restantes o diagnóstico foi clínico; em 2 houve tentativas de isolamento que resultaram negativas e nos outros 5, não. Em alguns casos foi feita injeção de um único tipo de antígeno, em outros concomitantemente de 2 ou de 3. O Quadro I resume a maneira como se distribuíram os pacientes em relação ao tipo de antígeno usado.

QUADRO I

ESPOROTRICOSE (N.º de casos)	F	N	F e N	Polissacarídeo associado a F e N
65	45	4	7	9

F = Antígeno de fase filamentosa

N = Antígeno de fase em naveta

Em todos, a prova foi positiva, as reações variando em intensidade, conforme descreveremos adiante. Em 2 casos obtiveram reações positivas com as esporotriquinas filamentosa e leveduriforme e negativa com o polissacarídeo.

Provas realizadas em pacientes portadores de outras micoses deram os resultados que se encontram no Quadro II.

QUADRO II

	TOTAL	PROVAS POSITIVAS	PROVAS NEGATIVAS
Blastomicose sul-americana .	27	6	21
Actinomicose .....	6	0	6
Cromomicose .....	2	1	1
Favo .....	2	0	0
Dermatofitose .....	1	1	0

Em todos êsses pacientes, a reação foi praticada com o antígeno de fase filamentosa, exceto 4 casos de blastomicose sul-americana nos quais foi feita, concomitantemente, a prova com os antígenos F e N. Nestes 4 casos a reação foi negativa com ambos.

Estudaram também a prova em portadores de afecções variadas e os resultados estão relacionados no Quadro III.

QUADRO III

	TOTAL	PROVAS POSITIVAS	PROVAS NEGATIVAS
Leishmaniose tegumentar ..	20	1	19
Ulcerações de etiologia di- versa, não micótica .....	4	1	3
Eczema .....	5	0	5
Ictiose .....	1	0	1
Elefantíase .....	2	0	2
Seborréia .....	2	0	2
Piodermite .....	1	0	1
Osteomielite .....	2	0	2
Dermite por hipostase .....	1	0	1
Lipóido-proteinose .....	1	0	1
Tuberculose verrucosa .....	2	0	2
Tuberculose ganglionar .....	1	0	1
Epitelioma .....	1	0	1
Lúpus vulgar .....	1	0	1
Paquidermite erisipelatosa crônica .....	1	0	1
Moléstia de Nicolas-Favre .	1	0	1
Mal perfurante plantar ...	1	1	0

Total de provas realizadas — 47

Provas negativas — 44

Provas positivas — 3



A reação com o antígeno N, em 24 indivíduos normais, foi negativa em 19 casos, duvidosa em 1, fracamente positiva em 3 e fortemente positiva em 1.

Seis pacientes curados de esporotricose foram estudados com os antígenos F e N e todos reagiram positivamente a ambos. O tempo de cura variou de 6 meses a 2 anos. Foram feitas, também, reações intradérmicas com solução de mertiolato a 1/10.000 por ser esse antisséptico empregado, nessa concentração, como diluente dos antígenos. Executadas 99 provas, resultaram tôdas negativas.

O critério de leitura da reação empregado por LACAZ & colab. (1953) é muito próximo ao que usamos, razão pela qual não o expomos aqui.

Finalmente, das conclusões a que chegaram os Autores naquela época, salientamos as seguintes, que julgamos as principais:

- 1) A esporotriquina filamentosa e em naveta constituem bons antígenos para o diagnóstico da esporotricose.
- 2) Reações de grupo podem ser observadas em outras micoses, sendo tais provas de intensidade menor que as registradas em casos de esporotricose.
- 3) A prova da esporotriquina com antígenos F e N parece ser superior à efetuada com o polissacarídeo.
- 4) A esporotriquina deve ser praticada principalmente nos casos de diagnóstico diferencial difícil, tais como esporotricose e leishmaniose, esporotricose e tuberculose verrucosa.
- 5) O preparo da esporotriquina abre possibilidades para o estudo de diversos problemas referentes à imunobiologia da esporotricose.
- 6) Novos estudos deverão ser feitos com a tentativa de melhor padronizar a esporotriquina.

Outras comunicações foram feitas como citamos a seguir.

GONÇALVES & CARVALHO (1954) estudaram o comportamento da prova em 33 portadores de esporotricose, 55 de outras micoses e em 94 de dermatoses diversas. Os portadores de esporotricose (atual ou pregressa) reagiram, de modo geral, fortemente à esporotriquina; não ocorreram reações negativas. Em portadores de micoses diversas, obtiveram reações positivas, geralmente fracas, em 27 pacientes e negativas em 28. Nos portadores de dermatoses

diversas, 35 reações foram positivas (fracamente) e 59 negativas. Efetuaram a reação em 3 pacientes curados de esporotricose (um há 1 mês e dois há 1 ano) sendo em todos, a reação positiva. Julgam que uma prova negativa parece excluir a possibilidade de esporotricose, sendo contudo limitado o valor da prova como meio de diagnóstico, devido à ocorrência de reações positivas em outras afecções.

GONÇALVES & CARVALHO (1954) fizeram seus estudos com antígenos preparados pelo Prof. Carlos da Silva Lacaz, a partir das fases filamentosa e leveduriforme do *Sporotrichum schencki*. Em pacientes nos quais fizeram a reação com os dois antígenos, não notaram diferenças significativas entre as respostas a um e outro.

PEREIRA (1955) trabalhou com o antígeno da mesma procedência, usando somente aquele preparado a partir da fase filamentosa; estudou 22 pacientes de esporotricose, 19 com a moléstia em atividade e 3 curados. Em todos, a reação foi positiva. Em 5 dos 19 pacientes a reação foi repetida após a cura, mantendo-se positiva. Obteve reações positivas em 2 portadores de levedurose e em 4 de dermatoses diversas. Conclui, julgando que a esporotriquina representa valioso recurso auxiliar no diagnóstico precoce dessa micose, embora não possa se sobrepor à cultura.

MIRANDA & colab. (1955, 1955a) estudaram também a reação à esporotriquina, focalizando-a, contudo, mais sobre outro aspecto. Notaram que, além de ser a reação francamente positiva em 13 casos, a injeção intradérmica do antígeno curou 5 doentes de esporotricose e auxiliou o tratamento num outro. Posteriormente, MIRANDA & colab. (1958) publicaram nova nota sobre o poder curativo da esporotriquina, acrescentando às cinco observações anteriormente apresentadas, mais três.

CASTRO (1956), estudando a esporotricose sob o ponto de vista dos erros de diagnóstico, assinala os bons préstimos da reação, para a qual propõe o nome de "Reação de Lacaz", no reconhecimento dos casos atípicos dessa micose. Ilustra sua exposição com casos clínicos que tinham o diagnóstico de carcinoma e que puderam rapidamente, em 48 horas, serem identificados como esporotricose, através da prova da esporotriquina.

Além desses trabalhos que versam primordialmente sobre a reação à esporotriquina há, também, na literatura nacional refe-

rências à prova como complemento de observações clínicas publicadas por diferentes Autores. Tais sejam: BAPTISTA & colab. (1951) citam prova positiva num caso em que observaram a ação terapêutica do Antimoniato de N-metil Glucamine; SOARES & colab. (1952) verificaram reações positivas em 3 casos de esporotricose familiar; BELLIBONI & PATRÍCIO (1956) em 2 casos tratados pelo Glucantime e BELLIBONI (1956) em 2 outros tratados pelo Dietilbestrol.

Nesta revisão julgamos desnecessária a inclusão de tôdas as citações existentes na literatura sôbre a prova da esporotriquina. Preocupamo-nos em analisar os trabalhos que versam primordialmente sôbre a prova. Os demais foram os que encontramos após pesquisa bibliográfica não exaustiva, e que nos pareceram por um motivo ou outro, dignos de citação.

Acreditamos, contudo, estar justificada a afirmativa feita inicialmente, isto é, de que a literatura sôbre a esporotriquina é escassa.

## CAPÍTULO II

### MATERIAL E MÉTODOS

#### A) PREPARO DOS ANTÍGENOS. PADRONIZAÇÃO

No decorrer dêste estudo, empregamos diferentes tipos de antígenos, isolados ou concomitantemente. Nas primeiras experiências, feitas com LACAZ & colab. (1953), foi usado antígeno preparado com a fase filamentosa do *Sporotrichum schencki*.

A técnica de preparo foi a seguinte:

- 1) cultivo de 5 amostras de *Sporotrichum schencki* em ágar-Sabouraud, mantidas as culturas à temperatura ambiente, até crescimento abundante;
- 2) suspensão homogênea, de raspado das culturas, em solução fisiológica com mertiolato a 1/10.000 e pérolas de vidro;
- 3) aquecimento a 60-70° C durante 30 minutos, em 3 dias sucessivos;
- 4) sedimentação da "suspensão-mãe", a fim de afastar os grumos mais grosseiros;
- 5) diluição da "suspensão-mãe" em solução fisiológica com mertiolato a 1/10.000, até o tubo 5 da escala de Mac Farland;

- 6) contrôle de esterilidade nos meios de Assis, Veillon e ágar-Sabouraud;
- 7) distribuição;
- 8) conservação em geladeira.

No preparo das primeiras partidas, a suspensão das colônias foi feita em solução fisiológica formulada a 8%; a suspensão era deixada à temperatura ambiente por 48 horas e posteriormente

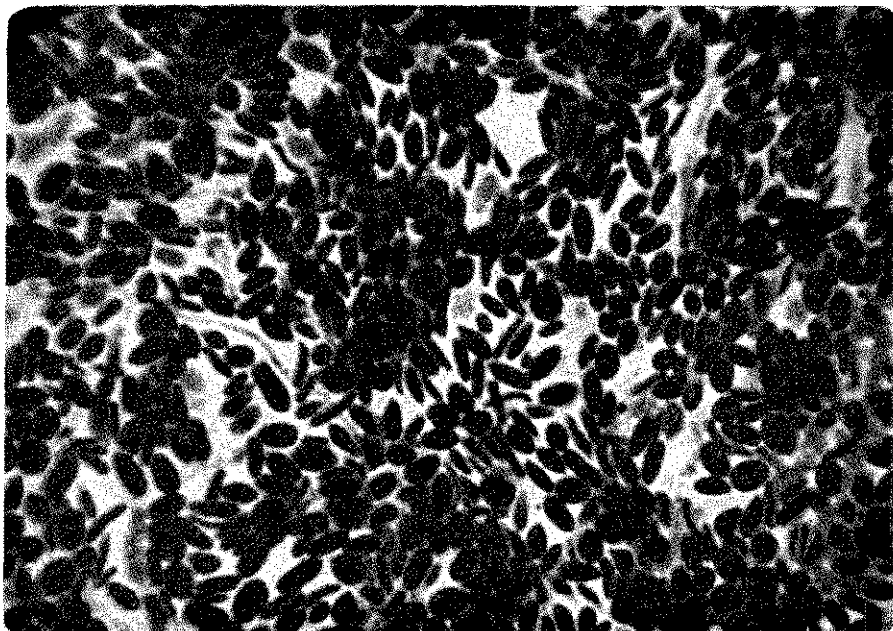


Fig. 1 — *Sporotrichum schencki*, formas em naveta. Notar, ao lado das células leveduriformes, elementos bacilares e raros filamentos. Microfoto Leitz 1.000 X. Coloração: método de Gram.

lavada 3 vezes por centrifugação. Só então era adicionado mercuriôto a 1/10.000 e padronizada.

Antígeno preparado dessa maneira, o qual denominamos de “esporotriquina F”, foi usado em numerosos pacientes, como já foi referido.

Posteriormente, do mesmo modo que outros Autores, procuramos obter antígeno no qual houvesse um mínimo possível de elementos filamentosos.

Essa preocupação de conseguir antígenos representados sobretudo por esporos, com um mínimo possível de filamentos, já é

encontrada em antigos trabalhos sôbre o assunto, tais como os de DE BEURMANN & GOUGEROT (1912) e MOORE & DAVIS (1918).

Visando conseguir o preparo de suspensões mais homogêneas do fungo, preparamos também antígeno obtido a partir da fase em naveta, do *Sporotrichum schencki*. A obtenção dessa variante é conseguida fâcilmente com o cultivo do fungo a 37° C, no meio de FRANCIS, conforme indicação de CAMPBELL (1945). Nossa experiência confirmou o exposto por aquela Autora, isto é, ser muito fâcil a transformação da fase filamentosa para a de naveta, com o uso do meio referido e tanto mais fâcil quanto mais recente fôr a cepa.

No decurso das experiências, verificamos que mantendo as amostras de *Sporotrichum schencki* em estufa, a 37° C, em ágar-Sabouraud, em repiques sucessivos, também se processa a variação da fase filamentosa em naveta. Diga-se de passagem que uma reversão total da forma filamentosa em naveta, nem sempre é obtida. Restam, às vêzes, alguns elementos filamentosos entre as primeiras (Fig. 1).

A preparação da "esporotriquina-naveta", a qual daqui por diante designaremos como esporotriquina N, foi feita do seguinte modo:

- 1) cultivo de 5 amostras de *Sporotrichum schencki* em ágar-Sabouraud ou em meio de FRANCIS, mantidos à temperatura de 37° C;
- 2) iniciado o crescimento, o que já se verifica após 48-96 horas, espriar as colônias, à custa da água de condensação do meio, com o propósito de permitir o crescimento mais abundante e difuso de cogumelo;
- 3) fazer esfregação de cada tubo, corando pelo Gram, a fim de verificar se a cultura está pura, encerrando as formas em naveta do *Sporotrichum schencki*;
- 4) suspensão em solução fisiológica com mertiolato a 1/10.000 das culturas obtidas;
- 5) aquecimento a 60-70° C, durante 30 minutos, em 3 dias sucessivos;
- 6) sedimentação da "suspensão-mãe", a fim de afastar os grumos mais grosseiros;

- 7) diluição da "suspensão-mãe" em solução fisiológica com mertiolato a 1/10.000, até o tubo 5 da escala de Mac Farland;
- 8) controle de esterilidade nos meios de Assis, Veillon e ágar-Sabouraud;
- 9) distribuição;
- 10) conservação em geladeira.

Após o estudo de LACAZ & colab. (1953), conquanto fôsem bastante concordantes os resultados obtidos com a "esporotriquina F" e a "esporotriquina N", fixamo-nos neste último antígeno e procuramos melhor estudá-lo. A única desvantagem que notamos com o uso da "esporotriquina F" em relação à "esporotriquina N" (usadas na mesma concentração) é que pacientes nos quais era feita a prova com o antígeno F queixavam-se, com certa freqüência, de reações gerais, principalmente febre, cefaléia e mal-estar.

Procuramos estabelecer padronização mais precisa de nossos antígenos e trabalhamos com os mesmos, mais diluídos. Usamos para a padronização, o método espectrofotométrico. Nestas determinações fotocolorimétricas foi sempre usado espectrofotômetro Coleman Jr., modelo 6 A, sendo as leituras efetuadas contra solução salina com mertiolato a 1/10.000. A suspensão correspondendo ao tubo 5 da escala de Mac Farland mostrou no espectrofotômetro usado, num comprimento de onda de 450 m $\mu$ , transmissão de 56,0% ou seja, densidade óptica de 0,25. Usamos, também, o antígeno mais diluído. Assim, pois, o antígeno com densidade óptica 0,25 e T = 56% ( $\lambda = 450$ ) foi diluído ao dôbro e ao quarto. A diluição da suspensão ao dôbro mostrou no espectrofotômetro ( $\lambda = 450$ ) densidade óptica = 0,12 e T = 76%; a diluição quádrupla mostrou densidade óptica = 0,05 e T = 88%.

Para maior facilidade de exposição passaremos, nas páginas que se seguem, a designar o antígeno que no comprimento da onda 450 m $\mu$  mostrou densidade óptica 0,25 e T = 56% como N 1, ao que mostrou densidade óptica 0,12 e T = 76% de N 2 e ao de densidade óptica 0,05 e T = 88% de N 3. Mantivemos nesta experimentação a mesma concentração usada por LACAZ & colab. (1953) para compararmos com o antígeno que já tínhamos experimentado.

Outro antígeno utilizado foi um polissacarídeo preparado segundo a técnica de NORDÉN (1951), modificada por FAVA NETTO

(1955) para extração do polissacarídeo do *Paracoccidioides brasiliensis*. O preparo é feito da seguinte maneira:

- 1) cultivo de 5 amostras de *Sporotrichum schencki* em fase leveduriforme, apresentando crescimento abundante;
- 2) suspensão em solução fisiológica; caso não fique bem homogêneo, agitar no agitador de Kahn;
- 3) centrifugar o suficiente para que o sedimento deposite;
- 4) lavar 3 vezes em acetona; o volume de acetona é igual ao do sedimento;
- 5) lavar 3 vezes com éter; o volume de éter é igual ao do sedimento;
- 6) repousar 1 dia em geladeira, para evaporação total do éter;
- 7) suspensão em solução salina, na proporção de 15% em volume;
- 8) autoclavar a 120° C, durante 15 minutos;
- 9) centrifugar a 2.000 rotações por minuto, de 30 a 60 minutos.

O sobremadante constitui a substância rica em polissacarídeos e pobre em proteínas\* o qual, após controle de esterilidade foi diluída a 1/100, 1/500 e 1/1.000 e usado como antígeno para prova intradérmica. Com esse antígeno, assim preparado nas três diluições referidas, foi feita a reação em 23 pacientes portadores de esporotricose, em 22 portadores de outras micoses e em 52 de afecções diversas ou sem afecção alguma.

Referir-nos-emos, daqui por diante, a este antígeno como esporotriquina P. Chamaremos de P 1, P 2 e P 3 as diluições de 1/100, 1/500 e 1/1.000, respectivamente.

## B) TÉCNICA DA REAÇÃO

Usamos a técnica habitual para as reações intradérmicas, isto é, seringa tipo tuberculina e agulha de bisel curto. Injetamos 0,1 cm<sup>3</sup> do antígeno intradérmicamente na face anterior do braço ou antebraço. A injeção de 0,1 cm<sup>3</sup> determina, em seguida, a for-

---

(\*) Verificações feitas na Secção de Imunoquímica do Depto. de Microbiologia e Imunologia, pelo Dr. R. G. Ferri. Dosagem de polissacarídeo pelo método de ROE (antrona) e de proteínas, pelo de LOWRY.

mação de uma pápula de 0,5-0,8 cm de diâmetro. Freqüentemente, forma-se logo após a injeção, halo eritematoso, reação essa inespecífica, sem importância. A leitura da reação é feita entre 48 e 72 horas após. Nos casos em que pudemos acompanhar a evolução diariamente, notamos que, já às 24 horas a reação é nítida, cresce em intensidade até o dia seguinte, mantendo-se por alguns dias (2 e 4) para involuir gradativamente.

Essas observações confirmam para a esporotriquina o que se observa em outras intradermo-reações com antígenos fúngicos, tais como a histoplasmina, a tricofitina, a coccidioidina, etc.

Adiante, voltaremos a descrever com maior minúcia a macro e a micromorfologia da reação, bem como a evolução que sofre.

#### C) CRITÉRIO DE LEITURA

*Reações negativas* — ausência de infiltração; eritema medindo menos que 5 mm.

*Reações duvidosas* — infiltração medindo menos que 5 mm no maior diâmetro, com ou sem eritema; somente eritema medindo mais que 5 mm.

*Reações positivas* — infiltração medindo 5 mm ou mais em seu maior diâmetro.

Com o propósito de permitir uma idéia sobre a intensidade das reações positivas, subdividimos estas da seguinte maneira:

*Positiva* — 1 + — infiltração maior que 5 mm e menor ou igual a 10 mm.

*Positiva* — 2 + — infiltração maior que 10 mm e menor ou igual a 20 mm.

*Positiva* — 3 + — infiltração maior que 20 mm e menor ou igual a 30 mm.

*Positiva* — 4 + — infiltração maior que 30 mm.

O critério usado é, em linhas gerais, semelhante ao proposto pelo "Department of Health, Education and Welfare of Public Health Service" (1954), para a reação à histoplasmina.

A diferença está nas subdivisões das reações positivas que fizemos e também porque no decorrer das experimentações verificamos que, as reações que pelo critério exposto deveriam ser classi-



ficadas como "duvidosas" não eram realmente duvidosas, mas sim destituídas de significado; passamos a classificá-las como negativas.

#### D) SELEÇÃO DOS PACIENTES

Os pacientes estudados no presente trabalho foram, em parte, propositadamente escolhidos, em parte, tomados ao acaso.

Entre os portadores de esporotricose foram incluídos somente aqueles em que foi possível isolar o *Sporotrichum schencki* e nos quais pudemos fazer a leitura da prova entre 48 e 72 horas. Deixamos, propositadamente, de incluir 7 casos de esporotricose dos quais não nos foi possível obter isolamento do fungo das lesões. Como pretendemos discutir o valor diagnóstico da prova, julgamos de bom alvitre não incluir esses casos por insuficiente documentação eitológica.

Os portadores de outras micoses, nos quais praticamos as reações, foram pacientes internados nas Clínicas Dermatológica e Sifiligráfica, de Doenças Tropicais e Infecciosas, e indivíduos que procuravam o Departamento de Microbiologia e Imunologia para esclarecimento diagnóstico.

Entre os pacientes diversos, incluímos aqueles com padecimento não micótico, internados nos mesmos Serviços já referidos e pessoas normais, sadias, funcionários do Departamento de Microbiologia e Imunologia que concordaram em se submeter à prova.

#### E) BIÓPSIAS E TÉCNICAS HISTOLÓGICAS

Com o propósito de complementar o estudo da macromorfologia da reação, foi feito também o estudo das alterações microscópicas da pele, isto é, a histopatologia da reação à esporotriquina, tanto ao antígeno N como ao antígeno P.

Para esse estudo foram repetidas as condições da reação (0,1 cm<sup>3</sup> por via intradérmica de antígenos N 2 ou P 1) em pacientes portadores de esporotricose.

As biópsias foram feitas em intervalos de tempo variáveis, como está especificado adiante nos Quadros IV e V, para ter-se uma idéia da seqüência evolutiva do processo histopatológico. Nos pacientes dos quais foi retirada uma única biópsia, foi ela executada na fase anterior do braço ou antebraço; daqueles em que houve retirada de 2 ou mais fragmentos foram as injeções do antígeno,

e posteriormente as biopsias, feitas na região dorsal. Tôdas foram praticadas sob anestesia local pelo cloreto de etila.

Para o estudo da reação ao antígeno N 2 foram executadas 18 biopsias em 12 pacientes e com relação ao antígeno P 1, 15 biopsias em 4 pacientes. Os fragmentos de pele retirados foram fixados em formol, incluídos em parafina e cortados. A coloração fundamental foi a hematoxilina-eosina. Quando julgadas necessárias, foram feitas outras, tais como a coloração de Hotchkiss-Mac Manus (PAS) e cresil-violeta.

QUADRO IV  
BIOPSIAS DE REAÇÕES A ESPOROTRIQUINA N 2

Lâmina	Iniciais	Caso n.º	Tempo decorrido após a injeção do antígeno e a biopsia
4721	A. J. M.	31	6 horas
4722	A. J. M.	31	12 horas
4723	A. J. M.	31	24 horas
4724	A. J. M.	31	48 horas
4725	A. J. M.	31	72 horas
4574	A. R. G.	24	72 horas
4605	E. R.	33	5 dias
4691	B. S. N.	35	6 dias
4556	C. F. O.	22	7 dias
4726	A. J. M.	31	7 dias
4688	D. P.	34	8 dias
4610	P. R. S.	30	8 dias
A. B.	A. B.	7	8 dias
4607	A. J. M.	31	12 dias
4578	M. F. N.	—	12 dias
4591	J. A. C.	26	14 dias
4567	M. O. G.	—	14 dias
D. S.	D. S.	4	17 dias

OBSERVAÇÕES:

- 1) Os números das lâminas citadas correspondem aos recebidos pelas respectivas biopsias no laboratório de histopatologia da Clínica Dermatológica, onde foram executadas; aquelas designadas com iniciais correspondem a biopsias feitas no Departamento de Microbiologia e Imunologia.
- 2) As lâminas 4578 e 4567 correspondem a casos de esporotricose comprovados que não fazem parte de nossa casuística, por não ter sido feita leitura da reação entre 48 e 72 horas.

QUADRO V  
BIOPSIAS DE REAÇÕES A ESPOROTRIQUINA P 1

Lâmina	Iniciais	Caso n.º	Tempo decorrido entre a injeção do antígeno e a biopsia
5234	J.D.	62	24 horas
5061	J.S.M.	55	24 horas
5184	J.C.G.	58	48 horas
5063	J.S.M.	55	48 horas
5271	R.F.S.	42	48 horas
5065	J.S.M.	55	72 horas
5180	J.C.G.	58	72 horas
5235	J.D.	62	4 dias
5272	R.F.S.	42	4 dias
5185	J.C.G.	58	5 dias
5273	R.F.S.	42	5 dias
5236	J.D.	62	6 dias
5274	R.F.S.	42	8 dias
5237	J.D.	62	9 dias
5275	R.F.S.	42	10 dias

### CAPÍTULO III

#### RESULTADOS

#### A) EM DOENTES DE ESPOROTRICOSE, ATUAL OU PREGRESSA

Os pacientes de esporotricose, atual ou pregressa, foram divididos em 5 grupos, a saber:

- 1.º grupo — (18 casos) pacientes nos quais foi feita a reação com esporotriquina N 1, N 2 e N 3 (casos ns. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 e 18).
- 2.º grupo — (21 casos) pacientes nos quais foi praticada a reação com esporotriquina N 2 e N 3 (casos ns. 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38 e 61).
- 3.º grupo — (26 casos) pacientes nos quais foi efetuada a reação com esporotriquina N 2 (casos ns. 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 62, 63, 64 e 65).

4.<sup>o</sup> grupo — (23 casos) pacientes nos quais foi feita a reação com antígeno polissacarídico, preparado segundo técnica já descrita, diluído a 1/100, 1/500 e 1/1.000, além de reação com esporotriquina N (casos ns. 34, 39, 40, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 62, 63, 64 e 65).

É óbvio que este grupo é constituído por pacientes que fazem parte também dos outros, pois o antígeno polissacarídico foi sempre utilizado juntamente com um ou mais antígenos N. Todos os pacientes incluídos nestes 4 grupos eram portadores de esporotricose em atividade, o que foi demonstrado pelo isolamento do fungo das lesões.

5.<sup>o</sup> grupo — (5 casos) pacientes nos quais foi feita a esporotriquina após a cura clínica do processo (casos ns. 2, 17, 23, 27 e 66).

Todos haviam tido esporotricose, confirmada por isolamento do fungo. A reação foi praticada em períodos variáveis de 3 meses até 7 anos, após a cura, conforme está especificado no Quadro X.

Os quadros seguintes resumem o que encontramos nos 5 grupos de pacientes estudados.

#### QUADRO VI

(GRUPO 1)

N 1	Positiva 1 + .....	0
	Positiva 2 + .....	7
	Positiva 3 + .....	3
	Positiva 4 + .....	8
	Negativa .....	0
N 2	Positiva 1 + .....	6
	Positiva 2 + .....	7
	Positiva 3 + .....	2
	Positiva 4 + .....	3
	Negativa .....	0
N 3	Positiva 1 + .....	14
	Positiva 2 + .....	2
	Positiva 3 + .....	1
	Positiva 4 + .....	1
	Negativa .....	0

QUADRO VII

(GRUPO 2)

N 2	Positiva 1 + .....	5
	Positiva 2 + .....	4
	Positiva 3 + .....	4
	Positiva 4 + .....	8
	Negativa .....	0

N 3	Positiva 1 + .....	7
	Positiva 2 + .....	7
	Positiva 3 + .....	3
	Positiva 4 + .....	3
	Negativa .....	1

QUADRO VIII

(GRUPO 3)

N 2	Positiva 1 + .....	6
	Positiva 2 + .....	8
	Positiva 3 + .....	3
	Positiva 4 + .....	8
	Negativa .....	1

QUADRO IX

(GRUPO 4)

P 1/100	Positiva 4 + .....	7
	Positiva 3 + .....	7
	Positiva 2 + .....	7
	Positiva 1 + .....	0
	Negativa .....	2

P 1/500	Positiva 4 + .....	1
	Positiva 3 + .....	6
	Positiva 2 + .....	7
	Positiva 1 + .....	5
	Negativa .....	4

P 1/1.000	Positiva 4 + .....	0
	Positiva 3 + .....	1
	Positiva 2 + .....	2
	Positiva 1 + .....	7
	Negativa .....	13

## QUADRO X

(GRUPO 5)

CASO	TEMPO DE CURA	ESP. N	ESP. P
2	3 anos	N 2 — 2 +	P 1 — 4 + P 2 — 1 + P 3 — 1 +
17	3 meses	N 2 — 2 +	P 1 — 3 + P 2 — 2 + P 3 — 2 +
23	8 meses	N 2 — 3 +	P 1 — 3 + P 2 — 3 + P 3 — negativo
27	5 meses	N 2 — 2 +	P 1 — 2 + P 2 — 1 + P 3 — negativo
66	7 anos	N 1 — 4 + N 2 — 4 +	P 1 — 4 + P 2 — 4 + P 3 — 2 +

## B) EM PORTADORES DE OUTRAS MICOSES

Foram estudados 25 pacientes portadores de outras micoses (casos ns. 67 a 91). Em todos a reação foi praticada com os antígenos N 1 e N 2 e em 22 dêles foi feita também com o antígeno polissacarídico nas diluições de 1/100, 1/500 e 1/1.000 (P 1, P 2 e P 3).

Os casos estudados distribuem-se da seguinte maneira:

Blastomicose sul-americana .....	13
Cromomicose .....	2
Actinomicose .....	1
Maduromicose .....	1
<i>Tinea corporis</i> .....	2
<i>Tinea capitis</i> .....	1
<i>Tinea pedis</i> (com Ide) .....	2
<i>Pityriasis versicolor</i> .....	1
Monilíase curada .....	2

A reação com antígeno polissacarídico não foi feita nos casos 71, 72 e 73, portadores respectivamente de blastomicose, cromomicose e *Tinea corporis* (*M. canis*).

A reação executada com o antígeno N foi positiva num caso de *Tinea corporis* (n.º 71) e num de blastomicose (n.º 78) com N 1 e negativa com N 2; foi positiva tanto com N 1 como com N 2 em 2 casos de blastomicose (casos 79 e 83), devendo-se referir que um deles (caso 83) apresentava também cisticercose; a reação foi positiva, também, em 2 portadores de *Tinea pedis*, tanto com N 1 como com N 2 (casos 82 e 87). Nos demais a reação foi negativa.

Com relação ao antígeno polissacarídico obtivemos os seguintes resultados: reação negativa em 19 casos e positiva em três. Êsses 3 pacientes haviam reagido também positivamente à esporotriquina N (casos 79, 82 e 87). O caso 79 reagiu positivamente só com o antígeno P 1; o caso 82 nas 3 diluições usadas e o 87 reagiu positivamente à reação feita com os antígenos P 1 e P 2.

Devemos salientar que um paciente com reação positiva ao antígeno N reagiu negativamente ao polissacarídeo (caso 83).

### C) EM PACIENTES DIVERSOS

Foram estudados 58 indivíduos com afecções diversas, tomados ao acaso, sendo incluídos também alguns normais.

As afecções eram as seguintes: esquistossomose mansônica, forma hépato-esplênica, 8 casos, sendo que um deles apresentava também *herpes zoster*; leishmaniose tegumentar, 5 casos; tuberculose ganglionar, 3 casos; eczema, 3 casos; foliculite do couro cabeludo, 2 casos; síndrome de hipertensão portal sem etiologia determinada, 2 casos; úlcera inespecífica da perna, 2 casos; blefarite de etiologia indeterminada, 2 casos; carcinoma espinocelular da mão, tuberculose verrucosa, piodermite, osteomielite, eritema indurado de Bazin, piodermite vegetante, lepra tuberculóide, furunculose, moléstia de Chagas (forma crônica), retículo-endoteliose, *alopécia areata*, psoríase, lues terciária, eritema nodoso sem etiologia definida, parotidite e pancreatite de etiologia indeterminada, tuberculose ulcerosa da pele, líquen plano generalizado, paquidermia plicaturata com periostoses, foliculite da pele glabra, malária, doença de Hodgkin, erisipela, cisto sebáceo infetado e carcinoma basocelular, 1 caso de cada. A prova foi feita também em 3 indivíduos normais e em 3 cujas afecções não foram diagnosticadas.

A prova foi praticada em todos, com os antígenos N 1 e N 2 e em 54 dos 58 indivíduos também com o antígeno polissacarídico (P 1, P 2 e P 3).

A reação com o antígeno N 1 foi negativa em 49 indivíduos e positiva em 9 (casos 125, 126, 129, 133, 136, 138, 141, 143 e 144); com o antígeno N 2 foi negativa em 53 pacientes e positiva em 5 (casos 138, 141, 143, 144 e 147). Com relação ao antígeno polissacarídico tivemos os seguintes resultados: diluído a 1/100 foi a prova negativa em 49 pacientes e positiva em 5 (casos 133, 137, 141, 144 e 147); diluído a 1/500 foi negativa em 50 e positiva em 4 (casos 133, 137, 141 e 144); diluído a 1/1.000 foi negativa em 52 pacientes e positivo em 2 (casos 141 e 144).

#### D) MACROMORFOLOGIA DA REAÇÃO

As alterações locais, por nós observadas, como conseqüência à injeção intradérmica de esporotriquina, são semelhantes às assinaladas na literatura por Autores que estudaram o assunto. As alterações verificadas, à leitura de 48 e 72 horas, são de diferentes tipos, a saber: eritema, pápula edematosa, pápula, nódulo, tubérculo, vesícula e úlcera. Salvo no que se refere às pápulas edematosas, os demais tipos de alteração não aparecem isoladamente, mas sim combinados, dois ou mais elementos.

O aspecto mais freqüente observado na reação positiva à esporotriquina é representado por pápula central, circundada por halo eritematoso, mais ou menos infiltrado (Figs. 2, 3 e 4).

Nas reações intensamente positivas, notamos a formação de vesícula, pústula e ulceração central, já às 48-72 horas.

Em casos nos quais observamos a evolução da reação por tempo maior, verificamos que o halo eritematoso vai gradativamente se esmaecendo e desaparece num período de 1 a 2 semanas.

A pápula, a qual na leitura de 48 e 72 horas, na maioria dos casos, mostra-se com caráter edematoso, adquire por volta da primeira semana consistência mais firme, evoluindo posteriormente (segunda e terceira semanas) para tubérculo ou nódulo.

Ocorre freqüentemente nessa fase evolutiva, a neurose ou a evolução do nódulo para goma, com posterior ulceração e eliminação de seu conteúdo.





Fig. 2 — Intradermo-reação positiva à esporotriquina N 2.

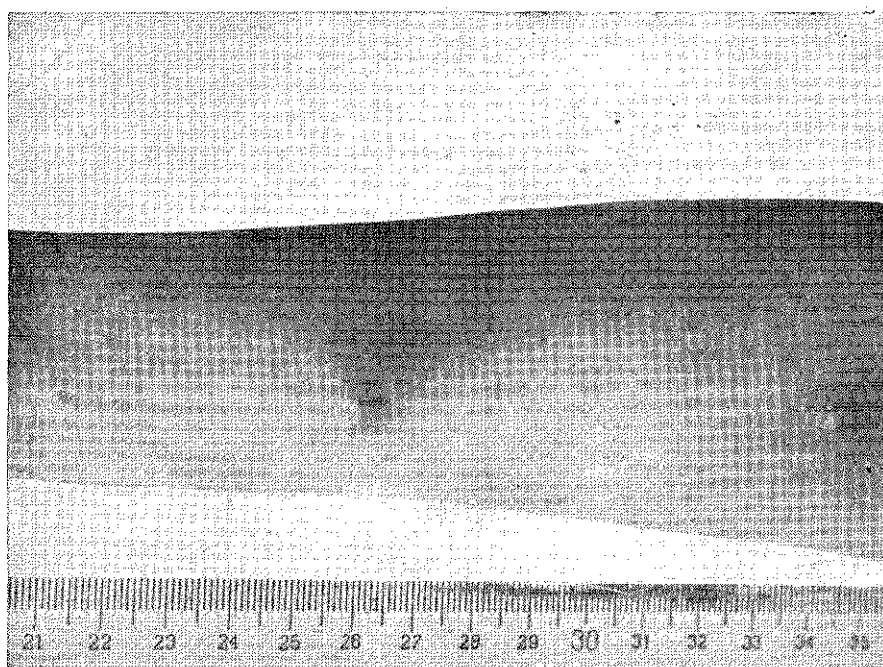


Fig. 3 — Intradermo-reação positiva aos antígenos N 2 (proximal) e N 3 (distal).

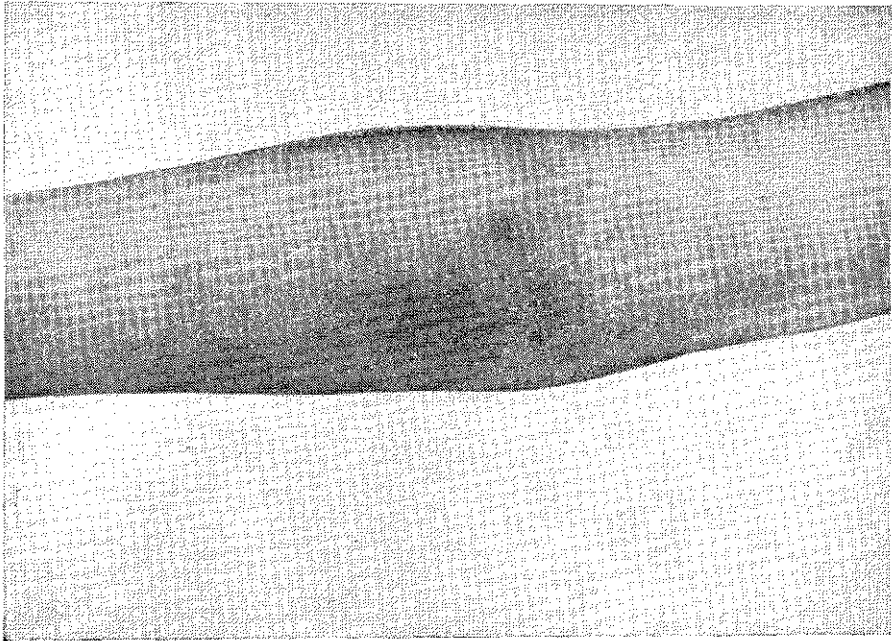


Fig. 4 — Intradermo-reação positiva aos antígenos P 1 (braço), P 2 (antebraço, proximal) e P 3 (antebraço, distal).

As reações fortemente positivas deixam ao final de sua evolução completa, a qual se faz igualmente, em tempo de 3 e 4 semanas, uma cicatriz, as vêzes hiperpigmentar.

O que observamos com referência às reações tardias à esporotriquina, confirma os dados anteriores assinalados por MIRANDA & colab. (1958).

Quanto às manifestações gerais, como consequência à injeção do antígeno, pudemos observar que as reações fortemente positivas são em alguns casos acompanhadas de sensação subjetiva de febre e ligeira cefaléia. Nunca foram, contudo, intensas como as descritas por PAUTRIER & LUTEMBACHER (1909, 1909a) com a sua subcutirreação.

Nos pacientes que estudamos, as manifestações gerais foram raramente observadas.

Nas reações feitas com o antígeno polissacarídico, as alterações locais observadas são menos nítidas que com o antígeno contendo elementos figurados.

As alterações locais, observadas nas reações feitas com antígeno polissacarídico à leitura de 48 e 72 horas, são menos evidentes.

Verificamos a formação de eritema, de pápula e, nas reações fortemente positivas também a formação de vesícula. A pápula edematosa foi em nossa experiência a mais freqüente, tradução macroscópica de reação positiva ao antígeno polissacarídico. Não observamos com este tipo de antígeno formação de tubérculo ou nódulo, quer à leitura de 48 e 72 horas, quer às leituras feitas em prazos maiores, como 1 semana ou 10 dias. A reação ao antígeno polissacarídico, mesmo quando fortemente positiva não deixa, de regra, sinal algum. Em poucos casos pudemos observar, em pacientes de pele clara, sucedendo à pápula edematosa, a formação de mancha hipercrômica, que persiste por algum tempo, desaparecendo depois.

Em alguns casos, principalmente em pacientes com pele escura, é bastante difícil a leitura da reação feita com o polissacarídeo, pois o eritema é pálido e a pápula pouco evidente, perceptível somente ao tato.

#### E) HISTOPATOLOGIA DA REAÇÃO

##### 1) *Reação ao antígeno N 2*

*Lesões após 6 horas* (biopsia 4721) — Edema bem visível ao nível das papilas dérmicas, com afilamento do epitélio. Esse último não mostra alterações dignas de nota. Na derme, processo inflamatório, à custa, principalmente, de células histiocitárias de núcleos alongados, que se localizam principalmente junto aos capilares papilares e ao redor de anexos, como glândulas sebáceas. Percebemos também células histiocitárias carregadas de pigmento provavelmente melânico na periferia dos capilares.

*Lesões após 12 horas* (biopsia 4722) — Persistem as alterações para o lado da derme, anteriormente referidas. Agregam-se ao exsudato inflamatório perivascular e perianexial alguns neutrófilos. No mais, a reação persiste com as mesmas características.

*Lesões após 24 horas* (biopsia 4723) — Aspecto idêntico à biopsia anterior. O edema é menos acentuado.

*Lesões após 48 horas* (biopsia 4724) — O processo inflamatório é exatamente igual. Os neutrófilos tornam-se mais evidentes. Não se verificam eosinófilos. Junto à área de edema superficial, o colágeno assume aspecto que lembra muito a degeneração fibrinóide.

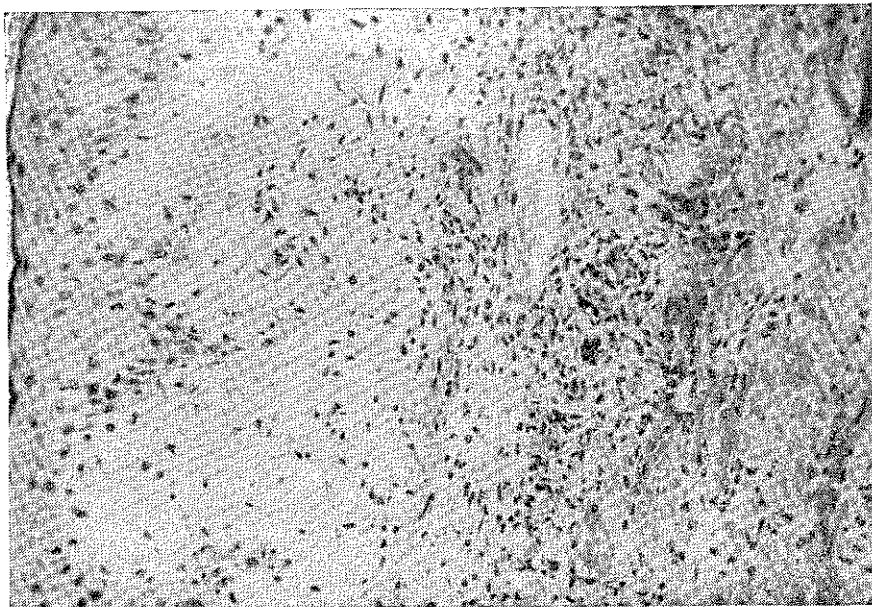


Fig. 5 — Aspecto microscópico da reação ao antígeno N 2. Edema e infiltrado inflamatório em torno a pequenos vasos e anexos. Biopsia 4724 (48 horas). Microfoto Leitz. 300 X. Coloração: hematoxilina-eosina.

*Lesões após 72 horas* (biopsia 4725 e 4574) — Mesmos achados anteriores, com formação de verdadeiro abscesso na derme, junto à glândula sebácea. O abscesso se propaga para as papilas dérmicas, com destaque parcial do epitélio, abaixo do qual se observa área hemorrágica. O processo também afeta a glândula sebácea, com destruição parcial da mesma. Observamos reação a neutrófilos e raros eosinófilos, do mesmo modo que células mononucleares e histiócitos, em torno a anexos e capilares da derme. Reação idêntica é vista acometendo a glândula sebácea, com acúmulo de material dentro da luz. Pequeno edema difuso da derme. Depósito de material “fibrinóide” na periferia da glândula sebácea. Aparentemente há propagação do processo até a desembocadura da glândula, dando origem a um início de abscesso intra-epidérmico.

*Lesões após 5 dias* (biopsia 4605) — Reação histiocitária e neutrófila em torno a pequenos vasos e anexos, ao lado de número razoável de eosinófilos, atingindo inclusive a hipoderme. Percebemos reação por parte dos pequenos capilares da pele, que exibem agora, de maneira nítida, tumefação de células endoteliais, inclusive com sinais de multiplicação das mesmas. O que caracterizou esta lâmina foi a proliferação de células histiocitárias, formando arranjo

epitelióide, dando origem a células gigantes tipo Langhans em torno de centro abscedado. Os cortes não demonstram se tal formação se dispõe junto a anexos. Existe também infiltração por fibrina

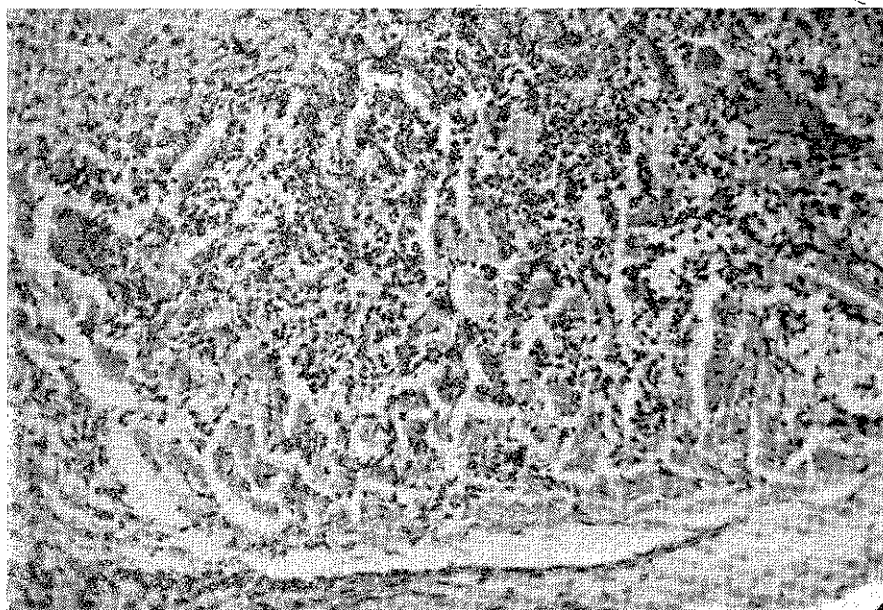


Fig. 6 — Aspecto microscópico da reação ao antígeno N 2. Formação de abscesso na derme. Biopsia 4725 (72 horas). Microfoto Leitz. 300 X. Coloração: hematoxilina-eosina.

em torno a pequenas áreas que, possivelmente, representam necrose de gordura.

*Lesões após 6 dias* (biopsia 4691) — Reação francamente produtiva. Não observamos eosinófilos ou neutrófilos em quantidade apreciável. Entretanto, verificamos extensa proliferação de caráter histiocitário, em torno a pequenos vasos e nas porções mais profundas da derme, dando origem inclusive à formação granulomatosa, com células gigantes tipo Langhans. Tais nódulos são vistos em torno a área de que parece ser degeneração do colágeno; o PAS é positivo nestas zonas.

*Lesões após 7 dias* (biopsia 4556 e 4726) — Muito evidente agora a dupla reação; processo inflamatório agudo, extenso, com predominância de formas degeneradas de neutrófilos, de mistura com eosinófilos. Percebe-se, ao lado disso, acentuada ulceração do epitélio. Pequenos capilares, com a parede parcialmente recoberta por material de aspecto fibrinóide. Concomitantemente verifi-

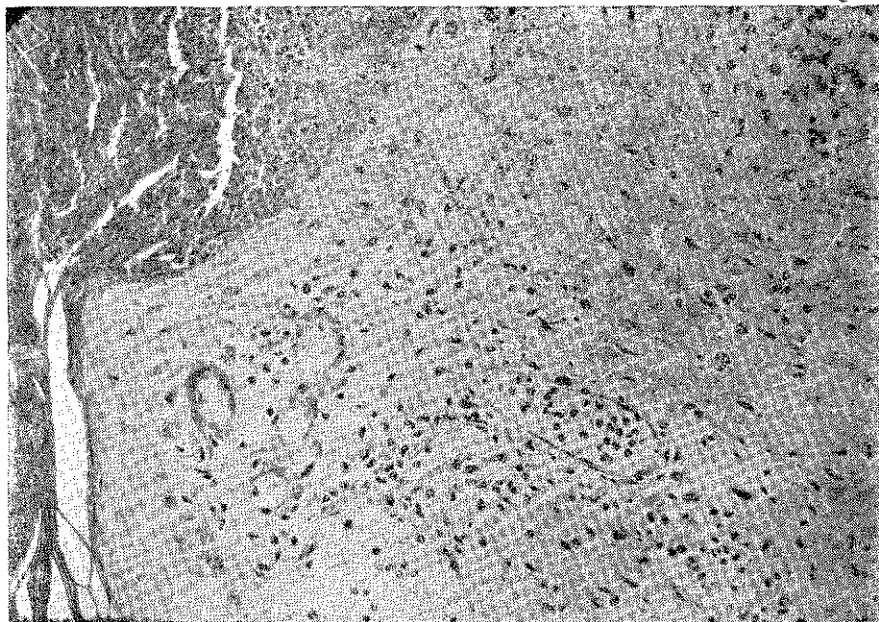


Fig. 7 — Aspecto microscópico da reação ao antígeno N 2. Ulceração da pele. Capilar com depósito hialino na parede. Edema dérmico. Biopsia 4556 (7 dias). Microfoto Leitz. 300 X. Coloração: hematoxilina-eosina.

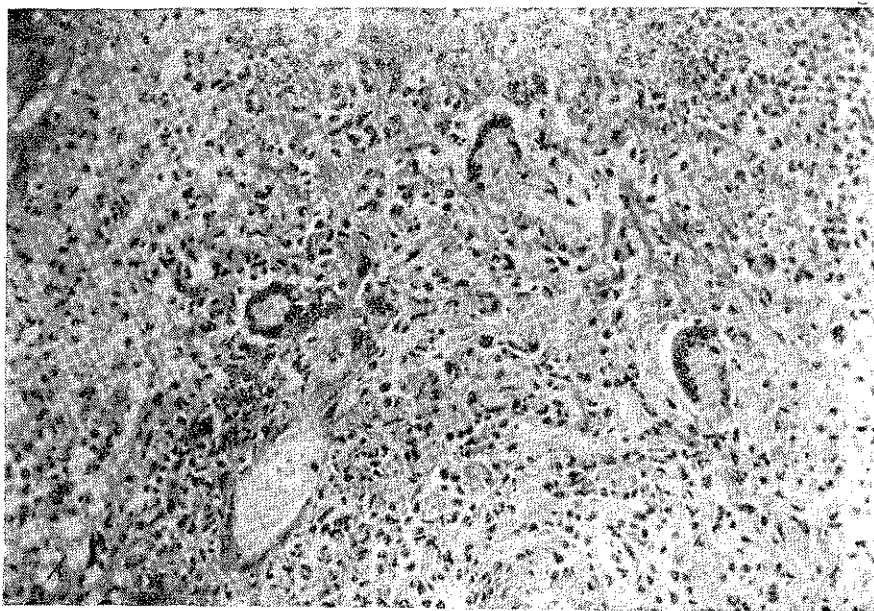


Fig. 8 — Aspecto microscópico da reação ao antígeno N 2. Processo inflamatório crônico granulomatoso, ao lado de reação aguda. Neutrófilos em grande parte degenerados. Biopsia 4556 (7 dias). Microfoto Leitz. 300 X. Coloração: hematoxilina-eosina.

camos processo produtivo, com formação de células gigantes tipo Langhans e corpo estranho, de mistura com o quadro inflamatório agudo. Na biopsia 4726 o processo inflamatório agudo domina, dando origem à extensa ulceração do epitélio. Observamos ainda processo inflamatório agudo com parcial destruição de glândulas sebáceas. O edema não é tão intenso e difuso, como nas lâminas anteriores.

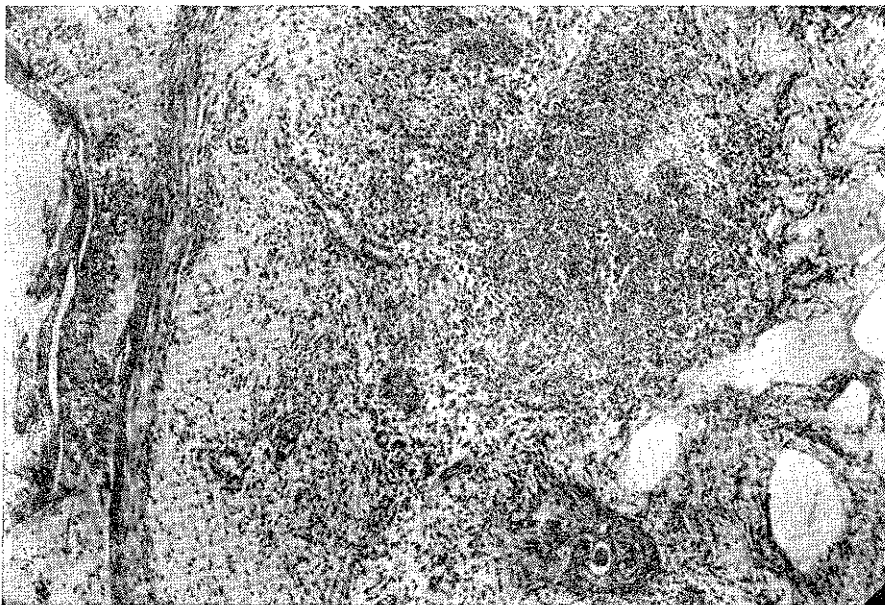


Fig. 9 — Aspecto microscópico da reação ao antígeno N 2. Princípio de ulceração da epiderme. Abscesso na derme, ao lado de processo inflamatório crônico. Biopsia 4726 (7 dias). Microfoto Leitz, 100 X. Coloração: hematoxilina-eosina.

*Lesões após 8 dias* — (biopsias 4688, 4610 e A.B.) — A biopsia 4688 mostra processo produtivo (histiocítico), dispondo-se em tórno a anexos e pequenos vasos, com eosinófilos de mistura. A biopsia A. B. mostra reação eminentemente exsudativa, com formação de abscessos e parcial destruição do epitélio. Já a biopsia 4610 revela processo exsudativo, com muitos neutrófilos e eosinófilos, ao lado de reação produtiva na periferia de pequenos vasos. Extensa ulceração do epitélio. Pequenos vasos com o revestimento endotelial proeminentes. É interessante notar arterite aguda, com depósito de material “fibrinóide” na parede. Como o processo está junto ao abscesso, é provável que se trate de reação secundária.

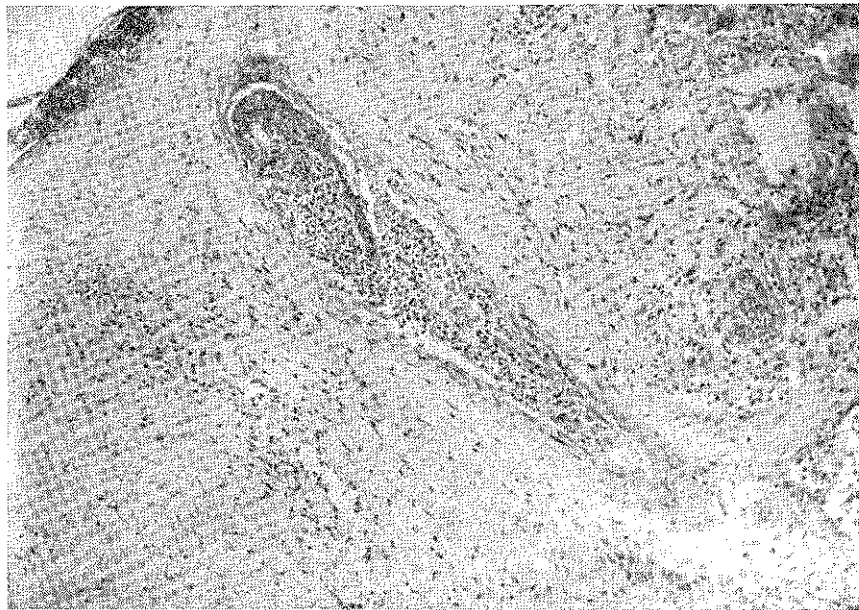


Fig. 10 — Aspecto microscópico da reação ao antígeno N 2. Agressão de anexos da pele. Foliculite aguda. Biopsia 4610. Microfoto Leitz, 100 X. Coloração: hematoxilina-cosina.

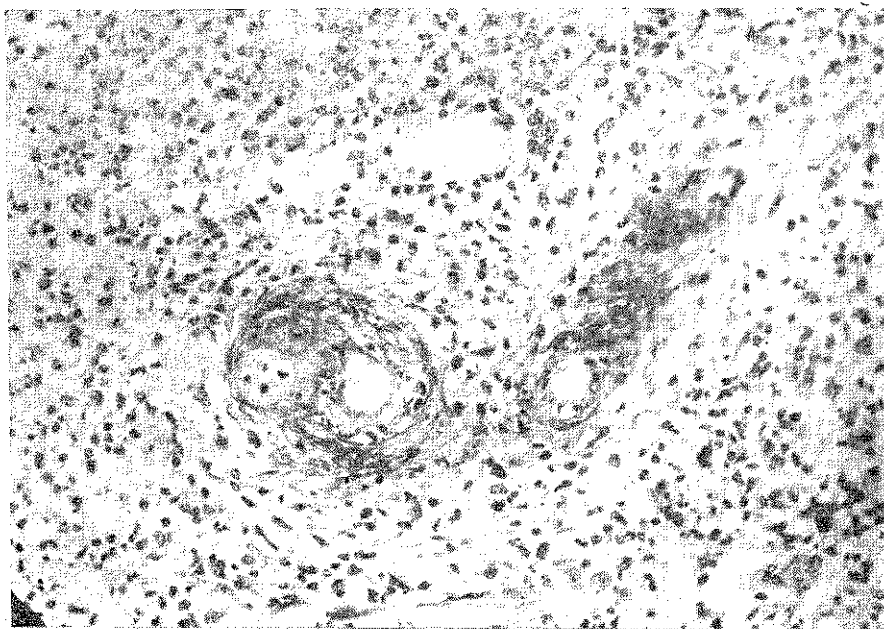


Fig. 11 — Aspecto microscópico da reação ao antígeno N 2. Arterite aguda secundária ao processo inflamatório. Biopsia 4610 (8 dias). Coloração: hematoxilina-cosina.



*Lesões após 12 dias* (biopsias 4607 e 4578) — Na biopsia 4607 a reação é predominantemente exsudativa, com formação de abscessos e início de ulceração do epitélio. Reação produtiva na periferia, com células gigantes tipo corpo estranho. Predomina a reação exsudativa. Entretanto, a biopsia 4578 revela reação produtiva, com muitas células histiocitárias, eosinófilos e mononucleares em torno a pequenos vasos. São vistos ocasionais plasmócitos. O processo dispõe-se em torno de anexos também. Na profundidade, junto à hipoderme, pode ser vista reação produtiva, com formação de granuloma.

*Lesões após 14 dias* (biopsias 4591 e 4567) — Em ambas observamos reação produtiva em decréscimo, bem visível em torno a vasos. Epitélio e colágeno, nada digno de nota.

*Lesões após 17 dias* (D.S.) — Reação granulomatosa, com células gigantes tipo Langhans. Reação histiocitária com eosinófilos em torno a pequenos vasos. Ausência de lesões epiteliais.

## 2) REAÇÃO AO ANTÍGENO P 1

*Lesões após 24 horas* (biopsias 5234 e 5061) — Ambas mostram alterações bastante semelhantes, variando apenas a intensi-

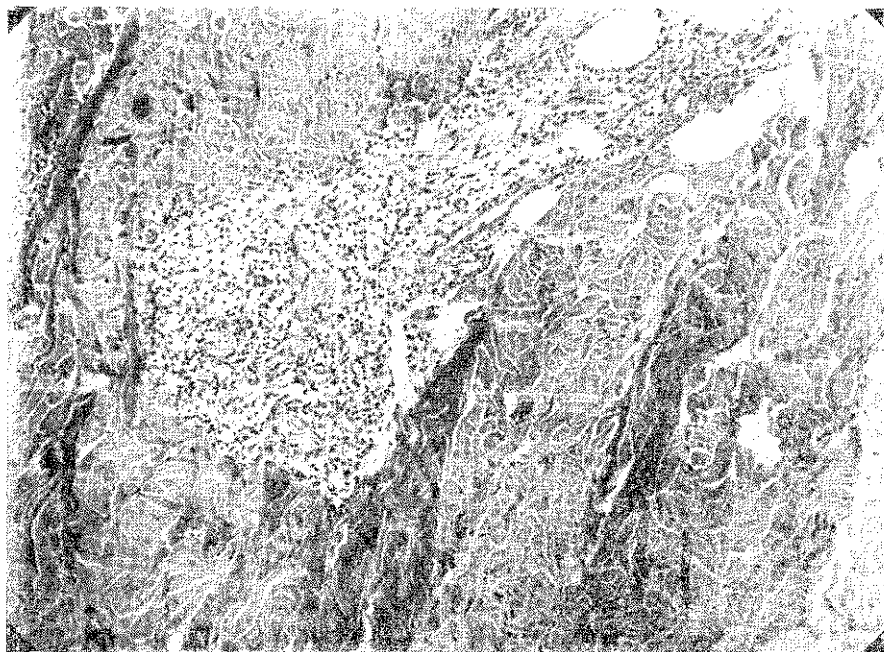


Fig. 12 — Aspecto microscópico da reação ao antígeno P 1. Processo inflamatório subagudo, perivascular e perianaxial, acompanhado de edema. Biopsia 5234 (24 horas). Microfoto Leitz, 40 X. Coloração: hematoxilina-eosina.

dade da reação. O epitélio mostra-se afilado pelo edema que faz quase desaparecer as cristas interpapilares. Exceto por leve edema intercelular, não há lesão das células epiteliais. A derme apresenta-se edemaciada, principalmente na sua porção papilar. O achado fundamental está representado por infiltrado inflamatório que se dispõe em tórno aos capilares sanguíneos e anexos, acompanhando-se de forte edema. Ele é constituído por eosinófilos, células histiocitárias de núcleo irregular, vesiculoso e pouco citoplasma. São também vistos neutrófilos em pequeno número. Os capilares mostram a parede edemaciada, sendo que as células endoteliais estão tumefeitas e proeminentes para a luz. Não há modificações do colágeno, exceto no ponto de penetração da agulha, onde se mostra mais acidófilo e denso, tendo, de permeio a suas fibras, moderado número de neutrófilos com sinais de desintegração nuclear.

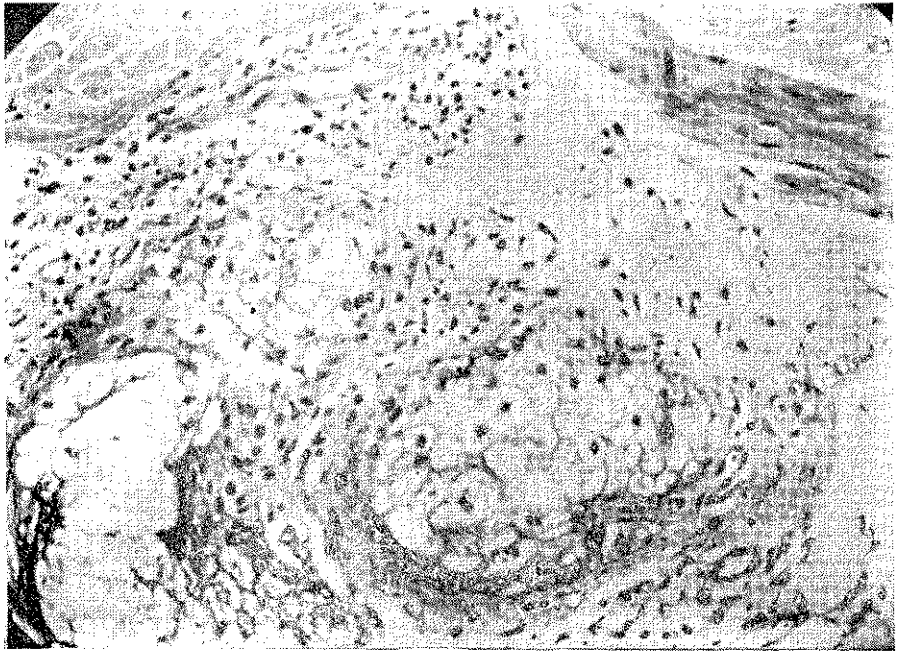


Fig. 13 — Aspecto microscópico da reação ao antígeno P 1. Processo inflamatório crônico dispendo-se ao redor de glândula sebácea. Modificação do colágeno, que se apresenta uniformemente hialino junto ao anexo. Biopsia 5234. Microfoto Leitz, 400 X. Coloração: hematoxilina-eosina.

*Lesões após 48 horas* (biopsias 5184, 5063 e 5271) — O processo é essencialmente o mesmo descrito para o grupo de biopsias anterior. A notar, temos o progressivo decréscimo do edema papilar e maior predominância de células histiocitárias no infiltrado

perivascular e perianexial. O edema a este nível ainda é bem visível, muito embora de pequena intensidade. Os vasos capilares apresentam a parede espessada por material hialino uniforme. Em alguns dêles, a reação histiocitária na adventícia é proeminente. O infiltrado perianexial, quando se dispõe em tórno de glândulas sudoríparas, pode levar a destruição de alguns ácinos glandulares.

*Lesões após 72 horas* (biopsias 5065, 5180 e 5234) — O edema agora é mínimo e limitado ao redor de anexos. O infiltrado é predominantemente histiocitário, com esboço granulomatoso, de mistura a eosinófilos e raros neutrófilos. A reação perivascular é muito nítida, percebendo-se inclusive, além da disposição dos histócitos em tórno aos pequenos vasos, as paredes dêstes espessadas à custa de edema, dando aspecto hialino ao mesmo. As células endoteliais estão tumefeitas e salientes para a luz.

*Lesões após 4 dias* (biopsias 5235 e 5272) — O processo é essencialmente aquêlo visto para o grupo anterior.

*Lesões após 5 dias* (biopsias 5185 e 5273) — Processo essencialmente semelhante aquêlo visto no grupo anterior. A predomi-

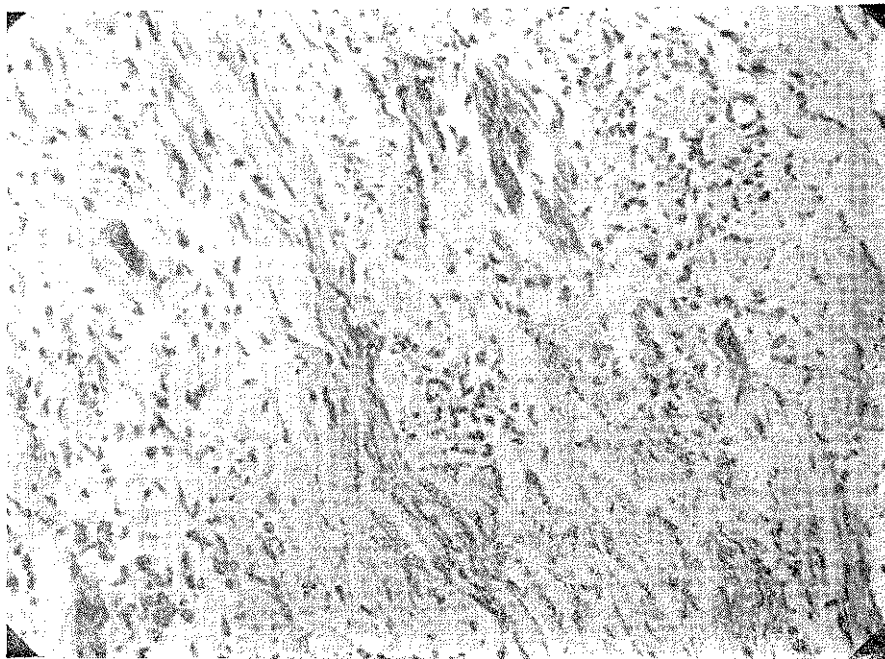


Fig. 14 — Aspecto microscópico da reação ao antígeno P 1. Persistência do processo inflamatório crônico após 8 dias, dissociando os feixes colágenos. Formação de granulomas podendo-se perceber células gigantes tipo corpo estranho. Biopsia 5274 (8 dias). Microfoto Leitz, 100 X. Coloração: hematoxilina-eosina.

nância de células histiocitárias no infiltrado acentua-se progressivamente. Alguns vasos perianexiais mostram pequenas proeminências na luz, de caráter fibroso, representando possivelmente antigas trombozes organizadas.

*Lesão após 6 dias* (biopsia 5236) — O processo inflamatório como um todo tende a decair em intensidade. Entretanto, o caráter granulomatoso do mesmo se acentua, percebendo-se agora células histiocitárias grandes, núcleo vesiculoso e citoplasma abundante, em meio às demais, de núcleo alongado e citoplasma pouco abundante. Os eosinófilos são bem visíveis entre os elementos do infiltrado.

*Lesões após 8 dias* (biopsias 5237 e 5274) — O epitélio não apresenta modificações dignas de nota. O infiltrado perivascular e perianexial ainda pode ser visto, porém de intensidade bem menor. Dois fatos fundamentais devem ser considerados em relação à presente reação histopatológica; um deles, aliás já visto em menor intensidade em lâminas das biopsias das reações ao antígeno N 2, está caracterizado por certa embebição edematosa do colágeno da periferia de glândulas sebáceas, seguido de proliferação fibroblás-

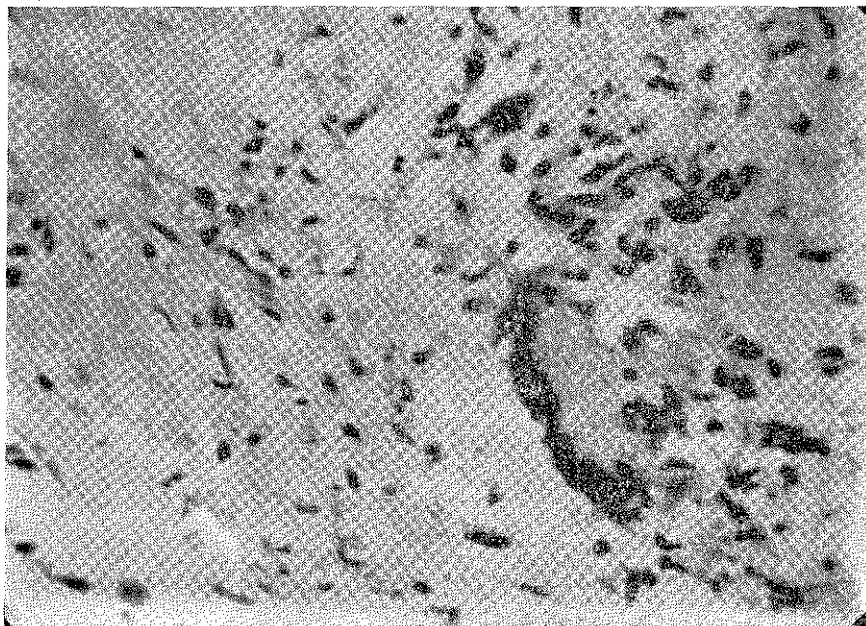


Fig. 15 — Aspecto histopatológico da reação ao antígeno P 1. Particularidade de granuloma mostrando o agrupamento de células histiocitárias e a formação de célula gigante tipo Langhans. Biopsia 5274 (8 dias). Microfoto Leitz, 300 X. Coloração: hematoxilina-eosina.

tica. A membrana basal do anexo já é melhor visível, mesmo pela hematoxilina-eosina. Porções do mesmo são substituídas por fibrose. Outro fato é a formação de granuloma na derme de um dos casos (5274), caracterizado por proliferação de histiócitos alongados, com arranjo em paliçada, e pelo aparecimento de células gigantes do tipo corpo estranho.

*Lesões após 10 dias* (biopsia 5275) — As lesões são essencialmente idênticas às do grupo anterior, mais próximas das observadas após 6 dias. Verificamos um granuloma, porém o mesmo se situa abaixo do epitélio (que ainda apresenta tampão de material necrótico, fibrina e raros neutrófilos), em zona onde o colágeno está alterado.

## CAPÍTULO IV

### COMENTARIOS

A análise do Quadro VI mostra que os resultados obtidos foram os que teóricamente se deveriam esperar. Diminuindo a concentração do antígeno, diminuíram as reações fortemente positivas (3 e 4 cruces) e aumentaram o número de reações positivas, fracas (1 e 2 cruces). Não obtivemos, como se vê no Quadro VI, reações negativas, em nenhum paciente, com os 3 antígenos.

Após êsses resultados passamos a fazer a reação com esporotriquina N 2 e N 3 (Quadro VII).

As reações feitas com N 2 continuaram a ser positivas em todos os casos estudados, o mesmo não acontecendo com N 3 que foi negativa em um dêles (caso 24). Esta reação negativa, juntamente à fraca positividade de outras, que já vinham sendo observadas desde o início das experimentações, difíceis de serem avaliadas, fizeram com que abandonássemos o uso da esporotriquina N 3. Julgamos ser êsse antígeno excessivamente diluído, perdendo já a sensibilidade.

Passamos, então, a usar o antígeno N 2 (Quadro VIII), com o qual estudamos mais 26 pacientes. Fizemos mais essa série de provas com êsse antígeno, porque com o N 1 já tínhamos boa experiência, adquirida em trabalhos anteriormente feito e já citado (LACAZ & colab., 1953) e em parte dêste; sabíamos que de sua injeção resultavam reações positivas em pacientes com esporotricose, mas conhecíamos também a ocorrência de reações positivas em indivíduos não portadores de esporotricose. O antígeno N 2 vinha

dando bons resultados em portadores de esporotricose e algumas experiências que iam sendo conduzidas paralelamente em pacientes com outras afecções micóticas e não micóticas, mostravam melhor especificidade de N 2 do que de N 1. Por êsses motivos resolvemos prosseguir nossa verificação com o emprêgo dêsse antígeno. Em mais 26 portadores de esporotricose foi o mesmo estudado. Em 25 a reação foi positiva, em graus variáveis, conforme mostra o Quadro VIII. Em 1 foi negativa (caso 47). Julgando ter sido a reação negativa porque o antígeno N 2 era insuficiente para demonstrar a sensibilização, repetimos a reação com N 1 e N 2 no caso 47, dois meses após a primeira prova, usando antígenos de outra partida, embora o anterior estivesse dando reações bastante nítidas. Repetida, foi novamente negativa, o que nos leva a supor que não se trate de antígeno de fraca potência.

O Quadro IX mostra os resultados obtidos com o uso do antígeno polissacarídico em 23 pacientes.

Diluído a 1/100 (antígeno P 1), houve reações positivas em 21 dos 23 pacientes estudados. A concordância obtida com o antígeno N 2 foi quase total. Um dos casos que reagiu negativamente ao antígeno P 1 foi o mesmo que reagiu negativamente aos antígenos N 1 e N 2 (caso 47). O caso 50 reagiu negativamente ao polissacarídeo e positivamente ao antígeno N 2.

Diluído a 1/500 (P 2) e a 1/1.000 (P 3) a sensibilidade do antígeno polissacarídico deixa a desejar; aparecem maior número de reações negativas e fracamente positivas (1 e 2 cruces), diminuindo as reações nítidas, fortemente positivas (3 e 4 cruces).

No Quadro X estão os resultados encontrados com a prova da esporotriquina em pacientes curados de esporotricose. A prova mostrou-se positiva nos 5 casos estudados, quer com os antígenos N 1 e N 2, quer com os P 1 e P 2.

No caso 2, a reação feita após a cura mostrou-se menos intensamente positiva que por ocasião da moléstia em atividade; nos casos 17 e 27 não houve diferença nítida entre as reações praticadas nas duas ocasiões. No caso 23, a reação após a cura foi mais intensa do que na vigência da moléstia. O caso 66 havia sido estudado por LACAZ & colab. (1953), época na qual a reação com antígeno F havia sido fortemente positiva (4 cruces). Repetida a reação 7 anos após a cura, continuava fortemente positiva quer ao antígeno N, quer ao P.

Após estes comentários a propósito dos resultados obtidos nos 5 primeiros grupos de pacientes estudados, isto é, portadores de esporotricose, atual ou pregressa, julgamos de interesse fazer algumas apreciações sobre a sensibilidade da reação. Em 65 pacientes, portadores de esporotricose em atividade e em 5 curados de infecção, nos quais a prova foi feita com o antígeno N, foi ela positiva em todos os casos, exceto um. Com o antígeno P, estudado em 23 casos, com P 1 tivemos 21 reações positivas e 2 negativas; com P 2, 19 positivas e 4 negativas e com P 3, 13 reações negativas e 10 positivas. Os resultados obtidos com P 1 são satisfatórios no que diz respeito à sensibilidade, com P 2 são quase semelhantes, porém as reações são menos evidentes, de leitura difícil, sobretudo nas pessoas de pele escura.

A ocorrência de provas negativas em portadores de esporotricose em atividade, conquanto raramente verificada, já o tem sido (GONZALEZ OCHOA & SOTO FIGUEIROA, 1947; THOMAS & colab., 1951). Em pacientes curados são raras também as referências a provas negativas.

CHOPIN (1910) cita prova negativa num caso curado há 2 anos e GONZALEZ OCHOA (1959) refere que a reação com o antígeno polissacarídico que usa, torna-se negativa após alguns meses.

Nos casos em que foi feita, concomitantemente, a prova aos antígenos N e P, houve concordância de resultados quase total entre o que encontramos com o antígeno N 2 e P 1. Somente um paciente (caso 50) reagiu positivamente ao antígeno N 2 e negativamente ao antígeno P 1. Fato semelhante observaram em dois casos LACAZ & colab. (1953) trabalhando com antígenos F, N (equivalente ao nosso N 1) e polissacarídeo preparado segundo GONZALEZ OCHOA & SOTO FIGUEIROA (1947).

Nos 5 pacientes curados de esporotricose que estudamos, as reações foram positivas em todos, com ambos os tipos de antígeno.

A interpretação da razão de ser destas provas negativas em pacientes portadores de esporotricose é difícil. WILSON (1957), analisando os dados de GONZALEZ OCHOA & SOTO FIGUEIROA (1947) supõe que, em casos de esporotricose disseminada, a reação seja negativa. Não julgamos que tal seja verdadeiro, primeiramente por termos encontrado referências na literatura a casos de esporotricose disseminada com reação positiva (LACAZ & colab., 1953; SHOEMAKER & colab., 1957; ARTHUR & ALBRITAIN, 1958) e também por termos feito essa verificação (caso 58). De fato, não

temos explicação satisfatória para justificar a ocorrência de reações negativas em portadores de esporotricose. Não cremos que em nosso caso a negatividade seja decorrência do pequeno tempo de infecção, daquilo que WILSON (1959) chama de "período de latência", dado que nosso paciente (caso 42) já estava doente há 1 ano e 4 meses, tempo suficiente para ocorrer a sensibilização. Duas hipóteses ocorrem-nos para tentar explicar o fato; a presença de fator anergizante, cuja percepção nos escapou ou uma incapacidade do organismo em se sensibilizar ao fungo. São contudo, meras hipóteses.

Para comentar a especificidade da reação passaremos a analisar os resultados encontrados nos itens B e C do Capítulo III.

Mesmo trabalhando com antígeno mais diluído que o usado inicialmente por LACAZ & colab. (1953), obtivemos reações positivas em portadores de outras micoses (item B).

O número de provas positivas com o emprêgo do antígeno N 2 é menor do que com o N 1, porém continuam a existir. O antígeno N 3 praticamente não foi estudado, pois como já foi referido, sua sensibilidade deixava a desejar.

O antígeno polissacarídico mostrou, no que diz respeito à especificidade, pequena discordância de achados com relação ao antígeno N 2. Conforme já assinalamos, somente uma vez verificamos reação totalmente negativa ao antígeno P e positiva ao antígeno N (caso 83). Um caso de blastomicose (n.º 79) reagiu positivamente só ao antígeno P 1 e 1 caso de *Tinea pedis*, com "ide", nas mãos, aos antígenos P 1 e P 2. Supondo que se trate de reações de grupo, os antígenos P mostraram especificidade praticamente igual a N 2. Os antígenos P 1 e P 2 podem ser utilizados quase que indistintamente. O antígeno P 2, como já foi referido, teve as desvantagens de dar, com freqüência, reações muito débeis, difíceis de serem avaliadas e maior número de reações negativas em portadores de esporotricose. No grupo de pacientes diversos (item C), os resultados com o antígeno N 2 são nitidamente melhores que os obtidos com N 1 (9 reações positivas com N 1 e 5 com N 2). Neste grupo, melhor do que no anterior, cremos ter ficado demonstrada a melhor sensibilidade da reação quando feita com o antígeno N 2.

Os resultados que observamos com os antígenos P 1 e P 2, desprezados os de P 3, pois êste, como já salientamos, é de concentração insuficiente para dar reação positiva em percentagem razoável de casos de esporotricose, mostram que o número de reações



positivas é menor que com o antígeno N 2, denotando melhor especificidade dos antígenos P. Num único caso (n.º 137), e para êle não temos explicação, a prova foi fracamente positiva com P 1 e P 2, e negativa com N 1 e N 2.

O aparecimento de reações positivas neste grupo de pacientes é de interpretação difícil. Se, no grupo anterior podemos interpretar as reações positivas como fenômeno de co-sensibilização, tal explicação não servirá para o grupo de portadores de afecções diversas, não fúngicas. A nosso ver, três possibilidades existem para explicar essas reações positivas:

- 1) inespecificidade da reação;
- 2) sensibilização ao *Sporotrichum schencki* em indivíduos que não desenvolveram esporotricose;
- 3) sensibilização a outros fungos, com os antígenos do *Sporotrichum schencki*.

Entre nossos casos encontramos dois que sugerem a possibilidade de que os indivíduos hajam se sensibilizado ao *Sporotrichum schencki*, sem haver contraído esporotricose. O caso 141 fez a prova de esporotriquina em 1951 com resultado negativo. Até então nunca havia tido contato com *Sporotrichum schencki*. Nos anos subsequentes entrou seguidamente em contato, com pacientes e com cultivos de *Sporotrichum schencki*. Nunca teve esporotricose e em 1958 fez novamente a reação, agora com resultado fortemente positivo. O caso 147 é o de um técnico que nos vem auxiliando e que conquanto nunca tivesse tido esporotricose, também reagiu positivamente à esporotriquina.

Outro caso, o de n.º 144 é também o de uma pessoa que, conquanto não trabalhe diretamente com fungos, exerce suas atividades no laboratório onde foi feito êste estudo, local onde se trabalha ativamente com cogumelos.

As verificações feitas nesses 3 casos sugerem-nos a possibilidade de que existam casos de "esporotricose-infecção" semelhantes aos já conhecidos de "histoplasmose-infecção", "coccidioidomicose-infecção", "blastomicose-infecção" (LACAZ & colab., 1959), etc.

Neste setor, isto é, pesquisas sôbre a "esporotricose-infecção", pretendemos prosseguir, em futuro, nossas indagações.

Além dos comentários já feitos, que julgamos os mais importantes, desejamos fazer alguns outros.

Assim pois, a prova da esporotriquina permitiu diagnosticar 7 casos com suspeita clínica de esporotricose, nos quais as culturas foram negativas. Propositadamente não os incluímos na casuística, por motivo já referido. Nesses casos a prova terapêutica falou a favor de que se tratassem realmente de esporotricose.

Não podemos com o nosso material de estudo fazer observações com relação ao tempo em que a reação torna-se positiva. Os casos mais precoces que tivemos datavam de 3 semanas, tendo sido a prova positiva em todos. Não notamos também relação bastante nítida entre a forma clínica da moléstia e a intensidade da reação. Encontramos reações intensamente positivas em portadores de formas mínimas, localizadas, de esporotricose (casos 12, 16 e 40 por exemplo) e reações fracamente positivas em portadores de formas com comprometimento mais extenso (casos 20, 39, 52 e 53 por exemplo).

O estudo histopatológico efetuado, propiciou oportunidade para alguns comentários que fazemos a seguir.

#### a) REAÇÃO AO ANTÍGENO N 2

Um esboço da seqüência de eventos histológicos pode ser obtido através do exame das biopsias sucessivas da paciente A.J.G. (caso 31). A biopsia, obtida 6 horas após à injeção intradérmica do antígeno, demonstra edema difuso da derme, que é bem visível nas papilas. A epiderme mostra-se retificada pelo edema subjacente, podendo-se observar que a hiperpigmentação da camada basal é mais visível. Verifica-se infiltrado inflamatório dérmico constituído por células histiocitárias, de núcleo alongado, citoplasma de limites pouco precisos, de mistura com pequeno número de células mononucleares, o conjunto se dispendo em tórno a capilares da papila dérmica e ao redor de anexos, principalmente glândulas sebáceas. O exame das porções mais superficiais da derme mostra ocasionais células histiocitárias carregadas de pigmento pardo-escuro, possivelmente melânico. Estas células são bem visíveis próximas a capilares.

Após 12 horas o quadro permanece inalterado, exceto pelo fato da reação inflamatória perivascular e perianexial tornar-se mais evidente, surgindo outro elemento da mesma, que é o polimorfonuclear neutrófilo. Mostram-se em pequeno número e íntegros. A biopsia, retirada 24 horas após, mostra, de particular, apenas decréscimo na intensidade do edema, a reação inflamatória persistindo

com sua intensidade inalterada. O aumento do número de polimorfonucleares neutrófilos faz-se mais proeminente 48 horas após, porém ainda não se observam sinais degenerativos nos mesmos. É de se notar que, junto aos remanescentes do edema superficial da derme, o colágeno assume aspecto levemente granuloso. Um diagnóstico de degeneração fibrinóide não pôde ser feito com certeza, uma vez que êsse colágeno se dispõe próximo à área de edema; além do mais, não se nota nenhuma alteração tintorial pelo cresil-violeta e pelo PAS.

Após 72 horas, verificaram-se nesta paciente aumento e certa predominância da reação neutrófila sôbre as demais. Os neutrófilos mostram sinais degenerativos, formando-se então verdadeira área abscedada próxima a glândulas sebáceas. O processo agride parcialmente o epitélio, com destaque segmentar do mesmo, deixando no local pequena área hemorrágica. Observa-se também destruição parcial de glândulas sebáceas. O quadro evolui para extensa ulceração, como é vista após 7 dias.

O exame de biopsias em tempos diferentes de pacientes diversos, funciona como complemento ao estudo da reação histopatológica. É assim que, 3 dias após (biopsia 4574) observa-se, de mistura com neutrófilos íntegros e degenerados, eosinófilos em número variável. É de se notar a tendência da reação neutrófila não só a se dispor junto a anexos, mas a destruí-los parcialmente. Disto resulta inclusive imagens de foliculites de intensidade variável, bem visíveis em biopsias mais tardias. Outro fato que observamos foi o ocasional aparecimento de depósito vermelho vivo homogêneo, seja abaixo dos capilares, seja sob a membrana basal de glândulas sebáceas. Raras vêzes pudemos encontrar aspectos sugestivos de degeneração fibrinóide do colágeno. Os capilares, junto ao processo agudo, reagem de maneira diversa. É relativamente freqüente, entretanto, o encontro dêstes vasos com revestimento endotelial tumefeito, inclusive com figuras de mitose. Verdadeiras arterites agudas não são visíveis, o infiltrado inflamatório que se dispõe em tôrno das mesmas sendo geralmente mistura de neutrófilos, eosinófilos e células mononucleares, com predominância dêstes dois últimos elementos.

Em tôrno do 5.º dia (biopsia 4605) observamos ao lado da reação exsudativa, inclusive com a formação de abscessos, o aparecimento de reação produtiva, de caráter granulomatoso, localizada seja nas porções superficiais, seja nas porções profundas da derme. Caracteriza-se pelo acúmulo de células histiocitárias, algumas vêzes

em arranjo epitelióide, ao lado de células gigantes tipo Langhans e corpo estranho. Predominam as primeiras sobre as últimas.

A concomitância do quadro exsudativo da reação ao produtivo persiste, num equilíbrio variável de caso para caso, através de todas as biopsias examinadas. É de se notar o predomínio deste último em biopsias em torno dos 14 a 17 dias (4591, 4567 e D. S.). Entretanto, durante todo o evoluir do processo, o quadro subagudo com eosinófilos é visto em torno a pequenos vasos e anexos da pele.

Resumindo, a reação histopatológica ao antígeno N 2 passa por fase de proliferação local fugaz, a qual logo se sucede quadro exsudativo predominante, cuja intensidade máxima é em torno do 3.º dia. Observamos destruição parcial de anexos e do epitélio pelo processo, resultando ulceração de profundidade e extensão variáveis.

A seguir verificamos o estabelecimento de fenômenos de caráter produtivo, com formação de granulomas, por vezes de centro supurado. Com o passar do tempo, eles tendem, juntamente à proliferação local de caráter mais geral, a dominar o quadro histopatológico.

Outros achados a notar no acme da reação estão representados pela reação eosinófila e pelo ocasional aparecimento de depósito de caráter fibrinóide abaixo da íntima de pequenos vasos e sob a membrana basal de anexos da pele.

#### b) REAÇÃO AO ANTÍGENO P 1

Está caracterizada por processo inflamatório sugestivo também de patogenia alérgica, que se manifesta por infiltrado constituído de células histiocitárias, de mistura a eosinófilos e raros neutrófilos. Estes últimos elementos são particularmente evidentes nas primeiras 24 horas. A inflamação se dispõe junto a anexos e principalmente capilares da pele. Os anexos são, por vezes, parcialmente destruídos pelo processo. Os capilares mostram tumefação das células endoteliais, edema de parede e proliferação histiocitária periférica. Após 72 horas o edema de caráter crônico é expresso por depósito hialino na parede dos vasos. Idêntico aspecto foi visto no colágeno junto aos anexos. A membrana basal dos mesmos apresenta-se fortemente espessada.

A predominância de histiócitos na reação tende a se acentuar progressivamente, com manutenção do arranjo perianexial e pe-

rivascular. Após 8 dias foi visto em um dos casos a formação de granuloma, com células gigantes principalmente do tipo corpo estranho.

Em nenhum dos casos verificamos alterações significativas de epitélio. A não ser por edema intra e intercelular focal, visto nas primeiras 72 horas, êle nada mostrou digno de nota. O colágeno também não apresenta modificações fundamentais, exceto nos pontos de contato da agulha, onde êle se mostra mais denso e de aspecto mais grosseiro.

\* \* \*

Comparando os dois tipos de reação, é de se notar a maior intensidade daquela ao antígeno contendo elementos figurados, levando inclusive à ulceração do epitélio em alguns casos. A formação de granuloma é bem evidente, muito embora a parte exsudativa da reação permaneça como tal, ao lado da produtiva. Neste ponto a reação assemelha-se muito àquela que é vista na esporotricose, sugerindo que esta última seja de caráter alérgico e desta maneira explicando a difícil demonstração dos parasitas ao exame histopatológico da lesão.

Com o antígeno solúvel a reação foi menos destrutiva, afetando quando muito, porção de anexos. Entretanto, após 8 dias vimos a formação de granuloma perianexial, desta maneira sugerindo a hipersensibilidade como um dos elementos básicos para o aparecimento desta particular manifestação morfológica.

## CAPÍTULO V

### RESUMO E CONCLUSÕES

Preocupamo-nos, no presente trabalho, em trazer contribuição para o melhor conhecimento da prova imuno-alérgica da esporotriquina, estudando 2 tipos de antígenos em concentrações diferentes. Após experiência preliminares, feitas com LACAZ e LOPES (LACAZ & colab., 1953), passamos a estudar mais pormenorizadamente dois antígenos: o primeiro constituído por suspensão de elementos leveduriformes do *Sporotrichum schencki*; o segundo, por substância antigênica rica em polissacarídeo, obtida do mesmo fungo, cultivado a 37° C em meio de FRANCIS ou em meio de SABOURAUD, extraída por autoclavagem de suspensão do *Sporotrichum schencki*, variante leveduriforme, segundo técnica de NORDÉN (1951), modificada por FAVA NETTO (1955), para extração de polissacarídeo de *Paracoccidioides brasiliensis*.

No prefácio e na introdução, procuramos justificar o interesse prático e teórico do assunto. Do ponto de vista prático, desejávamos saber até que ponto a prova da esporotriquina tem valor como método diagnóstico. Do ponto de vista doutrinário, procuramos trazer contribuição para o melhor conhecimento da imuno-alergia dessa micose, principalmente no que se refere à possibilidade da existência da "esporotricose-infecção", o que, uma vez positivado, viria a colocar a prova da esporotriquina em posição semelhante a outras provas intradérmicas, usadas em algumas micoses profundas, tais como a histoplasmina e a coccidióidina.

Julgamos, após a revisão bibliográfica, serem necessários novos estudos para formar melhor juízo sobre a reação.

No Capítulo II, estudamos os antígenos utilizados. O obtido por suspensão do *Sporotrichum schencki*, na fase leveduriforme, foi padronizado por método espectrofotométrico em 3 concentrações distintas; o antígeno polissacarídico, pelo volume de substância extraída inicialmente, por acetona e éter e depois por autoclavagem a 120° C. O extrato, assim obtido, foi diluído a 1/100, 1/500 e 1/1.000 e utilizado como antígeno para a reação. Não fizemos experiências com esporotriquina-filtrado, devido às dificuldades em padronizar tal antígeno.

É apresentada a técnica da reação, a habitualmente empregada para reações intradérmicas, e o critério usado para a leitura das mesmas, semelhante ao proposto pelo "Department of Health, Education and Welfare of Public Health Service" (1954) para a histoplasmina. Subdividimos os resultados das reações positivas em uma, duas, três e quatro cruces, com o fim exclusivo de dar ao leitor uma idéia sobre o grau de positividade das mesmas.

É apresentado o método usado no estudo da histopatologia da reação. Consistiu êle na injeção dos 2 tipos de antígenos utilizados (N 2 e P 1) em pacientes portadores de esporotricose e execução de biopsias, sempre sob anestesia local, pelo cloreto de etila, em espaços de tempo variáveis para formar idéia sobre a seqüência evolutiva da histopatologia do processo. Os fragmentos de pele foram fixados em formol a 10%, incluídos em parafina, cortados, sendo a coloração básica a hematoxilina-eosina. Quando julgado necessário, foram coradas lâminas por outros processos, HOTCHKISS MAC MANUS (PAS) e cresil-violeta.

No Quadro IV apresentamos a maneira como se distribuíram os pacientes nos quais foi biopsiada a reação ao antígeno N 2, em

relação ao tempo decorrido entre a injeção do antígeno e a retirada do fragmento de pele; no Quadro V, os mesmos dados com relação ao antígeno P 1.

No Capítulo III, expomos os resultados obtidos nos diversos pacientes, os quais foram distribuídos da seguinte maneira:

#### A) PORTADORES DE ESPOROTRICOSE, ATUAL OU PREGRESSA

Compreendem 5 grupos, a saber:

1.<sup>o</sup> grupo (18 casos) — pacientes portadores de esporotricose em atividade, nos quais foi feita a reação com esporotriquina N 1, N 2 e N 3. A reação foi positiva em todos eles (Quadro VI). Verificamos maior número de reações fortemente positivas com o antígeno N 1 do que com N 2 e N 3, resultado êsse que seria de se prever. De modo semelhante, houve maior número de reações fortemente positivas com N 2 que com N 3.

2.<sup>o</sup> grupo (21 casos) — pacientes portadores de esporotricose em atividade, nos quais foi praticada a reação com esporotriquina N 2 e N 3. A prova foi, como no grupo anterior, positiva em todos os casos com antígeno N 2; negativa em um deles com a esporotriquina N 3.

3.<sup>o</sup> grupo (26 casos) — pacientes portadores de esporotricose em atividade, nos quais foi feita a reação com esporotriquina N 2. A reação foi positiva em 25 dos 26 indivíduos estudados. Considerando conjuntamente êstes 3 grupos, isto é, indivíduos com esporotricose em atividade, nos quais foi praticada a prova da esporotriquina com antígeno N 2, verificamos que ela foi positiva em 64 dos 65 pacientes (98,46%).

4.<sup>o</sup> grupo (23 casos) — pacientes portadores de esporotricose em atividade nos quais foi realizada, além da prova com esporotriquina N 2, reação com antígeno polissacarídico obtido de culturas do *Sporotrichum schencki*, por método anteriormente citado. O referido antígeno foi diluído a 1/100 (P 1), 1/500 (P 2) e 1/1.000 (P 3) e usado em prova intradérmica. Com o antígeno P 1 obtivemos 21 provas positivas (91,30%) e duas negativas; com P 2, 19 positivas (82,60%) e 4 negativas e com P 3, 13 provas negativas e 10 positivas (43,47%).

5.<sup>o</sup> grupo (5 casos) — pacientes nos quais foi feita a esporotriquina após a cura clínica do processo. O tempo de cura variava

entre 3 meses e 7 anos. A prova foi positiva nos 5 casos estudados, com os antígenos N 2, P 1 e P 2. Com o antígeno P 3 foi positiva em 3 casos e negativa em dois.

#### B) PORTADORES DE OUTRAS MICOSES

Foram estudados 25 pacientes, 23 com a moléstia em atividade e 2 curados. Em todos, a reação foi praticada com os antígenos N 1 e N 2; em 22 deles, foi feita também com P 1, P 2 e P 3.

A reação com antígenos N foi positiva num caso de *Tinea corporis* (n.º 73) e num de blastomicose (n.º 78) com N 1 e negativa com N 2; foi positiva tanto com N 1 como com N 2 em dois casos de blastomicose e em dois de *Tinea pedis* com "ide" (ns. 82 e 87), (N 1 - 24% e N 2 - 16% de positividade neste grupo). Com o antígeno P, verificamos as seguintes reações positivas: um caso reagiu positivamente a P 1 (n.º 79), outro positivamente a P 1 e P 2 (n.º 87) e um terceiro a P 1, P 2 e P 3 (n.º 82). (P 1 - 13,63%, P 2 - 9,09% e P 3 - 4,54% de positividade neste grupo).

#### C) EM PACIENTES DIVERSOS

Foram estudados 58 indivíduos portadores de afecções diversas, sendo incluídos, também, alguns normais. A prova foi praticada em todos com os antígenos N 1 e N 2 e em 54 dos 58 também com o polissacarídeo nas 3 diluições anteriormente citadas.

A relação com N 1 foi negativa em 49 indivíduos e positiva em 9 (15,51%); com N 2 positiva em 5 (8,62%) e negativa em 53. Com o antígeno P 1 encontramos 5 reações positivas (9,25%) em 54 feitas; com P 2 quatro positivas (7,40%) e 50 negativas e com P 3, duas positivas (3,70%) e 52 negativas.

Ainda no mesmo capítulo, no item D, descrevemos, de modo sumário, a macromorfologia da reação. As alterações locais verificadas à leitura de 48 a 72 horas foram: eritema, pápula, pápula edematosa, tubérculo, nódulo, vesícula, pústula e úlcera. A lesão elementar mais freqüentemente observada foi a pápula edematosa. A formação de vesícula, pústula e ulceração já às 48-72 horas foi, com freqüência, observada nas reações fortemente positivas. O que verificamos, com relação às reações tardias à esporotriquina, confirma as observações de MIRANDA & colab. (1958).

Reações gerais observamos raramente e quando presentes, de pequena intensidade.



No item E do Capítulo III apresentamos os resultados do estudo da histopatologia da reação. Uma apreciação global das biopsias estudadas mostra que a reação histopatológica à esporotriquina passa por fase de proliferação local, passageira, a qual se acrescenta posteriormente quadro exsudativo. Segue-se nova reação produtiva com o aparecimento de granuloma. A reação ao antígeno N 2 é mais intensa do que ao P 1.

Dos resultados apresentados concluímos que, dentre os antígenos estudados os mais próprios para uso são o N 2 e o P 1. O antígeno N 2 mostrou sensibilidade muito boa (reação positiva em 64 dos 65 casos estudados (98,46%); igual ao N 1, nos casos em que ambos foram utilizados. Quanto à especificidade, no grupo de pacientes com outras micoses, com N 1 verificamos 6 reações positivas (24%) e com N 2, quatro (16%) e no grupo de pacientes diversos, com N 1 obtivemos 9 reações positivas (16,07%) e com N 2 cinco (9,10%).

No Capítulo IV comentamos os resultados obtidos. Verificamos que o uso da esporotriquina em diluição maior (N 2) que a anteriormente usada por LACAZ & colab. (1953) proporcionou-nos resultados semelhantes no que se refere à sensibilidade da reação e melhoria da especificidade. Mesmo assim, verificamos a ocorrência de reações, provavelmente de grupo, em pacientes portadores de outras micoses. Algumas verificações feitas em pacientes sem esporotricose atual ou pregressa e sem outra micose atual, sugerem a existência de "esporotricose-infecção", tal como supõem MACKINNON & colab. (1953a). O estudo comparativo de antígeno preparado a partir da fase leveduriforme do *Sporotrichum schencki* (N 2) e polissacarídeo extraído do mesmo fungo mostrou não existir vantagem no emprêgo dêste último antígeno.

Sua sensibilidade foi menor, e também com êle ocorreram, embora em menor número, reações positivas em outros pacientes, não portadores de esporotricose.

O estudo de 5 indivíduos, que haviam tido esporotricose, mostrou que até 7 anos após a cura podem-se obter reações positivas à esporotriquina.

Do estudo feito, depreendemos que a prova da esporotriquina, desde que criteriosamente interpretada, ao lado da clínica, pode se constituir num recurso de valor como elemento de diagnóstico presuntivo, precoce, da esporotricose. Deverá ser praticada junto com as culturas. De modo algum êste recurso, indireto, deverá ser mais

valorizado que o isolamento do fungo das lesões. Não pudemos, no material estudado, chegar à conclusão sobre a época em que a prova torna-se positiva, assim como não nos foi possível também estabelecer relação nítida entre forma clínica da moléstia, tempo de duração da mesma e grau de positividade da reação.

O estudo histopatológico efetuado mostrou reação mais intensa ao antígeno contendo elementos celulares que ao solúvel. A reação histopatológica à esporotriquina evidenciou certa semelhança com a histopatologia da esporotricose, o que sugere existir nesta um componente alérgico, que explicaria a dificuldade em encontrar-se, à microscopia, o parasita nas lesões.

#### SUMMARY AND CONCLUSIONS

It is the author's purpose in this paper to help lead to a wider appreciation of the "imuno-allergy" SPOROTRICHIN test, by the study of two types of antigens in various concentrations. Following the preliminary investigation of LACAZ *et al.* (1953), the author studied two antigens in greater detail: the first a suspension of the yeast-like elements of the *Sporotrichum schencki*; the second, an antigen rich in polysaccharides obtained from the same fungus, cultured at 37° with the FRANCIS and SABOURAUD media, extracted by autoclaving a suspension of *Sporotrichum schencki*, yeast like type according to the technique of NORDÉN (1951) modified by FAVA NETTO (1955) for the extraction of the polysaccharides of *Paracoccidioides brasiliensis*.

In the preface and introduction, reasons are given for the belief that the matter is an important one in both its theoretical and practical aspects.

From the practical point of view it is necessary to know the exact validity of the Sporotrichin test as a diagnostic method. From the theoretical view point it is hoped to lead to a better understanding of the immuno-allergy of this mycosis, especially that aspect dealing with the possible existence of an "sporotrichosis infection" which, once proved, would put the Sporotrichin test in the same category as the other intradermal tests used for certain deep mycosis such as histoplasmosis and coccidioidomycosis.

After reviewing the literature of the subject it was felt that further studies were required to lead to a better evaluation of this reaction.

In the second chapter the antigen at present in use are investigated. That obtained from the suspension of *Sporotrichum schenki* in its yeast like phase was standardized by spectroscopy in 3 different concentrations; the polysaccharide antigen was extracted from the original substances with acetone and ether and later by autoclaving at 120°. The extract thus obtained was diluted to 1/100, 1/500 and 1/1000 and used as the antigen in the reaction.

Tests were not made using filtered Sporotrichin because of the difficulty of standardizing such an antigen.

The technique of the test is described, it is that normally used for skin tests, and also the criteria employed in reading the reaction. These were those proposed by the Department of Health, Education and Welfare of Public Health Service (1954) for histoplasmosis.

Positive results were divided into groups one, two, three, or four to give the reader an idea of the degree of positivity obtained.

The method used to study the histopathology of the reaction is described. Both types of antigen (N 2 and P 1) are injected into patients with sporotrichosis and biopsies performed, under local anesthetic with ethyl chloride at different lengths of time to give an idea of the sequence of events taking place in the histopathology. The skin biopsies were fixed in 10% formalin embedded in paraffin and sectioned 5 to 6 micra thick, using hematoxylin and eosin as stain. When it was thought advisable, sections were made and stained by other methods, periodic acid-Schiff and cresyl violet.

Table IV shows the distribution of patients, in whom biopsies were made, of the reaction to antigen N 2 to the time between the injection of the antigen and the removal of the skin fragment; in Table V the same data are given for antigen P 1.

Chapter III sets out the results obtained in various patients which were distributed in the following manner:

(a) *Patients with sporotrichosis* (both active and past cases).

These consisted of five groups, i.e.:

1<sup>st</sup>. group (18 cases) patients with active sporotrichosis who were tested with sporotrichin N 1, N 2 and N 3. A positive reaction was obtained with all of these (Table VI). A greater number of strongly positive reactions was obtained with antigens N 1 than N 2 or N 3, the result which would be expected. In a similar manner there were a greater number of strong positive with N 2 than N 3.

2<sup>nd</sup> group (21 cases) patients with active sporotrichosis who were tested with sporotrichin N 2 and N 3. As in the former group, the test was positive in every case receiving antigen N 2; one case receiving N 3 was negative.

3<sup>rd</sup> group (26 cases) patients with active sporotrichosis who were tested with sporotrichin N 2. A positive reaction was given by 25 of the 26 cases tested.

Taking the three groups together it can be seen that of those individuals with active sporotrichosis who were given the sporotrichin test, using antigen N 2, 64 out of 65 gave a positive result (98.46%).

4<sup>th</sup> group (23 cases) patients with active sporotrichosis who as well as being tested with sporotrichin N 2 were also tested with the polysaccharide antigen obtained from cultures of *Sporotrichum schenki* by the above mentioned method. This later antigen was diluted to 1/100 (P 1), 1/500 (P 2) and 1/1000 (P 3) and injected intradermally.

With antigen P 1, 21 positive results were obtained (91.30%) and 2 negative results; with P 2, 19 positives (82.6%) and 4 negatives; with P 3, 13 negatives and 10 positives (43.47%).

5<sup>th</sup> group (5 cases) patients in whom the sporotrichin test was made after a clinical cure of the disease. The time elapsed since the cure varied between 3 months and 7 years. The test was positive in all 5 cases with antigens N 2, P 1 and P. 2. With antigen P 3 a positive test was obtained in 3 cases and a negative in 2.

#### (b) PATIENTS WITH OTHER MYCOSIS

Twenty five patients were studied, 23 with active disease and 2 cured cases. In all of these the test was performed with antigens N 1 and N 2 and in 22 cases with P 1, P 2 and P 3 in addition.

A positive result was obtained with the N antigens in one case of *Tinea corporis* (Nr. 23), in one of blastomycosis with N 1 (but negative with N 2); a positive with both N 1 and N 2 was given by 2 cases of blastomycosis and 2 of *Tinea pedis* with "id" (Nrs. 82, 87), (N 1 - 24% and N 2 - 16 positives in this group).

With antigen P the following positive results were obtained: one case reacted positively to P 1 (Nr. 79) another positively to P 1 and P 2 (Nr. 87) and a third to P 1, P 2 and P 3 (Nr. 82).

(P 1 - 13.63%, P 2 - 9.09% and P 3 - 4.54% positives in this group.)

### (c) MISCELLANEOUS CASES

Fifty eight other cases were studied with various diseases together with several normal individuals. The test was done in every case with antigens N 1 and N 2 and in 54 of the 58 cases with the polysaccharide antigen, in the three before mentioned dilutions, as well.

The result with N 1 was negative in 49 cases, and positive in 9 (15.51%); with N 2, positive in 5 (8.62%) and negative in 53. With the P 1 antigeno, 5 positive reactions (9.25%) were obtained in the 54 cases tested; with P 2, 4 positives (7.40%) and 50 negatives and with P 3, 2 positives (3.70%) and 52 negatives.

In the same chapter, section D, a summary is given of the macroscopic changes of the reaction. The local changes observed between the 48<sup>th</sup> and 72<sup>nd</sup> hours were: erythema, papular eruptions, papule with edema, tubercles, nodules, vesicles, pustules and ulceration. The basic lesion most frequently seen was edematous papule. Vesicles, pustules and ulceration were found as early as 48 - 72 hours in those lesions which were strongly positive. The author's findings with regard to the late changes with sporotrichin confirmed those of MIRANDA & colab. (1948).

Generalized reactions were rarely seen and when present were not of marked intensity.

In section E of chapter III the histopathology of the lesion is described.

An overall appreciation of the biopsies taken shows that the histology with sporotrichin passes from the phase of transient, local proliferation and later demonstrates the picture of exudation. This new productive reaction is followed by the appearance of granulation tissue. The reaction to antigen N 2 is more marked than that to P 1.

From these results it can be concluded that, of those antigens tested, the most satisfactory are N 2 and P 1. Antigen N 2 shows

itself to be extremely sensitive (positive reactions being obtained in 64 cases out of 65 in which both antigens were used).

With regard to the specificity; in that group of patients with other mycosis, with N 1, 6 positive reactions were obtained (24%) and with N 2, 4 (16%) and in the group of miscellaneous cases, with N 1, 9 positive results were seen (16.07%) and with N 2, 5 (9.10%).

In chapter IV comments are made upon the results obtained. It is shown that the use of sporotrichin in greater dilution (N 2) than was previously used by LACAZ & colab. (1953), gives equivalent results in respect to the sensitivity of the reaction and better results with regard to the specificity.

However even with this dilution there occurred some positive reactions, probably group reactions, in patients with other mycosis.

Some positive results obtained with patients who had neither active nor past sporotrichosis, nor other active mycosis, suggest the existence of "sporotrichosis infections" as MACKINNON & colab. (1953) have suggested.

A comparative study between the antigen prepared from the yeast like phase of *Sporotrichum schenki* (N 2) and the polysaccharide extract of the same mould shows that there is no advantage in using the latter antigen. Its sensibility was less and there also occurred, though less in number, positive reactions in other patients without sporotrichin.

From this study it can be seen that the Sporotrichin test, critically interpreted together with the clinical findings, can constitute a valuable armament in the early presumptive diagnosis of sporotrichosis.

The test should be carried out together with the making of cultures. But it should be realized that this indirect test is not more important than the isolation of the fungus from the lesions. No conclusions can be reached, from the material studied, as to the time at which the test becomes positive nor was it possible to establish a clear relationship of the clinical manifestation or duration of the disease with the degree of positive reaction obtained.

Histological studies showed a greater tissue reaction to an antigen containing cellular elements to that of one entirely in solution. The histological reaction of sporotrichin shows a certain similarity to that of sporotrichosis which suggests that there exists in this latter an allergic component, which would explain the difficulty in finding, microscopically, the parasite in the lesions.

# P R O T O C O L O S

## A — PACIENTES COM ESPOROTRICOSE, ATUAL OU PREGRESSA \*

N.º	INICIAIS	TEMPO DE DOENÇA	FORMA CLÍNICA	RESULTADO	OBSERVAÇÕES
1	A.M.S.	3 semanas	Cutânea localizada, ulcerosa	N 1 — Positiva (++) N 2 — Positiva (++) N 3 — Positiva (+)	Aos 13 dias, induração 5 mm N 1 e N 2 Ausência de induração N 3
2	S.M.N.	1 ano	Cutânea localizada, verrucosa	N 1 — Positiva (++++) N 2 — Positiva (++++) N 3 — Positiva (++)	Três anos e meio após, foi repetida a reação com o seguinte resultado: N 2 — Positiva (++) P 1 — Positiva (++++) P 2 — Positiva (+) P 3 — Positiva (+)
3	C.L.B.	1 mês	Cutânea linfática	N 1 — Positiva (++) N 2 — Positiva (++) N 3 — Positiva (+)	Aos 7 dias indurações de 12, 10 e 7 mm em N 1, N 2 e N 3 respectivamente
4	D.S.	1 mês	Cutânea linfática	N 1 — Positiva (++++) N 2 — Positiva (++) N 3 — Positiva (++)	Teve reação geral. Aos 17 dias indurações, ulceradas, de 8,8 e 6 mm em N 1, N 2 e N 3 respectivamente
5	N.L.F.	4 meses	Cutânea localizada, verrucosa	N 1 — Positiva (++) N 2 — Positiva (++) N 3 — Positiva (+)	Aos 10 dias indurações de 10, 10 e 9 mm em N 1, N 2, N 3; os dois primeiros ulcerados

(\*) Na designações das formas clínicas seguimos a classificação proposta por SAMPAIO & colab. (1954).

N.º	INICIAIS	TEMPO DE DOENÇA	FORMA CLÍNICA	RESULTADO	OBSERVAÇÕES
6	V.B.	5 meses	Cutânea localizada, ulcerosa	N 1 — Positiva (+++) N 2 — Positiva (++) N 3 — Positiva (+)	Aos 7 dias indurações 10 mm nas 3 reações
7	A.B.	6 anos	Cutânea localizada, ulcerosa	N 1 — Positiva (++) N 2 — Positiva (+) N 3 — Positiva (+)	Aos 7 dias indurações de 10, 10 e 8 mm em N 1, N 2 e N3; os dois primeiros com pústula central
8	C.D.	2 meses	Cutânea localizada, úlcero-vegetante	N 1 — Positiva (++++) N 2 — Positiva (+) N 3 — Positiva (+)	Aos 22 dias indurações de 5, 3 e 3 mm em N 1, N 2 e N 3
9	A.R.B.L.	1 mês e meio	Cutânea linfática	N 1 — Positiva (++) N 2 — Positiva (+) N 3 — Positiva (+)	—
10	X.G.	1 mês e meio	Cutânea linfática	N 1 — Positiva (++++) N 2 — Positiva (++++) N 3 — Positiva (+)	—
11	T.J.S.	1 mês e meio	Cutânea linfática	N 1 — Positiva (++++) N 2 — Positiva (++++) N 3 — Positiva (+)	Aos 18 dias, indurações de 3 mm nas três reações
12	S.S.B.	2 meses	Cutânea localizada, úlcero-vegetante	N 1 — Positiva (++++) N 2 — Positiva (++++) N 3 — Positiva (++++)	—



13	O.G.D.	8 meses	Cutânea localizada, verrucosa	N 1 — Positiva (++++) N 2 — Positiva (+) N 3 — Positiva (+)	Aos 31 dias, indurações de 5 mm nas 3 reações. N 3 — difícil de se avaliar
14	J.F.M.	2 meses	Cutânea localizada, verrucosa	N 1 — Positiva (+-) N 2 — Positiva (+) N 3 — Positiva (+)	N 3 — difícil de se avaliar. Pápula de 0,5 mm
15	J.F.	1 mês e meio	Cutânea localizada, ulcerosa	N 1 — Positiva (+-) N 2 — Positiva (+) N 3 — Positiva (+)	Doente de blastomicose. Curado há 5 anos
16	J.S.R.A.	1 mês	Cutânea localizada, acneiforme	N 1 — Positiva (++++) N 2 — Positiva (++++) N 3 — Positiva (++++)	—
17	N.C.A.	3 meses	Cutânea localizada, vegetante-verrucosa	N 1 — Positiva (++++) N 2 — Positiva (++) N 3 — Positiva (+)	Três meses após a cura foram repetidas as reações: N 2 — Positiva (++) P 1 — Positiva (++++) P 2 — Positiva (++) P 3 — Positiva (++)
18	A.S.S.	5 semanas	Cutânea linfática	N 1 — Positiva (+ + +) N 2 — Positiva (++) N 3 — Positiva (+)	—
19	A.M.	2 meses	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (+-) N 3 — Positiva (+)	Aos 7 dias, induração, ulcerada de 9 mm, em N 2 e N 3

N.º	INICIAIS	TEMPO DE DOENÇA	FORMA CLÍNICA	RESULTADO	OBSERVAÇÕES
20	M.T.	2 meses	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (+) N 3 — Positiva (+)	—
21	G.M.	1 mês e meio	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (+++) N 3 — Positiva (++)	—
22	C.F.O.	1 ano	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++++) N 3 — Positiva (++++)	—
23	H.V.B.	3 meses	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (+) N 3 — Positiva (+)	Após 8 meses: N 2 — (+++) P 1 — Positiva (+++) P 2 — Positiva (+++) P 3 — NEGATIVA
24	A.R.G.	1 mês e meio	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++++) N 3 — Positiva (++++)	—
25	L.H.F.	4 meses	Cutânea localizada	N 2 — Positiva (+) N 3 — Negativa	—
26	J.A.C.	1 ano e 4 meses	Cutânea localizada, ulcerosa	N 2 — Positiva (++++) N 3 — Positiva (++)	—

27	M.L.C.P.	2 meses	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (+) N 3 — Positiva (+)	Repetida após 5 meses (paciente curada)  N 2 — Positiva (++) P 1 — Positiva (++) P 2 — Positiva (+) P 3 — NEGATIVA
28	F.P.L.	1 mês e meio	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++++) N 3 — Positiva (++++)	—
29	A.C.R.	3 meses	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++++) N 3 — Positiva (++)	—
30	P.R.S.	3 semanas	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++) N 3 — Positiva (++)	—
31	A.J.M.	Recidiva de caso tratado 1 ano antes com Glucantime	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++) N 3 — Positiva (++)	—
32	C.L.B.	1 mês e meio	Cutânea localizada, úlcero-vegetante	N 2 — Positiva (++++) N 3 — Positiva (++)	Aos 8 dias, indurações de 5 e 8 mm respectivamente em N 2 e N 3
33	E.R.	2 meses	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++++) N 3 — Positiva (++)	—

N.º	INICIAIS	TEMPO DE DOENÇA	FORMA CLÍNICA	RESULTADO	OBSERVAÇÕES
34	D.P.	25 dias	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++++) N 3 — Positiva (+) P 1 — Positiva (++++) P 2 — Positiva (++) P 3 — Positiva (+)	—
35	B.S.N.	2 meses	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++++) N 3 — Positiva (++++)	—
36	M.O.A.N.	1 mês e meio	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++) N 3 — Positiva (++)	Aos 9 dias, nódulos de 1 mm em N 2 e N 3
37	W.M.	2 meses	Cutânea localizada, ulcerosa	N 2 — Positiva (++++) N 3 — Positiva (+)	—
38	P.P.	Ignorado	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++++) N 3 — Positiva (++++)	—
39	S.A.	1 mês	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++) P 1 — Positiva (++) P 2 — NEGATIVA P 3 — NEGATIVA	—
40	O.B.F.	3 meses	Cutânea localizada, verrucosa. Forma minimal	N 2 — Positiva (++++) P 1 — Positiva (++++) P 2 — Positiva (++++) P 3 — Positiva (+)	Aos 8 dias, induração de 10 mm, em N 2. Mancha hipererômica, residual nas demais

41	S.Z.	3 meses	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (+ + + +)	—
42	R.F.S.	3 meses	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (+ +)	—
43	M.A.P.	1 mês e meio	Cutânea localizada, ulcerosa	N 2 — Positiva (+ +)	—
44	R.P.M.	2 meses	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (+ + + +)	—
45	M.D.T.B.	1 mês	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (+) P 1 — Positiva (+ + + +) P 2 — Positiva (+ + +) P 3 — Positiva (+)	Pápulas perceptíveis somente ao tato
46	A.O.S.	3 meses	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (+ + +) P 1 — Positiva (+ + + +) P 2 — Positiva (+ + +) P 3 — Positiva (+ + +)	—
47	A.M.G.Z.	1 ano e 2 meses	Cutânea linfática	N 2 — NEGATIVA P 1 — NEGATIVA P 2 — NEGATIVA P 3 — NEGATIVA	Repetida após 2 meses, com antígeno de outra partida, inclusive N 1. Novamente NEGATIVA
48	H.G.P.	1 mês	Cutânea localizada, verrucosa	N 2 — Positiva (+) P 1 — Positiva (+ +) P 2 — Positiva (+) P 3 — NEGATIVA	—

N.º	INICIAIS	TEMPO DE DOENÇA	FORMA CLÍNICA	RESULTADO	OBSERVAÇÕES
49	X.I.	4 meses	Cutânea localizada, furunculóide	N 2 — Positiva (++) P 1 — Positiva (++++) P 2 — Positiva (++) P 3 — NEGATIVA	—
50	L.B.	1 mês e meio	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (+) P 1 — NEGATIVA P 2 — NEGATIVA P 3 — NEGATIVA	—
51	N.G.	6 meses	Cutânea localizada, verrucosa	N 2 — Positiva (++++) P 1 — Positiva (++) P 2 — Positiva (++) P 3 — NEGATIVA	—
52	J.G.G.	2 meses e meio	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (+++) P 1 — Positiva (++++) P 2 — Positiva (++) P 3 — NEGATIVA	—
53	D.C.S.	3 semanas	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++) P 1 — Positiva (++++) P 2 — Positiva (+) P 3 — Positiva (+)	—
54	J.M.	1 mês e meio	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++++) P 1 — Positiva (++) P 2 — Positiva (++) P 3 — Positiva (++)	—

55	J.S.M.	1 mês e meio	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++++) P 1 — Positiva (++++) P 2 — Positiva (++++) P 3 — Positiva (++)	—
56	E.A.J.	6 meses	Cutânea localizada, ulcerosa	N 2 — Positiva (+) P 1 — Positiva (++) P 2 — Positiva (++) P 3 — NEGATIVA	—
57	I.J.R.	1 mês	Cutânea localizada, verrucosa	N 2 — Positiva (++) P 1 — Positiva (++) P 2 — Positiva (+) P 3 — Positiva (+)	—
58	J.C.G.	4 meses	Cutânea disseminada	N 2 — Positiva (++++) P 1 — Positiva (++) P 2 — Positiva (++) P 3 — Positiva (+)	—
59	H.T.F.	3 meses	Cutânea localizada, úlcero-vegetante	N 2 — Positiva (+) P 1 — Positiva (++) P 2 — Positiva (+) P 3 — NEGATIVA	—
60	J.C.L.	2 anos	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++++) P 1 — Positiva (++++) P 2 — Positiva (++) P 3 — NEGATIVA	—

N.º	INICIAIS	TEMPO DE DOENÇA	FORMA CLÍNICA	RESULTADO	OBSERVAÇÕES
61	Y.H.	3 meses	Cutânea localizada, úlcero-vegetante	N 2 — Positiva (+) N 3 — Positiva (+)	—
62	J.D.	4 meses	Cutânea localizada, úlcero-vegetante	N 2 — Positiva (+++) P 1 — Positiva (+++) P 2 — Positiva (+) P 3 — NEGATIVA	—
63	A.L.	2 meses	Cutânea localizada, úlcero-vegetante	N 2 — Positiva (++++) P 1 — Positiva (++++) P 2 — Positiva (+++) P 3 — Positiva (+)	—
64	A.L.P.M.	1 mês	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (+) P 1 — Positiva (++) P 2 — NEGATIVA P 3 — NEGATIVA	—
65	N.S.	1 mês e meio	Cutânea linfática	N 2 — Positiva (++) P 1 — Positiva (++++) P 2 — Positiva (++) P 3 — NEGATIVA	—
66	G.E.C.	Teve esporotricose há 7 anos	—	N 1 — Positiva (++++) N 2 — Positiva (++++) P 1 — Positiva (++++) P 2 — Positiva (++++) P 3 — Positiva (++)	—



B — PACIENTES PORTADORES DE MICOSES DIVERSAS

N.º	INICIAIS	MICOSE	RESULTADO	OBSERVAÇÕES
67	A.P.S.	Blastomicose	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
68	S.A.A.	Blastomicose	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
69	A.S.B.	Maduromicose	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
70	M.M.J.	Cromomicose	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
71	J.M.S.	Blastomicose	N 1 — Positiva N 2 — NEGATIVA	—
72	J.J.	Cromomicose	N 1 e N 2 — NEGATIVAS	—
73	M.H.F.P.	<i>Tinea glabrosa corporis</i>	N 1 — Positiva (+) N 2 — NEGATIVA	—
74	O.S.C.	Blastomicose	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
75	C.S.B.	<i>Tinea capitis</i>	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
76	O.C.O.	Actinomicose	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—

N.º	INICIAIS	MICOSE	RESULTADO	OBSERVAÇÕES
77	A.F.A.	Blastomicose	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
78	J.C.S.	Blastomicose	N 1 — Positiva (+) N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
79	M.S.	Blastomicose	N 1 — Positiva (+++) N 2 — Positiva (++) P 1 — Positiva (+++) P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
80	D.C.S.	Blastomicose	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
81	B.A.	Blastomicose	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
82	R.A.	<i>Tinea pedis</i>	N 1 — Positiva (++++) N 2 — Positiva (++++) P 1 — Positiva (+++) P 2 — Positiva (++++) P 3 — Positiva (+++)	Apresentava-se, quando foram feitas as reações, com lesões de "ides" nas mãos.
83	J.F.B.	Blastomicose e Cisticercose	N 1 — Positiva (+++) N 2 — Positiva (++) P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
84	A.N.	Blastomicose	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—

85	S.E.S.	Blastomicose	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
86	T.S.	<i>Tinea glabrosa corporis</i>	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
87	O.C.S.	<i>Tinea pedis</i>	N 1 — Positiva (+++) N 2 — Positiva (++) P 1 — Positiva (+++) P 2 — Positiva (++) P 3 — NEGATIVA	Apresentava-se, quando foram feitas as reações, com lesões de "ide" nas mãos.
88	J.A.M.	Blastomicose	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
89	F.N.L.	<i>Pityriasis versicolor</i>	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	Convalescentes de tétano
90	M.C.C.	Monilíase	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	Clinicamente curada
91	M.L.L.	Monilíase	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	Clinicamente curada

## C — PACIENTES DIVERSOS

N.º	INICIAIS	AFEÇÃO	RESULTADO	OBSERVAÇÕES
92	S.F.N.	Esquistossomose mansônica, forma hepato-esplênica	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—

N.º	INICIAIS	AFEÇÃO	RESULTADO	OBSERVAÇÕES
93	O.B.D.	Foliculite do couro cabeludo	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
94	E.F.B.	Carcinoma da mão	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
95	I.C.S.	Tuberculose verrucosa	N 1 e N 2 — NEGATIVAS	—
96	M.J.A.	Piodermite ( <i>Staphylococcus pyogenes</i> , var. <i>aureus</i> )	N 1 e N 2 — NEGATIVAS	—
97	S.S.	Osteomielite	N 1 e N 2 — NEGATIVAS	—
98	R.M.A.F.	Eritema indurado de Bazin	N 1 e N 2 — NEGATIVAS	—
99	N.M.S.	Piodermite vegetante	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
100	J.J.T.	Esquistossomose mansônica, forma hêpa-to-esplênica	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
101	A.F.D.	Síndrome de hipertensão porta	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
102	P.J.M.	Lepra tuberculóide	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—

103	M.R.T.	Síndrome de hipertensão porta	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
104	D.S.	Esquistossomose mansônica, forma hêpa- to-esplênica	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
105	O.A.O.	Esquistossomose mansônica, forma hêpa- to-esplênica	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
106	M.H.M.	Furunculose	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
107	W.B.S.	Esquistossomose mansônica, forma hêpa- to-esplênica	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
108	E.L.	Esquistossomose mansônica, forma hêpa- to-esplênica	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
109	N.S.O.	Esquistossomose mansônica, forma hêpa- to-esplênica	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
110	S.S.	Moléstia de Chagas, forma crônica	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
111	K.A.	Retículo-endoteliose	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
112	J.F.S.	Tuberculose ganglionar	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
113	J.A.P.F.	<i>Alopecia areata</i>	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—

N.º	INICIAIS	AFECCÃO	RESULTADO	OBSERVAÇÕES
114	M.E.B.	Úlcera inespecífica da perna	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
115	D.M.	Psoríase	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
116	A.C.	Lues terciária	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
117	C.M.	Tuberculose ganglionar	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
118	D.S.	Sem diagnóstico	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
119	J.H.B.	Leishmaniose	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
120	R.B.	Eritema nodoso	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
121	W.A.	Parotidite e pancreatite de etiologia não apuradas	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
122	C.P.P.	Névus linear verrucoso	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
123	A.L.S.	Eczema	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
124	R.M.C.	Eczema	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—

125	A.R.	Blefarite	N 1 — Positiva (+) N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
126	D.M.R.	Leishmaniose tegumentar	N 1 — Positiva (+) N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
127	I.B.S.	Foliculite do couro cabeludo	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
128	J.N.S.	Tuberculose cutânea, ulcerosa	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
129	N.A.S.	Leishmaniose tegumentar	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
130	J.B.R.	Líquen plano generalizado	N 1 — Positiva (+) N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
131	G.J.P.	Paquidermia plicaturata com paquiperiostoses	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
132	S.A.F.	Eczema	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
133	G.T.O.	Foliculite da pele glabra	N 1 — Positiva (+) N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
134	A.A.M.S.	Malária ( <i>Plasmodium vivax</i> )	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—

N.º	INICIAIS	AFECÇÃO	RESULTADO	OBSERVAÇÕES
135	F.B.L.	Esquistossomose mansônica mais <i>herpes zoster</i>	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
136	T.S.M.	Leishmaniose tegumentar	N 1 — Positiva (+) N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
137	U.M.S.	Leishmaniose tegumentar	N 1, N 2 e P 3 — NEGATIVAS P 1 e P 2 — Positiva (+)	—
138	R.P.S.	Úlcera inespecífica	N 1 e N 2 (++) P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
139	M.B.	Sem diagnóstico	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
140	L.M.	Sem diagnóstico	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
141	R.M.C.	Normal	N 1 e N 2 — Positiva (+++) P 1 — Positiva (+++) P 2 — Positiva (++) P 3 — Positiva (+)	Fêz esporotriquina com antígeno equivalente e N 1, em 1951, com resultado negativo
142	I.G.	Doença de Hodgkin	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
143	C.S.	Blefarite	N 1 e N 2 — Positiva (+) P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—



144	H.S.V.	Normal	N 1 e N 2 — Positiva (++++) P 1 — Positiva (++++) P 2 — Positiva (++++) P 3 — Positiva (+)	—
145	J.M.S.	Erisipela	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
146	R.P.	Cisto sebáceo infetado	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
147	V.S.V.	Normal	N 2 — Positiva (+++) P 1 — Positiva (++) P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—
148	A.F.	Carcinoma baso-celular da asa do nariz	N 1 e N 2 — Positiva (++++) P 1 — Positiva (++++) P 2 — Positiva (++) P 3 — Positiva (+)	—
149	P.L.C.	Tuberculose ganglionar	N 1, N 2, P 1, P 2 e P 3 — NEGATIVAS	—

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Carlos da Silva Lacaz, que nos dá a honra de sua amizade desde os bancos acadêmicos e que nos iniciou nos estudos de Microbiologia, em que vemos o mestre, sempre pronto a estimular e orientar.

Aos Professôres João de Aguiar Pupo e João Alves Meira, pelas facilidades proporcionadas nas Clínicas que dirigem; aos colegas Drs. Sebastião A. P. Sampaio e Thales de Brito, sem cuja orientação e efetivo auxílio não teria sido possível o estudo histopatológico da reação; aos colegas Drs. Guilherme Villela Curban e Norberto Belliboni, pelos numerosos casos que tiveram a gentileza de nos enviar; aos nossos amigos Drs. Celeste Fava Netto e Vicente Amato Neto por valiosas sugestões feitas; ao técnico Victor Salcedo Vega, pelo préstimo constante no preparo dos antígenos; à Srta. Hercy de Souza Valle, pelo auxílio na dactilografia e mimeografia e à Srta. Hermínia Muzanek, pelo auxílio na parte bibliográfica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARTHUR, G. W. & ALBRITAIN, J. W. — Disseminated cutaneous Sporotrichosis with systemic involvement. *A. M. A. Arch. Dermat. & Syph.*, 77: 187-190, 1958.
- BAPTISTA, L., BELLIBONI, N. & CASTRO, R. M. — Caso de esporotricose tratado pelo Antimoniato de N-metil-glucomine. *Rev. Paulista Med.*, 41: 24-27, 1952.
- BELLIBONI, N. — Tratamento da esporotricose pelo Dietilbestrol. *Rev. Hosp. Clín.*, 11: 383-387, 1956.
- BELLIBONI, N. & PATRÍCIO, L. D. — Tratamento da esporotricose pelo Glucantime. Considerações a respeito de dois casos. *Rev. Hosp. Clín.*, 11: 118-120, 1956.
- BERTIN & BRYANT, L. — Sporotrichose gommeuse du bras. Par inoculation accidentelle de laboratoire. *Presse med.*, 18: 355-356, 1910.
- CAMPBELL, C. C. — Use of Francis' glucose cystine blood agar in the isolation of *Sporotrichum schenckii*. *J. Bact.*, 50: 233, 1945.
- CASTRO, B. M. — Esporotricose. Erros de diagnóstico. *Rev. med. e cir. São Paulo*, 16: 73-80, 1956.
- CHOPIN, M. — Intradermo-réaction sporotrichosinique. *Thèse Fac. Méd. Paris*, 1910.
- CONANT, N. F. — The laboratory diagnosis of pulmonary mycosis. *Am. Rev. Tuberc.*, 61: 690-704, 1950.
- CONANT, N. F. SMITH, D. T. BAKER, R. D. CALLAWAY, J. L. & MARTIN, D. S. — Manual of clinical mycology. Philadelphia, Saunders, 1954.
- DE BEURMANN — Comentário. *Bull. Soc. Franç. Dermat. et Syph.*, 20: 367-368, 1909.
- DE BEURMANN — L'intradermo-réaction sporotrichosinique. *Bull. et mem. Soc. méd. hôp. Paris*, 28: 393-396, 1909a.
- DE BEURMANN & GOUGEROT — Observation de Bruno Bloch, de Bâle: Sporotrichose aigue febrile gommeuse disséminée. Ostéite de la clavicule et du sternum.

Diazo-réaction de Ehrlich positive, cuti-réaction sporotrichosinique positive. *Bull. Soc. Franç. Dermat. et Syph.*, 20: 367-368, 1909.

DE BEURMANN & GOUGEROT — Les sporotrichoses. Paris, Félix Alcan. 1912.

DEPARTMENT OF HEALTH, EDUCATION AND WELFARE. Public Health Service, 1954. Histoplasmin - stock (undiluted) antigen for investigative use in medical research only; directions.

DU TOIT, C. J. — Sporotrichosis on the Witwatersrand. *Proc. Transvaal Mine Med. Officers*, 22: 111-127, 1942.

FAVA NETTO, C. — Estudos quantitativos sobre a fixação do complemento na blastomicose sul-americana com antígeno polissacarídico. *Arq. cir. clin. exper.*, 18: 199-254, 1955.

GELBER, A. — Sporotrichosis; report of a case of its occurrence in California. *A. M. A. Arch. Dermat. & Syph.*, 54: 208-209, 1946.

GONÇALVES, A. PADILHA & CARVALHO, L. P. — Apreciação do teste intradérmico com a esporotriquina. *Rev. med. Paraná*, 24: 73-82, 1955.

GONZALEZ OCHOA, A. — Esporotricosis (In Simons, R. G. D. Ph. — *Dermatología Tropical y Micología médica*). México, La Prensa Medica Mexicana, 1959. Vol. II, pág. 1.129-1.145.

GONZALEZ OCHOA, A. & SOTO FIGUEIROA, E. — Polisacaridos del *Sporotrichum Schenckii*. Datos inmunológicos. Intradermo-reacción en el diagnóstico de la esporotricosis. *Rev. Inst. Salub. Enferm. Trop.*, 8: 143-153, 1947.

JANKE, D. — Zur systematischen Einordnung des *Sporotrichum Gougeroti*. *Arch. Dermat. u. Syph.*, 187: 484-710, 1948.

KATZENSTEIN, L. — Specificity of skin tests in deep fungus infections. *J. Invest. Dermat.*, 9: 249-253, 1947.

LACAZ, C. S., CASTRO, R. M. & LOPES, A. A. — A esporotriquina no diagnóstico da esporotricose. Comunicação à X Reunião Anual dos Dermato-sifilógrafos Brasileiros. Curitiba, 1953.

LACAZ, C. S., PASSOS FILHO, M. C. R., FAVA NETTO, C. & MACARRON, B. — Contribuição para o estudo da "blastomicose-infecção". Inquirido com a paracoccidioidina. Estudo sorológico e clínico radiológico dos paracoccidioidicos positivos. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 1: 245-249, 1959.

LATAPI, F., LAVALLE, P., NOVALES, J. & ORTIZ, Y. — Griseofulvina en micosis cutaneas profundas. Nota preliminar sobre resultados terapeuticos en un caso de micetoma por *N. brasiliensis* y en uno esporotricosis por *S. schenckii*. *Dermatologia*, 3: 34-41, 1959.

LAVALLE, P. — Esporotricosis en Mexico. Memorias del III Congreso Ibero Latino Americano de Dermatologia, 1959. Pág. 190-197.

LEIBY, C., SULZBERGER, M. & BAER, R. L. — Sporotrichosis in New York State. *Arch. Int. Med.*, 75: 145-150, 1945.

LOEWENTHAL, K., TOLMACH, J. A. & KARPLUK, F. — Dermoepidermal type of Sporotrichosis. *New York State J. Med.*, 50: 451-454, 1950.

MACKINNON, J. E., ARTAGAVEYTIA-ALLENDE, R. C. & ARROYO, L. — Micosis profundas endemicas: nuevas orientaciones y adquisiciones clínicas. Importancia del problema en el Uruguay. *An. Fac. Med. Montevideo*, 38: 428-445, 1953.

MACKINNON, J. E., ARTAGAVEYTTIA-ALLENDE, R. C. & ARROYO, L. — I. Sobre la especificidad de la intradermoreacción con paracoccidioidina. *An. Fac. Med. Montevideo*, 38: 363-382, 1953.

MEDICAL RESEARCH COUNCIL — Memorandum n.º 23. Nomenclature of fungi pathogenic to man and animal, 1953.

MIRANDA, R. N., CUNHA, C., PINHO, A. & SCHWEIDSON, J. — A esporotricose. *Rev. med. Paraná*, 24: 24-56, 1955.

MIRANDA, R. N., CUNHA, C. & SCHWEIDSON, J. — Observações sobre o teste com a esporotriquina. Possível ação curativa na esporotricose. (Nota prévia). *An. brasil. dermat. & síf.*, 30: 280-281, 1955a.

MIRANDA, R. N., CUNHA, C. & SCHWEIDSON, J. — Tratamento da esporotricose pela esporotriquina. *Hospital (Rio de Janeiro)*, 54: 257-262, 1958.

MOORE, J. J. & DAVIS, J. D. — Sporotrichosis following mouse bite with certain immunologic data. *J. Infect. Dis.*, 23: 252-266, 1918.

NORDÉN, A. — Sporotrichosis. Clinical and laboratory features and a serologic study in experimental animals and humans. *Acta Path. Microb. Scandinav. Suppl.* 89, 1951.

PAUTRIER, L. M. & LUTEMBACHER — Sub-cuti-réaction positive obtenue chez deux sporotrichosiques par l'injection sous-cutanée de cultures jeunes de sporotricose, bruyées, diluées dans du serum et stérilisées. *Compt. rend. Soc. Biol.*, 47: 24-25, 1909.

PAUTRIER, L. M. & LUTEMBACHER — Nouveau cas de sporotricose simulant la tuberculose de la face; diagnostic par une sub-cuti-réaction sporotrichosique positive. *Bull. Soc. Franç. Dermat.*, 20: 254-257, 1909a.

PEREIRA, C. A. — Contribuição ao estudo de valor prático da intradermo-reação com a esporotriquina no diagnóstico da esporotricose. *Rev. med. Paraná*, 24: 83-85, 1955.

PUPPO, J. A. — Freqüência da sporotricose em São Paulo. *An. paulist. med. e cir.*, 8: 53-68, 1917.

PUPPO, J. A. — Sporotricose no Brasil. *Arz. paulist. med. e cir.*, 8: 200-207, 1920.

RAY, L. F. & ROCKWOOD, R. M. — Sporotrichosis. Report of a case in which it was resistant to treatment. *A. M. A. Arch. Dermat. & Syph.*, 46: 211-217, 1942.

SAMPAIO, S. A. P., LACAZ, C. S. & ALMEIDA, F. P. — Aspectos clínicos da esporotricose em São Paulo. Análise de 235 casos. *Rev. Hosp. Clín.*, 9: 391-402, 1954.

SHAFFER, I. W. & ZACKHEIN, H. S. — Sporotrichosis; report of a case in which treatment with iontophoresis was successful. *A. M. A. Arch. Dermat. & Syph.*, 56: 244-247, 1947.

SHOEMAKER, E. H., BENNETT, H. D., FIELDS, W. S., WHITCOMB, F. C. & HALPERT, B. — Leptomenigitis due to *Sporotrichum Schenckii*. *A. M. A. Arch. Path.*, 64: 222-227, 1957.

SICARD & GOUGEROT — Comentário. *Bull. et mém. Soc. méd. hôp. Paris*, 26: 76-77, 1908.

SILVA, J. R. & GONÇALVES, A. P. — Nota sobre o valor da esporotriquina. *Hospital (Rio de Janeiro)*, 38: 625-631, 1950.

SMITH, L. M. — Sporotrichosis. Report of four clinically atypical cases. *Southern Med. J.*, 38: 505-509, 1945.

SOARES, J. A., RIBEIRO, D. O. & LACAZ, C. S. — Esporotricose familiar. *An. brasil. dermat. & síf.*, 27: 5-11, 1952.

THOMAS, C. C., PIERCE, H. E. & LABINER, G. E. — Sporotrichosis responding to fever therapy, *J. A. M. A.*, 147: 1.342-1.343, 1951.

WILSON, J. W. — Clinical and immunological aspects of fungus diseases. Springfield, Charles C. Thomas, 1957.

WILSON, J. W. — Os testes intradérmicos nas micoses. *Triângulo*, 4: 30-36, 1959.

