

---

# Sobre o BCG na Imunização Ativa Inespecífica em Cancerologia

---

José Rosemberg (\*)

O presente relatório visa somente alinhar as principais informações da literatura sobre a imunização ativa inespecífica pelo BCG, nas neoplasias, relacionar fatos comprovadores da eficiência imunobiológica da técnica oral de vacinação e sugerir a inclusão desta última, ao lado de outras, como hipótese de trabalho nas pesquisas terapêuticas em cancerologia.

## INTRODUÇÃO

A idéia do uso da imunização inespecífica ativa como adjuvante na prevenção e terapêutica de neoplasias, surgiu do conhecimento de uma série de fatos, principalmente experimentais, entre os quais se destacam:

- a) animais de laboratório geneticamente mais resistentes aos tumores apresentam maior capacidade de imunorespostas e de atividade do SRE.
- b) a ativação do SRE dificulta e até impede a implantação de tumores originados de vírus oncogênicos.

c) os tumores antigênicos em geral podem ter o desenvolvimento dificultado por agentes mobilizadores do SRE.

Inúmeros autores aprofundaram o assunto e existem na literatura diversas sínteses (<sup>73</sup>, <sup>76</sup>, <sup>110</sup>, <sup>113</sup>).

## 2. AÇÃO DO BCG NAS NEOPLASIAS

Sabe-se que o Bacilo Calmette-Guérin (BCG) originado por mutacionismo do *Mycobacterium tuberculosis* variedade Bovis, é um dos mais potentes estimuladores do SRE, produzindo respostas de proteção específica antituberculose (<sup>93</sup>), como de resistência inespecífica igual e mesmo superior a outros agentes, tais como: *Corynebacterium parvum*, b. pertussis, M. Chelonei, Zimosan etc. (<sup>30</sup>, <sup>32</sup>,

---

(\*) Professor Titular de Tisiologia e Doenças Pulmonares da Faculdade de Ciências Médicas do Centro de Ciências Biológicas e Médicas de Sorocaba. Diretor-Geral do Centro de Ciências Biológicas e Médicas de Sorocaba da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo. Relatório apresentado no Grupo Fundamental de Quimioterapia e Imunoterapia, instituído pela Divisão Nacional de Câncer. Ministério da Saúde. Brasília, 31 de janeiro de 1974.

<sup>74, 81, 87, 98, 110, 146</sup>). Baseados nesses conhecimentos do efeito antagônico da estimulação do SRE sobre uma grande variedade de neoplasias, desenvolveram-se pesquisas experimentais, clínicas e epidemiológicas sobre a ação do BCG nesse campo.

## 2.1 PESQUISAS EXPERIMENTAIS

Já é substancial o conhecimento de que o BCG introduzido por técnicas e doses variadas em animais de laboratório (rato, camundongo, hamster) estimulando o SRE desencadeia proteção prévia contra diversos tumores, ou quando oferecido ao organismo depois da implantação destes dificulta e até impede o seu crescimento e difusão. Entre os tumores estudados destacam-se: T-8-Guérin, ascite — Erlich, sarcoma 1. carcinoma 755, virus Mengo, virus polioma, Adenovirus tipo 12, Fibrosarcoma induzido por metil-colantreno, Leucemia espontânea, Leucemia L-1210, Virus Leucemia E G2 (<sup>5, 23, 31, 74, 90, 91, 100, 101, 111, 112</sup>). Resultados encorajantes foram noticiados relativos à ação de frações químicas do BCG, sobre vários tipos de sarcoma e outros tumores em camundongos (<sup>169, 170</sup>).

Por outro lado alguns fatos importantes devem ser mencionados. A imunização pelo BCG pode ser prejudicada e mesmo anulada se feita concomitantemente com uma quimioterapia imunodepressiva, como por exemplo a metil-hidrazina (<sup>6</sup>). O número de células neoplásicas tem importância para o êxito, tanto da imunoterapia específica quanto inespecífica, tendo-se demonstrado que esta é efetiva na leucemia L-1210, somente quando o enxerto é inferior a  $10^5$  células (<sup>100, 101</sup>). Isso pode explicar porque os melhores resultados experimentais são conseguidos quando a imunização pelo BCG é efetuada antes da implantação tumoral, ou quando o desen-

volvimento neoplásico está ainda em início. A associação de BCG e imunização específica — por exemplo células leucêmicas irradiadas — revelou-se mais eficiente (<sup>100, 101</sup>).

Essas últimas noções são de grande interesse clínico.

## 2.2 INVESTIGAÇÕES CLÍNICAS

No campo clínico o BCG como agente imunizador inespecífico, tem fornecido resultados promissores, embora às vezes sejam contraditórios, variando como é óbvio, com o tipo de neoplasia e a natureza dos pacientes. Em muitos trabalhos publicados a ação do BCG foi previamente favorecida pela intervenção de outros fatores tais como remoção cirúrgica, poliquimioterapia, levando à remissão, bem como associação de imunoterapia específica etc.

As investigações clínicas pioneiras sobre a ação do BCG na leucemia linfoblástica aguda se devem a Mathé e col. (<sup>97, 98, 102</sup>). Remissões mais prolongadas de 300 até 1150 dias contra 20 a 130 dias nos testemunhas, foram observadas em doentes de leucemia linfoblástica aguda, submetidos previamente à quimioterapia e tratados a seguir com BCG — Instituto Pasteur. A vacina foi aplicada pela técnica de escarificação, nas doses de 50mg a 75mg. cada 4 dias, por 20 a 50 vezes. Os melhores resultados verificaram-se associando ao BCG células leucêmicas formolizadas.

Ulteriormente o mesmo Autor (<sup>99</sup>) relata nova série de casos de leucemia aguda linfoblástica submetidos, até à remissão, pela poliquimioterapia, coadjuvada com corticoide, e eventualmente com irradiação do sistema nervoso central e dos gânglios. A menor proporção de reativações, até 50 dias, observou-se nos casos que receberam

ulteriormente BCG com associação de *Corinobacterium Parvum* e células leucêmicas irradiadas conservadas à baixa temperatura. Neste ensaio o BCG—Instituto Pasteur foi aplicado em escarificações cada 4 dias na dose de 50mg num total de 20 sessões. A associação da imunoterapia ativa com vincristina ou adamantina mostrou-se prejudicial, facilitando as reativações, devido à ação imunodepressiva destes agentes. Menos otimistas em relação a imunização pelo BCG é o “Ensaio Concord” do Conselho Britânico de Pesquisas Médicas (104). Doentes de leucemia aguda linfoblástica, submetidos também à poliquimioterapia e corticoides até à remissão, receberam em seguida BCG Glaxo ou Metotrexate. As reativações até 52 semanas foram de 63,5% no primeiro grupo, 29% no segundo e 89% nos testemunhas. Isto é, a imunização pelo BCG produziu algum resultado em relação aos testemunhas sendo porém inferior à ação do Metotrexate. A administração do BCG obedeceu a técnica de Heaf (40 punturas simultâneas).

Na leucemia crônica de adultos não se observou nenhuma remissão com a aplicação de BCG pela técnica de multipunturas duas vezes por semana, durante meses (146).

Entre outras causas deve ter influído nos resultados, principalmente, a diversidade dos esquemas quimioterápicos, a cepa de BCG, a técnica de aplicação e as doses de vacina.

Resultados positivos são anunciados em melanomas malignos (105), com a infiltração intranodular ou na base dos nódulos de 0.5mg a 2mg de BCG. Nesses casos relatam-se regressões e remissões prolongadas. Nesse mesmo tipo de tumor, após excisão cirúrgica, conseguiram-se melhores re-

sultados e maior intervalo das remissões, nos casos que receberam BCG—Instituto Pasteur em 20 escarificações com 300mg em intervalos de 4 dias. Resultados comparativamente inferiores se notaram com a aplicação intradérmica de 15mg de BCG—Glaxo (36).

Anunciaram-se por outro lado, efeitos promissores da associação à quimioterapia, do BCG na dose de 0,2mg intradermicamente em doentes em fase terminal de câncer da mama, do pulmão, colo, tireoide, próstata etc. Em relação aos cancerosos que não receberam a vacina houve aumento de sobrevida em mais de 50% dos pacientes no final de 2 anos (167-A).

### 2.3 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Os inquéritos epidemiológicos são aparentemente controvertidos quanto à ação do BCG na leucemia e outros tumores. Foi feita a análise do fichário de Saúde Pública da Província de Quebec, Canadá (50) em relação à mortalidade por leucemia linfoblástica aguda nos grupos etários de 0 a 4 anos e 0 a 14 anos, nos anos de 1960 a 1963 e em correspondência com a vacinação BCG realizada nos primeiros dias da vida, abarcando um total de 1.800.000 a 1.900.000 indivíduos por ano. Nesses anos considerados, a mortalidade por leucemia nos grupos estudados foi, em média 50% menor nos que foram becegeizados ao nascer, da encontrada nos não vacinados. Outra análise se refere à mortalidade por leucemia no grupo de 15 a 19 anos na Inglaterra (77). Esta vinha subindo paulatinamente desde o início do século até 1950. O número de indivíduos desse grupo etário, que tinha sido vacinado com BCG ao nascer, elevou-se nos anos de 1956, 1960 e 1967, respectivamente de 5%, 26%, e 60%. Neste último ano de 1967 a mortalidade prevista por leucemia para o grupo de 15 a 19 anos de idade, se tivesse continuado o

aumento de óbitos na mesma proporção ocorrida na primeira metade do século, seria de  $40 \times 10^6$ . Entretanto ela foi de apenas  $24 \times 10^6$  ou seja quase metade, fato que pode ser atribuído ao crescente contingente de indivíduos vacinados na população considerada. Por outro lado, na Suécia, Dinamarca e Noruega, a mortalidade mais baixa de leucemia ocorre respectivamente nas idades de 0 a 4 anos, 5 a 9 anos e 15 a 19 anos. Nesses países a calmetização é realizada mais intensamente, respectivamente, nos recém-nascidos, aos 7 anos e 13/14 anos. Logo, a menor mortalidade por leucemia verificada nos grupos etários mencionados naqueles países, seria o efeito da proteção desencadeada pelo BCG <sup>(168)</sup>.

Outros estudos epidemiológicos conduziram a conclusões negativas. Assim é que no "Oxford Survey" que agora cobre todos os óbitos por tumores de crianças e jovens na Inglaterra, Escócia e País de Gales, não foi encontrado no período de 1953 a 1968 nenhuma diferença nas proporções de casos de leucemia e outras neoplasias, nos não vacinados e nos becegeizados ao nascer ou posteriormente <sup>(165)</sup>. Por outro lado alegou-se que os vacinados com BCG até 14 anos na Escócia atinge a 4,2% e em Glasgow a 43%, sendo entretanto semelhantes os coeficientes de mortalidade por leucemia. Em Glasgow, de 1951 a 1969, a becegeização nos grupos de 5 a 9 anos e 10 a 14 anos subiu de zero, respectivamente a 55% e 30%. Todavia a mortalidade por leucemia nesses dois grupos subiu paulatinamente nos anos considerados <sup>(84)</sup>. Finalmente em Alabama e Georgia nos USA fez-se uma revisão dos óbitos por leucemia, Hodgkin e linfossarcoma, ocorridos durante 21 anos após o ensaio controlado efetuado em 1950 sobre a vacinação BCG <sup>(48)</sup>. Os coeficientes globais de mortalidade por 100.000 habitantes desses três

tumores foram: não calmetizados tuberculino-positivos, 102,1; idem tuberculino-negativos não vacinados, 89,6; tuberculino-negativos calmetizados 82,8. Conclue-se que não houve diferenças estatisticamente significativas.

As conclusões negativas a que chegaram os Autores das análises epidemiológicas de Glasgow <sup>(84)</sup> e de outra da Escócia <sup>(28-A)</sup> são questionadas <sup>(65)</sup> porque se compararam taxas específicas globais, isto é, atribuídas a populações totais de um dado grupo etário. Esse método pode iludir o estatístico que deseja avaliar o efeito do BCG sobre uma doença pouco freqüente como a leucemia, a menos que uma das populações totais comparadas esteja vacinada em muito alta proporção, como foi o caso nos países escandinavicos <sup>(168)</sup>. Por outro lado deve-se levar em conta a eventualidade de diferenças de potência das vacinas empregadas nesses países. Neste aspecto também pode ser criticado o resultado negativo da análise de Alabama e Georgia, mencionada acima <sup>(48)</sup>. O ensaio controlado do BCG realizado ali em 1950 e sobre o qual se baseou a análise, rendeu apenas 14% de proteção antituberculosa <sup>(48-A)</sup>. Dos 6 ensaios controlados com técnicas parenterais para apurar a proteção contra a tuberculose, mais citados na literatura especializada, este foi negativo ao lado do efetuado em Porto Rico que também teve rendimento baixo, 31% <sup>(114)</sup>. Os demais comprovaram a eficiência do BCG com altos percentuais de proteção antituberculosa: índios norte americanos, 82% <sup>(7)</sup>; neonatos de Chicago, 75% <sup>(147)</sup>; Conselho de Pesquisas Médicas da Inglaterra, 79% <sup>(103)</sup> e Índia, 60% <sup>(66)</sup>. Sabe-se hoje que em Porto Rico a vacina usada era de fraca potência e que em Alabama e Georgia se empregaram duas amostras de BCG sendo uma de fraco poder. Ao lado disso, nesta última região, apreciável parcela da popu-

lação é infectada com micobactérias atípicas o que também pode ter contribuído para o rendimento baixo da vacinação. O mais plausível é que os dois fatores associados tenham concorrido para esse resultado negativo. <sup>(166)</sup> Ora, se o BCG empregado em Alabama e Georgia já era de baixo poder protetor contra a tuberculose, e sabendo-se que a imunidade antituberculosa repousa fundamentalmente na estimulação do SRE, é evidente que ele teve muito menos capacidade de desenvolver imunidade inespecífica (através do SRE). Pelas razões expostas, aquela vacinação de 1950 não poderia exercer, como não exerceu, qualquer influência ulterior sobre os coeficientes de mortalidade por neoplasias.

#### 2.4 CONCLUSÕES GERAIS

O BCG é um dos mais potentes estimuladores do SRE ativando a imunidade celular específica contra a tuberculose e inespecífica contra diversos germes e diversas células cancerosas. Há forte evidência experimental de que por esse mecanismo o BCG desenvolve um efeito protetor contra neoplasias de diferentes naturezas. A ação da imunização inespecífica com essa vacina, no campo clínico é menos marcante, porém suficientemente encorajadora, especialmente na leucemia aguda linfoblástica, melanoma maligno e alguns outros tumores. Os dados epidemiológicos são contraditórios mas há elementos que apoiam significativamente os fatos experimentais e clínicos. Em síntese acumulam-se provas de que o BCG estimula o mecanismo de imunização do organismo para dificultar o crescimento do processo neoplásico e mesmo para inibir a célula cancerosa lançada na circulação, prevenindo o progresso de metástases secundárias.

A associação da imunoterapia específica com a inespecífica pelo BCG, tem proporcionado melhores resultados que esta última isolada. A primeira exige técnicas altamente sofisticadas e de procedimento delicado. A última, ao contrário, pode ser incluída facilmente nos programas de trabalho, por ser compatível com as nossas possibilidades atuais.

Por essas razões é de todo o interesse, em cancerologia, a introdução da imunização ativa inespecífica pelo BCG, nos nossos esquemas de pesquisas terapêuticas.

Vários elementos necessitam de melhor valorização para aumentar seu rendimento. Além do tipo do tumor que é importantíssimo, não é indiferente a fase de sua evolução. Melhores resultados são obtidos se o número de células cancerosas é baixo, pois parece haver um limite provavelmente variável segundo a natureza do tumor, acima do qual a imunização não pode competir. Por outro lado deve ser levada em conta a ação imunodepressiva de agentes terapêuticos, (irradiações, quimioterapia) empregados logo antes ou concomitantemente com a imunização, dificultando ou anulando seu rendimento. Fatos experimentais e clínicos comprovam essas observações.

Outros fatores a serem valorizados estão ligados ao próprio BCG. São indispensáveis uma cepa de boa atividade e a manipulação de técnicas que facilitem a maior absorção possível da vacina. Verifica-se não serem indiferentes, por exemplo, na leucemia e no melanoma maligno, as técnicas de escarificação, de punturas ou intradermicas.

Em síntese, no estado atual de nossos conhecimentos, ressalta que a imunização pelo BCG tem indicação em cancerologia,

devendo ser observados alguns princípios fundamentais, destacando-se: prévia remoção cirúrgica e ou irradiação do tumor, ou o seu equivalente pela quimioterapia, com o objetivo de reduzir ao máximo possível o número de células cancerosas, atingindo o estado de remissão, isto é, de "doença cancerosa residual mínima"; associação com imunização específica sempre que possível; evitar a ação concomitante ou logo anterior, de agentes imunodepressivos; oferecer ao organismo o BCG em doses elevadas, maçãs, se possível, por meio de administrações repetidas a curtos intervalos por períodos relativamente prolongados.

Para atingir este último desiderato, cremos que a técnica oral de becegeização poderá ser superior às parenterais. Com aquela podemos oferecer ao organismo elevadas doses de vacina (milhares de vezes superior às administradas parenteralmente) por meio de ingestões repetidas em curtos intervalos, com ótima tolerância. É procedimento da mais fácil execução não exigindo pessoal especialmente treinado.

O BCG oral tem comprovada capacidade de estimular eficientemente o SRE, e há inúmeros fatos imunobiológicos disso confirmadores. Esses aspectos imunobiológicos que ressaltam da vacinação BCG oral, mais favoráveis na infecção tuberculosa, podem a nosso ver ser transpostos ao campo cancerológico, pelas razões ventiladas adiante. Por esses motivos associados a diversos fundamentos doutrinários que nos levam a preferir esta técnica, somos de opinião que o BCG oral deve ser investigado em cancerologia. No capítulo seguinte exporemos em resumo os fatos experimentais, clínicos e epidemiológicos relativos à vacinação BCG por via digestiva.

### 3. BCG ORAL. PRINCIPAIS DADOS IMUNOBIOLOGICOS

Recentemente efetuamos uma ampla revisão crítica e sistematização dos conhecimentos sobre o BCG oral (143). Neste capítulo faremos um resumo informativo daquela revisão, abordando apenas os aspectos que mais podem interessar ao presente relatório.

A difusão do BCG nos organismos, quando ministrado pela via digestiva está verificada experimental e clinicamente pela sua recuperação em cultura (ou outros procedimentos) de sangue, gânglios e órgãos de animais (42, 68, 86, 180, 181, 182, 187,) e de crianças vacinadas por esse método (177, 178, 182, 186).

Certamente a proteção específica anti-tuberculosa e outras manifestações imunobiológicas encontradas em organismos orobecegeizados, constituem outras tantas comprovações da passagem do BCG pela mucosa intestinal.

#### 3.1 PROTEÇÃO ANTITUBERCULOSA

Da ampla literatura especializada julgamos suficiente sintetizar o assunto como segue.

##### 3.1.1 Dados experimentais

O conhecimento do poder imunogênico do BCG administrado pela via digestiva em cobaias, coelhos e símios, conferindo-lhes proteção específica contra a superinfecção tuberculosa, data desde as pesquisas de Calmette e seus colaboradores (42, 43, 108). Pesquisas mais recentes confirmaram aquelas verificações, sendo que em muitas procedeu-se à comparação com outras técnicas de vacinação (intradérmica, subcutânea, endovenosa), revelando ser o

poder protetor do BCG oral tão eficaz quanto as demais vias (<sup>35, 57, 58, 68, 80, 82, 86, 106, 109</sup>) e às vezes até superior (<sup>38</sup>).

### 3.1.2 Proteção no homem

Daremos a seguir notícia das investigações nacionais e estrangeiras.

#### 3.1.2.1 Inquéritos brasileiros

A experiência brasileira com a vacinação BCG oral consta de trabalhos que se desenvolveram durante mais de 3 décadas, sobretudo em crianças vivendo em ambiente altamente desfavorável do ponto de vista sócio-econômico e de condições epidemiológicas da tuberculose. A maioria dos observados vivia em contato tuberculoso, não havendo nenhuma possibilidade de afastá-los do foco contagiante, em época sobretudo anterior ao advento da quimioterapia antituberculosa e no período em que esta última iniciava sua difusão no País. Dificilmente a vacinação antituberculosa enfrentou fatores tão desfavoráveis quanto a vacinação oral no Brasil, nos meios onde ela foi aplicada.

##### 3.1.2.1.1 Proteção pelo método antigo de vacinação oral

Esses inquéritos intrafamiliares se referem à época em que se empregavam doses baixas de BCG para os recém-nascidos — 60mg a 90mg (<sup>45, 72, 121</sup>). Eles revelaram que a morbidade e mortalidade tuberculosas em crianças convivendo com tuberculosos bacilíferos, foram nos becegeizados, respectivamente de 5 a 10 vezes e de 5 a 20 vezes menores que as ocorridas nos irmãos testemunhas.

##### 3.1.2.1.2 Proteção com o BCG concorrente

O método concorrente de Assis (<sup>11</sup>) doses — de 100mg de BCG nos recém-nascidos e

200mg nas outras idades, — repetidas mensalmente seis vezes, ou com a modificação com intervalos quinzenais (<sup>133</sup>), demonstrou nos inquéritos intrafamiliares e de coletividades altamente contaminadas por tuberculose (populações faveladas, habitantes de cortiços, porões etc., capacidade protetora bem superior aos anunciados nas pesquisas iniciais (<sup>2, 3, 4, 11, 11-A, 13, 14, 16, 128, 129, 133, 135</sup>).

A repetição de doses vacinantes, pela sucessão de estímulos antigênicos promove uma curva ascendente da imunidade inicial elevando-a a níveis muito superiores aos resultantes de ingestão única de BCG. Assim é que, nos inquéritos mencionados, o efeito protetor do método concorrente em recém-nascidos, comunicantes de tuberculosos e com crianças com idades pré-escolar e escolar, nas mesmas condições epidemiológicas e ambientais revelou-se altamente eficiente, reduzindo a morbidade em comparação aos não-vacinados, de 20 a 80 vezes, verificando-se em alguns deles, proteção de 100% em relação à mortalidade por tuberculose.

#### 3.1.2.2 Inquéritos estrangeiros

As pesquisas estrangeiras sobre o BCG oral se referem geralmente a grupos e coletividades de crianças recém-nascidas, ou no primeiro ano de vida em ambiente tuberculoso (<sup>1,26</sup>) ou em idade escolar e adolescência, através de dados comparativos dos adoecimentos e ou óbitos por tuberculose (<sup>51, 53, 54, 55, 56, 69, 89, 151, 153, 156, 157, 179</sup>). Em todos esses estudos a proteção do BCG oral foi de 1 para 3 até 1 para 7. Com o método concorrente a proteção, à semelhança do notado no Brasil, foi bem superior chegando a 1 para (<sup>153-A</sup>) e até a proteção completa (<sup>85</sup>).

### 3.1.3 Comentários finais

O método oral revelou em todos os inquéritos nacionais ou estrangeiros menor mor-

bilidade e mortalidade tuberculosas nos indivíduos becegeizados em confronto com os não-vacinados. O método concorrente eleva apreciavelmente a resistência específica. Este pode fornecer um grau de proteção praticamente de 100%.

Finalmente, se impõe a conclusão favorável sobre a validade do método oral da imunização antituberculosa, ainda porque dificilmente alguma técnica de calmetização foi posta à prova, durante anos, nas circunstâncias desfavoráveis como as observadas no Brasil. O método oral, como acentuamos e convém repetir, teve sua eficiência provada mormente na proteção de recém-nascidos com contágio tuberculoso intradomiciliar direto e permanente (pais e parentes com tuberculose evolutiva e bacilífera), sob situação epidemiológica agravada por condições sócio-econômicas severas. Isso é importante, porque vem a pelo lembrar que o Relatório ao Diretor-Geral OMS, 1960 (1973) elaborado pelo "Grupo Científico de Pesquisas sobre a Tuberculose" acentua: "a experiência recente indica que a administração do BCG por via intradérmica em recém-nascidos pode dar fracos resultados se suas mães são portadoras de tuberculose evolutiva".

### 3.2 ALERGIA PÓS-VACINAL

Hoje é ponto pacífico, que a alergia tuberculínica é dissociável da imunidade anti-tuberculosa e a sua presença não expressa necessariamente o grau de resistência orgânica, em relação à infecção bacilar. Entretanto, a alergia tem sido considerada nas técnicas parenterais como indício da impregnação do organismo pela vacina, e elemento para apurar a sua absorção e eficácia. Sob esse ponto de vista o BCG oral demonstra também sua capacidade de desencadear sensibilidade tuberculínica quando ingerido por indivíduos analér-

gicos. Para estas pesquisas se se deseja esgotar a informação sobre a capacidade alergizante da orovacinação, é fundamental trabalhar com diluições baixas de tuberculina, em torno de 10 a 100UT. Os índices de alergização pelo método oral são apresentados abaixo, reunidos em quatro esquemas, de acordo com a evolução que o método sofreu no tempo e com aqueles mais comumente empregados nas investigações e na rotina. Os percentuais máximos, segundo esses esquemas vão resumidos como seguem.

#### 3.2.1 Dose baixa fracionada

Três doses de 20mg a 30mg em intervalos de 2 dias: 66% a 84% de alergização (<sup>18, 126, 133</sup>).

#### 3.2.2 Dose única

Dose única de 50mg a 400mg, sendo a maioria de 100mg: 55% a 97% (<sup>9, 12, 29, 49, 78, 95, 126, 131, 133, 144, 158, 159, 167</sup>).

#### 3.2.3 Dose alta fracionada

Doses de 50mg ou mais, com intervalos no máximo de uma semana, administradas 2 a 3 vezes. Estas doses muito próximas entre si, na realidade se somam e agem em relação à alergização, como uma dose única maior "dose de choque" (<sup>129</sup>): 77% a 94% (<sup>29, 44, 61, 78, 88, 144</sup>).

#### 3.2.4 Método concorrente e esquemas de doses altas repetidas

Já foram expostos acima os resultados mais favoráveis da proteção desencadeada pela vacinação concorrente. Essa repetição de doses por via oral (difícil e complicada nas técnicas parenterais) acelera e eleva a imunidade, agindo as doses repetidas à maneira de novos estímulos secundários,

correspondendo aos fatos verificados na imunidade em geral. Ao lado dessa maior proteção específica, verifica-se mais rápido desaparecimento da sensibilidade tuberculínica, mesmo nos indivíduos expostos a contágio bacilífero.

As observações brasileiras apresentam com o método concorrente índices de alergia, entre 46% a 50% (2, 15, 126, 133) e revelam o rápido esvanecimento dessa sensibilidade; 7% no final de 36 meses mesmo em crianças que sofrem contágio intrafamiliar comprovado (126, 133). A repetição diária de ingestões de BCG por período longo (1 mês) leva à aceleração da atenuação da sensibilidade (126, 133, 137). Essas verificações são confirmadas por observações de autores estrangeiros, clinicamente (62, 64, 85, 163-A) e experimentalmente (52, 57, 58, 67, 83, 109).

### 3.2.5 Comentários gerais

O BCG oral administrado em dose única adequada (100mg a 200mg) no recém-nascido produz índices de alergia pós-vacinal em níveis comparáveis aos consignados com as técnicas parenterais. O aparecimento da alergia é em geral mais lento na vacinação oral que na parenteral. A alergia pós BCG oral é de baixa intensidade mais freqüentemente demonstrável aos níveis de 10 até 100 unidades de tuberculina. Poucas doses altas fracionadas (duas a três) repetidas a curto prazo (uma semana) agem como uma dose única **d' emblée** produzindo índices de alergia a esta comparáveis. A vacinação concorrente (doses repetidas com intervalos de 15 a 30 dias e com mais evidência ainda com intervalos mais curtos 3 a 6 dias) conduz (em grande proporção dos casos) a percentuais mais baixos de alergia. A repetição das doses em ritmo adequado promove portanto, em apreciável parcela, a dessensibilização da

alergia pós-vacinal e dificulta o seu desenvolvimento. Em geral há mais alergização pós-vacínica nos recém-nascidos e crianças de baixa idade que nos grupos etários mais idosos.

Finalizando, fique assinalado que a alergia pós-vacínica é apenas um dos elementos das diferentes manifestações imunobiológicas, e não traduz o valor protetor de um dado método de vacinação. A presença da alergia é um dos dados reveladores da impregnação vacínica, mas a sua ausência não significa a falta dessa impregnação, que pode ser comprovada com outros procedimentos, tais como o BCG-teste e a reação lepromínica empregados para esse fim com os critérios expostos mais adiante.

O controle do estado alérgico pós-vacinal, ao contrário, é de interesse para, em face de suas eventuais variações de intensidade, facultar a descoberta de superinfecções bacilíferas intercorrentes.

### 3.3 BCG ORAL NOS ALÉRGICOS (TUBERCULINO-POSITIVOS)

O oferecimento do BCG oral em doses repetidas a organismos alérgicos (tuberculino-positivos) pode conduzir a dessensibilizações mais ou menos acentuadas que permanecem por tempos variáveis. Nos estudos brasileiros essas dessensibilizações foram conseguidas com a ingestão de doses de 200mg a 400mg repetidas de BCG chegando-se a totais de 3g a 4g.

Dessas pesquisas (10-A, 123, 124, 125, 161) extraem-se os seguintes fatos: as dessensibilizações nos indivíduos alérgicos sadios, por efeito do BCG oral, ocorrem em número estatisticamente significativo. Em crianças até 10 anos de idade aproximadamente há maior freqüência de des-

sensibilizações. As atenuações ocorrem em maior número nos inicialmente reagentes fortes do que nos reagentes fracos. As negativas completas à tuberculina são mais freqüentes nestes últimos. As atenuações são transitórias, mas em certa proporção apresentam estabilidade que atinge 3 a 4 anos. Pode haver exaltações da alergia após às doses iniciais de BCG com atenuações subseqüentes. As dessensibilizações da alergia tuberculínica pela ingestão do BCG foram confirmadas em pesquisas estrangeiras (25, 96).

Índices muito elevados de atenuações surgem, quando se revacinam, com doses repetidas, indivíduos alérgicos antigos vacinados (96, 134). Isso tem comprovação experimental (52).

Nos doentes tuberculosos as repercussões alérgicas pela ingestão do BCG, mesmo em altas doses, não são significativas (40, 68, 70, 132).

Em conclusão infere-se que as atenuações alérgicas conseguidas com o BCG oral devem ter um significado imunobiológico favorável pelos conhecimentos sobre a imunidade na tuberculose. Finalmente, elas constituem mais uma prova de absorção do BCG pela via digestiva em diversas idades.

### 3.4 EFEITOS SOBRE A REAÇÃO LE- PROMÍNICA

Observações epidemiológicas, clínicas, bacteriológicas e imunológicas vieram com o tempo reunindo elementos sugestivos da existência de uma interrelação imunobiológica entre tuberculose e lepra. As primeiras comprovações do efeito positivo do BCG sobre a reação de Mitsuda revelaram que, tanto as técnicas de vacinação parenteral (60, 71) como a de via oral (22, 47) produziam resultados semelhantes.

Usando doses de 100mg a 200mg, repetidas 3 a 4 vezes com intervalos geralmente semanais, o BCG oral positiva a reação de Mitsuda em elevada percentagem, chegando em certos esquemas vacinantes a atingir 100%. (136, 137, 138, 139, 140, 142). Isso foi confirmado por diversos investigadores (21, 27, 41, 118, 119, 150). Em geral se conseguem de 80% a 90% de positivas do Mitsuda, indiferentemente pelas técnicas, oral ou parenteral. A comparação da primeira com a técnica de multipuncturas (144) e com a intradérmica (163) em crianças, revelou efeitos semelhantes.

O confronto da ação positivante sobre o Mitsuda por efeito do BCG e pela ação de inoculações de lepromina repetidas a curto prazo revelou diferenças flagrantes. A primeira produziu o dobro de conversões do Mitsuda com nítidas diferenças qualitativas como sejam reações mais intensas e necróticas (145).

As investigações com a becegeização oral complementaram ainda este campo com o conhecimento de outros fatos de interesse; positividade remota de antigas reações lepromínicas negativas praticadas anos atrás (142); intensificação de reações lepromínicas fracamente positivas (141).

Com a vacinação oral se demonstra claramente que as positivas do Mitsuda se produzem independentemente da alergia. Aquelas ocorrem da mesma forma nos casos que perderam a alergia pós-vacinal, nos que nunca a desenvolveram, e nos que não possuem alergia infratuberculínica (137, 138).

Os dados mencionados constituem mais uma demonstração da absorção do BCG pela via digestiva. Os últimos fatos relatados comprovam a dissociação entre alergia tuberculínica e a reação lepromí-

nica, tratando-se de fenômenos diferentes. Traduzindo a reação de Mitsuda, imunidade, isto é, resistência na infecção leprótica, esses dados convergem com os coligidos com a becegeização por diversas técnicas principalmente a oral, comprovantes de que se pode criar imunidade sem o concurso da sensibilidade tuberculínica, como ocorre na tuberculose.

### 3.5 DISSOCIAÇÃO ENTRE IMUNIDADES E ALERGIA

Nos últimos 40 anos acumulou-se substancial e decisiva demonstração que imunidade e alergia (sensibilidade tuberculínica) são fenômenos independentes e dissociáveis.

#### 3.5.1 Papel prejudicial da alergia

Além da dissociação dos dois fenômenos — resistência e hipersensibilidade — a experimentação ressaltou ser a alergia antes prejudicial que benéfica. Demonstrou que animais imunizados e alérgicos, dessensibilizados por métodos diversos (tuberculina, tubérculo-proteínas, germes mortos, BCG etc), não somente mantêm a resistência específica em níveis iguais aos não dessensibilizados, como esta se tornou em certos casos ainda mais eficaz, por proporcionar uma sobrevivência maior às infecções virulentas, com menor ou inclusive ausência de reações destrutivas locais e repercussões lesionais à distância (24, 33, 35, 37, 39, 42, 57, 58, 67, 79, 83, 109, 148, 172).

A dissociação de resistência e sensibilidade na vacinação BCG também foi comprovada no organismo humano pela presença de estados imunitários sem sensibilidade específica (8, 75, 92, 103, 117, 116). Com a vacinação oral patenteia-se mais claramente o fato, traduzido inclusive por expressão de resistência específica ainda mais elevada (6, 17, 46, 121, 127).

#### 3.5.2 Significação dos estados imunobiológicos de resistência, com alergia residual ou anergia

É realmente antigo o conhecimento, na tuberculose, de estados imunobiológicos com sensibilidade residual (171), denominados de alergia latente (152), alergia infra-tuberculínea (10) imunidade iathergica (33), imuno-anergia (63). Esses estados não são revelados pela tuberculina, necessitando-se para seu reconhecimento, da introdução no organismo, do antígeno bacilar integral, o que pode ser realizado pelo procedimento do "BCG-teste" (10, 19, 20, 122). Ficou exaustivamente demonstrado que os organismos becegeizados, inclusive por via oral, que não desenvolvem alergia tuberculínica ou a perderam depois de instalada, respondem positivamente ao BCG-teste. Isso não corre nos organismos virgens de infecção virulenta e não vacinados. As pesquisas brasileiras receberam ampla confirmação (64, 85, 115, 158).

A positividade ao BCG-teste na ausência de sensibilidade tuberculínica, revela: **a)** existência de imunidade sem alergia; **b)** que a falta de alergia não é prova de não absorção do BCG. Esses estados imunitários sem alergia tuberculínica, constituem o grau mais elevado de resistência como foi revelado pela experimentação em animais de laboratório e na experiência acumulada na vacinação BCG do homem. O método concorrente de revacinações repetidas conduz com maior frequência a esse tipo de estado imunitário, sendo portanto o procedimento mais eficaz da orovacinação. As observações e os ensaios clínicos e epidemiológicos com o BCG oral coincidem com esses conceitos no sentido de que nos vacinados com estados infra-tuberculínicos a expressão da imunidade antituberculosa é a mais elevada, pois nesse tipo de vacinados (sem resposta à

tuberculina) ocorre o menor número de adoecimentos por tuberculose, mesmo em se tratando de indivíduos expostos a contágio contínuo (64, 85, 121, 154, 155, 157, 160).

### 3.5.3. Considerações finais

O estado imunobiológico pós-vacinal caracterizado por hipergia ou ausência da alergia, com resposta positiva ao antígeno bacilar integral (BCG-teste), traduz elevada proteção contra a tuberculose. O fato observado de que nesses estados há ausência ou menor incidência de processos patológicos específicos, em confronto com os que mantêm a alergia, leva à conclusão de que aquela é a situação imunitária mais eficiente.

O método oral produzindo menos alergia e onde esta é menos estável conduz com mais freqüência aos estados mencionados, mormente pela possibilidade de oferecer ao organismo doses repetidas em intervalos curtos e adequados, que têm efeito dessensibilizante, como é o caso da vacinação pelo método concorrente. Isso é uma vantagem proporcionada por esta técnica.

Reconhece-se, outrossim, como é óbvio, também a proteção conferida com as técnicas parenterais, as quais desenvolvem maior e mais estável sensibilidade tuberculínica. Isso, porém, à luz dos conhecimentos atuais, não justifica a posição dos opositores da técnica oral por esta não alergizar tanto quanto a parenteral. A falta de sensibilidade tuberculínica, em lugar de revelar a ineficiência da vacinação, prova antes sua validade e melhor situação imunobiológica do organismo. A escola brasileira de BCG não se preocupa, por isso, com a alergização pós-vacinal, sendo ela encarada apenas como um dos elementos a indicar a absorção da vacina pela via

digestiva. Elementos, como se viu, de relativo valor na técnica oral, pois o BCG-teste e a reação de Mitsuda comprovam em praticamente 100% dos casos a impregnação vacínica, independentemente da presença ou não da alergia. Estes dois últimos testes, além de melhor revelar a absorção da vacina pela via digestiva, têm o valor de exteriorizar o estado imunitário favorável, o primeiro em relação à tuberculose e o segundo com referência à hanseníase.

### 4. ALERGIA TUBERCULÍNICA E NEOPLASIAS

O manejo de doses elevadas de BCG possibilitado pela via oral, conduziu à melhor evidenciação de estados imunobiológicos caracterizados por alta resistência específica e baixa ou nenhuma sensibilidade, como se viu no item 3.2.4. Nos itens 3.5.1 e 3.5.2 ressaltou-se a significação desses estados, onde há dissociação de imunidade e alergia tuberculínica por expressarem o grau mais acentuado da resistência antituberculosa. Essa característica de mobilização do SRE, deve refletir-se beneficemente por analogia, na imunização inespecífica contra a célula cancerosa, onde as respostas celulares de defesa estão assumindo cada vez maior importância.

Não desconhecemos, entretanto, que melhores prognósticos foram anunciados, quando pacientes cancerosos desenvolvem sensibilidade ao dinitroclorobenzeno, a diversos outros antígenos e à tuberculina (59). Deixando de lado os primeiros, para só nos ater a alergia tuberculínica, anote-se que diversas contribuições têm ressaltado resultados mais favoráveis em portadores de tumores quando aquela está presente, como por exemplo, no Hodgkin (162) e melanoma maligno (105, 107). Doentes de carcinoma broncogênico, submetidos à ressecção pulmonar, reagindo a 3UT de

tuberculina, apresentaram sobrevida média superior aos que eram negativos <sup>(185)</sup>. Apesar dessas e outras observações similares, essa aparente correlação exige investigação mais aprofundada. Estudo de apreciável variedade de tumores, revelou que apenas um quarto dos casos têm hipersensibilidade aos extratos antígenos do próprio neoplasma, enquanto a presença concomitante de sensibilidade a antígenos bacterianos variou muito. A comparação da sensibilidade retardada (do tipo tuberculínico) tendo sido detectada em 26% dos pacientes, esteve por outro lado completamente ausente nos casos de tumores benignos <sup>(164)</sup>. Este fato é importante. A resposta positiva do tipo de sensibilidade tardia aos antígenos microbianos, assim como a reação positiva à tuberculina não quer dizer que o organismo reaja de maneira idêntica ao tumor que alberga.

Acresce ainda que outras observações não ressaltam a correção da alergia tuberculínica com a evolução mais favorável de neoplásicos. No "Ensaio Concord" <sup>(104)</sup>, mencionado no item 2.2, os casos de leucemia linfoblástica aguda, com remissão após quimioterapia, reativaram-se durante as 52 semanas da observação sem guardar relação aparente com a sensibilidade à PPD, tanto nos grupos que receberam BCG ou Metotrexate. Os testemunhas eram todos positivos à tuberculina e isso não obistou que neles ocorresse o maior percentual de reativações no período mencionado.

Se a alergia tuberculínica fosse causa de maior resistência anticancerosa, os indivíduos Mantoux positivos de uma população estariam mais protegidos que os analérgicos. Essa prova ainda não foi feita. No inquérito epidemiológico de Alabama e Georgia <sup>(48)</sup> citado no item 2.3, embora os mais altos coeficientes de mortalidade por leucemia, Hodgkin e linfossarcoma, (depois

do ensaio controlado sobre o BCG) tenha incidido no grupo tuberculino-positivo, não houve diferenças estatisticamente significativas entre este e os grupos analérgicos vacinados ou não. Em outras palavras, os indivíduos com alergia tuberculínica não revelaram maior resistência, pois a mortalidade por tumores foi a mesma que nos analérgicos.

O problema portanto deve ser focado sob outro ângulo. Em geral, o organismo canceroso é imuno-deficiente. Acumularam-se provas de que no organismo canceroso o processo imunobiológico, que é mais celular, sofre depressão, diminuindo e até desaparecendo a capacidade reacional. Conseqüentemente a resposta à tuberculina — do tipo celular — como outras respostas de tipo semelhante — dinitroclorobenzeno, dinitrofluorobenzeno, por exemplo, também podem estar ausentes. É a neoplasia que é a causa dessas negativas, inclusive da reação tuberculínica e não esta que condiciona a evolução daquela. Este raciocínio tem ainda apoio no fato conhecido da atenuação da sensibilidade tuberculínica em cancerosos, podendo esta descer a 10UT e a 100UT <sup>(183)</sup>. Ainda mais eloqüente é a constatação de indivíduos portadores de câncer broncogênico que sendo negativos à tuberculina, se tornam positivos apenas com remoção cirúrgica do tumor <sup>(184, 185)</sup>.

Aliás de longa data se sabe que na sarcoidose a alergia tuberculínica está apagada ou atenuada. Esta pode inclusive desaparecer em diversas doenças como, tifo, coqueluche, sarampo, nas doenças caquetizantes, etc. e inclusive nas formas mais graves da tuberculose, granulia, meningite e estados finais. As neoplasias podem com freqüência conduzir a esses estados depressivos do sistema imunobiológico no seu todo, sendo isso

mais demonstrável pela faceta mais facilmente exteriorizada, a reação tuberculínica. Não devemos esquecer que outros parâmetros de avaliação de resposta orgânica também sofrem a mesma conseqüência. Em suma a negatificação do Mantoux representa apenas um dos aspectos das modificações da capacidade reacional, geral, orgânica do canceroso e não uma "alergia específica" à tuberculina. Se com a terapêutica se diminui o número de células cancerosas, se o organismo é colocado em melhores condições de poder estimular o sistema retículo endotelial e sua capacidade reacional, todas as respostas celulares, inclusive à tuberculina, podem se restabelecer. Neste sentido e só neste sentido, é que a reação de Mantoux pode constituir, ao lado de outros, um elemento de prognóstico da evolução cancerosa. Deve ficar portanto entendido que a alergia tuberculínica pode acompanhar no sentido positivo ou negativo, apenas como epifenômeno, todo o complexo reacional orgânico. Daí se deduz que a reação tuberculínica não afere o grau de estimulação do SRE como não mede a imunidade. Já vimos que se trata de dois fenômenos independentes e dissociáveis na infecção tuberculosa e leprótica. O mesmo se passa no processo cancerológico. Como conclusão prática fica a concepção de que na imunoterapia pelo BCG nos tumores devemos preferir técnicas capazes de introduzir no organismo doses elevadas de vacina com a preocupação de melhor estimular o SRE, importando menos se em decorrência se reforça ou não a alergia tuberculínica.

##### **5. INCLUSÃO DO BCG ORAL NOS PROGRAMAS TERAPÊUTICOS EM CANCEROLOGIA**

No capítulo 2 ressaltou-se a necessidade de se favorecer a ação da imunização inespecífica atendendo a vários elementos

notadamente: tipo de neoplasia, redução do número de células cancerosas, e não concomitância de agentes imunodepressivos.

Especialmente nos itens 2.2 e 2.4 ventilou-se não ser indiferente a técnica de administração e as doses de BCG empregadas, podendo alguns resultados discordantes ser a elas imputados. Ficou ali ressaltado que para reforçar a imunização inespecífica na terapêutica das neoplasias é preciso manipular doses elevadas de BCG, maciças se possível, por meio de administrações repetidas a curtos intervalos por períodos relativamente prolongados.

Por esses motivos é de interesse explorar, além das técnicas parenterais, o rendimento do BCG oral. Inegavelmente, com este método se pode introduzir no organismo doses muito mais altas de vacina que com as primeiras.

O BCG oral tem comprovada capacidade de estimular eficientemente o SRE, desenvolvendo imunização celular específica e inespecífica. Pelo exposto no capítulo 3, está demonstrada a absorção do BCG pela via digestiva, expressa em cinco fatos fundamentais: proteção específica antituberculosa; capacidade de desenvolver alergia; positividade da reação de Mitsuda; poder de dessensibilizar os organismos alérgicos e faculdade de criar estados de imunidade com baixa ou mesmo sem nenhuma sensibilidade tuberculínica.

Com o objetivo pois de aprofundar as indagações sobre o rendimento da imunização inespecífica em cancerologia, as pesquisas devem ser estendidas ao BCG oral, pois com este procedimento podemos realizar inúmeras revacinações com intervalos curtos (semanais ou menos), com doses altas — 100mg a 400 mg — chegando

a totais de 5g a 10g ou mais, o que é impossível com as técnicas parenterais. Esses esquemas são de ótima tolerância e não se acompanham de reações indesejáveis, como ulcerações locais, para não falar em outras, quando se procede às repetições de injeções intradérmicas ou de escarificações. Ainda mais, a vacinação oral é procedimento de fácil execução, não exigindo pessoal especialmente treinado.

Entretanto, para se operar dessa forma, na vacinação oral, impõe-se contar com cepa de BCG seguramente pouco "irritante" a fim de garantir a referida tolerância. A experiência brasileira de vacinação antibuberculosa foi toda realizada com a "amostra Moreau" que se revelou de ótima tolerância em qualquer idade (<sup>15</sup>, <sup>129</sup>) o que também foi verificado nos outros países (<sup>149</sup>).

A cepa Moreau experimentada pela via parenteral produz também menos complicações que as outras cepas (<sup>56</sup>, <sup>175</sup>, <sup>176</sup>). Essa cepa também chamada "amostra brasileira de BCG" é considerada de muito boa potência, no cotejo com cepas diversas (<sup>28</sup>, <sup>94</sup>, <sup>109-A</sup>, <sup>115</sup>, <sup>120</sup>) e até de maior atividade *in vivo*, cotejada com 9 outras cepas internacionais (<sup>174</sup>).

Pelo que foi exposto neste relatório, pelo rendimento que o BCG oral possa fornecer na terapêutica anticancerosa, pela característica dos estados imunobiológicos a que ele pode mais facilmente conduzir e pelo interesse em melhor esclarecer diversos fatos de importância prática e doutrinária, somos de opinião que se impõe a elaboração de programas de investigação comparativa do método de vacinação oral com as técnicas parentéricas, nos ensaios controlados terapêuticos em cancerologia.

Importa dar preferência ao uso do BCG liofilizado qualquer que seja a técnica escolhida, porque permite a estocagem por longo tempo sem perda de sua atividade, garantindo maior uniformidade das partidas de vacina. A amostra brasileira de BCG oral liofilizada, mantém suas propriedades biológicas inclusive a de positivar a reação de Mitsuda (<sup>131</sup>). A Fundação Ataulfo de Paiva prepara vacina liofilizada para uso oral e intradérmico.

Incluimos no final "Protocolo de Imunoterapia com BCG em cancerologia" no qual estão mencionadas as diversas técnicas de vacinação e o procedimento das provas tuberculínicas.

## ***Protocolo de Imunoterapia com BCG em Cancerologia***

### **1 — TRATAMENTO PRÉVIO DAS NEOPLASIAS**

**a)** Tumores cirúrgicos, melanoma, leucemia aguda linfoblástica, Hodgkin, linfomas em geral: tratamento prévio com, cirurgia, irradiação, quimioterapia, conforme os esquemas em uso para cada caso considerado, com o objetivo de reduzir ao máximo possível o número de células neoplásicas, atingindo o estado de remissão, isto é, de "doença cancerosa residual mínima".

**b)** Não fazer a imunoterapia concomitantemente com agentes imunodepressores, iniciando-a no mínimo uma a duas semanas depois de concluída a administração de drogas anticancerosas e de corticoides e duas semanas após o término das irradiações.

### **2 — ADMINISTRAÇÃO DO BCG**

Pelos fatos expostos no nosso relatório "Sobre o BCG na imunização ativa

inespecífica em cancerologia", e de acordo com as conclusões do relatório do "Grupo de Trabalho sobre Quimioterapia e Imunoterapia", damos preferência à via oral e ainda porque esta possibilita a administração de doses muito mais elevadas de vacina que as técnicas parenterais.

O método oral é de mais fácil manejo dispensando pessoal especialmente treinado. Não produz efeitos indesejáveis, pois é de ótima tolerância, mesmo com as doses repetidas em intervalos curtos. Não ocorrem com esse método as necroses e outras reações observadas com as técnicas parenterais. Mencionamos abaixo os protocolos e as Técnicas oral e parenterais de vacinação de BCG, mais empregadas na imunoterapia inespecífica de neoplasias, para os que desejarem incluir nos programas, a investigação comparativa do rendimento dos diversos métodos.

### 2.1 — Método oral

a) Administrar a vacina cada três dias, nas doses de 200mg para crianças até 2 anos, 300 mg para as de mais idade e 400 mg acima de 14/15 anos, durante 4 meses.

b) O BCG oral deve ser administrado, estando o paciente em jejum. Tomar um gole de água logo em seguida. Alimentar-se somente uma hora depois. Para os lactentes, a vacina pode ser misturada com um pouco de leite na mamadeira.

c) É indiferente o estado alérgico dos pacientes. Tanto os tuberculino-negativos como os positivos, inclusive os reatores fortes, podem ingerir o BCG nas doses sugeridas, ou maiores ainda, sem qualquer reação indesejável.

d) A experiência indicará as doses ideais e se os intervalos e a série total deverão ser alterados. Doses muito maiores das propostas acima, podem ser manipuladas com

boa tolerância. Estamos investigando em colaboração com o Prof. José Ramos Júnior, um esquema de doses maciças de BCG: 400/600 mg diariamente, por um mês e depois em dias alternados por mais um a dois meses.

### 2.2 — Técnica de escarificações (adaptação do protocolo de Mathé e col.)

a) Fazer 20 escarificações de 5 cm de comprimento em um quadrado de 5 cm de pele, ou 40 escarificações de 2,5 cm de comprimento. Evitar sangramento.

b) Repetir as escarificações cada 4 dias durante um mês e depois uma vez por semana durante 1 a 2 meses.

c) Depositar sobre as escarificações 2 ml de uma suspensão de BCG contendo 75 mg de germes, ou 3 ml de 50 mg.

d) Rodiziar as escarificações de preferência na região deltoide dos braços e na região antero-lateral das coxas. Sempre usar novo sítio, para cada escarificação.

e) Esse esquema deverá ser modificado de acordo com eventuais reações locais e gerais.

### 2.3 — Técnica do multipunturas (adaptação do protocolo de Rosenthal)

a) Fazer as multipunturas por meio do disco vacinante. Se o paciente é tuberculino-negativo, usar o disco com 36 estiletos. Se é reator forte à tuberculina (pápula de 10 milímetros ou mais), usar o disco com 9 estiletos.

b) Depor sobre a pele 60 a 120 mg/ml de BCG.

c) Rodiziar as multipunturas na região deltoide dos braços e pernas. Usar sempre um novo sítio para cada vacinação.

d) Repetir as multipunturas uma vez por semana, durante 2 meses.

e) Esse esquema deverá ser modificado de acordo com as reações locais ou gerais.

#### 2.4 — Técnica especial no melanoma.

a) Injetar o BCG nos nódulos, de preferência, nas bases. Doses de 0,05 mg a 0,2 mg de vacina suspensa em 1 ml. Injetar no máximo 8 nódulos ao mesmo tempo.

b) Em casos cirúrgicos ou não, alguns autores obtiveram bons resultados com BCG aplicado com a técnica de escarificações. Nestes casos poderá ser indicada também a via oral.

#### 2.5 — Recomendações gerais sobre BCG

a) A becegeização não deve ser feita durante ou logo após a ação de agentes imunodepressores, observando-se os prazos mencionados no item 1 b.

b) Se no protocolo for incluída a pesquisa da alergia, a becegeização somente deverá ser começada depois das provas tuberculínicas iniciais para avaliação prévia do nível da sensibilidade ou de sua ausência.

c) Vacina liofilizada: preferir sempre o BCG liofilizado, pela sua maior estabilidade e conservação. Isso permite programar ensaios terapêuticos com uniformidade das partidas de vacina, facilitando a avaliação comparativa dos resultados dos diversos centros de trabalho. A Fundação Ataulfo de Paiva — Rio de Janeiro — está produzindo BCG seco com a amostra Moreau, para uso, oral e parenteral. O BCG seco, embora de relativa termoestabilidade, deve ser conservado em geladeira a 4° C. As suspensões em água fisiológica ou destilada, serão feitas no ato do seu emprego, não devendo ser conservadas.

d) Vacina líquida: O BCG líquido, deve ser guardado em geladeira a 4° C e usado no

máximo até 10 a 12 dias, a contar da data de seu preparo no laboratório fornecedor. Antes da administração os tubos ou ampolas serão agitados alguns segundos até se obter suspensão homogênea.

e) As séries de BCG serão repetidas periodicamente nas remissões.

### 3 — Pesquisas da alergia tuberculínica

Pelas razões expostas no nosso relatório acima referido, a alergia tuberculínica não mede o grau de estimulação do SRE. A sua pesquisa é aqui sugerida para os que desejarem aprofundar o assunto, incluindo ainda outros parâmetros imunobiológicos, para esclarecer sobre a possibilidade de valor prognóstico da resposta à tuberculina, noticiado em algumas publicações.

#### 3.1 Alergia tuberculínica anterior ao tratamento da neoplasia

a) Usar de preferência PPD-RT 23, distribuída pela OMS. Com esta tuberculina os resultados serão mais facilmente comparáveis.

b) Realizar duas provas de PPD com 2 UT e 10 UT, fazendo a segunda quando a primeira for negativa. Esse procedimento é importante para dar melhor idéia do nível da sensibilidade tuberculínica.

#### 3.2 — Alergia tuberculínica depois do tratamento (fase de remissão) e antes da imunização com BCG

a) Iniciar as provas somente uma a duas semanas após a quimioterapia e irradiações.

b) Usar sempre a mesma tuberculina empregada anteriormente. Reiniciar as provas com a mesma diluição da última reação positiva (feita antes do tratamento) para poder avaliar as variações dos níveis da alergia.

### 3.3 — Alergia Tuberculínica depois da administração do BCG

a) Seguir as mesmas recomendações contidas em 3.2.b.

b) Repetir as provas cada 3 meses.

c) Eventualmente poderá haver interesse em se fazer algumas provas tuberculínicas durante as administrações de BCG, bem como um número maior de reações com diluições mais altas ou mais baixas das sugeridas.

### 3.4 — Recomendações gerais sobre as provas tuberculínicas

a) O protocolo acima proposto visa esmiuçar o comportamento do organismo em relação à sensibilidade tuberculínica durante as fases consideradas e avaliar mais rigorosamente as variações de nível das atenuações ou exaltações que a alergia venha a sofrer. Empregando-se o BCG oral convirá fazer a segunda prova com 50 UT de PPD, porque a alergia pós-vacinal é via de regra mais fraca.

b) Em alguns programas entretanto, as provas antes do tratamento poderão ser eventualmente suprimidas, restringindo-se a pesquisa da alergia tuberculínica à fase de remissão nos períodos anterior e posterior à imunização com BCG.

c) De qualquer forma deve-se ter em mente, que intradermo-reações muito repetidas podem exaltar a resposta positiva pelo fenômeno denominado "boosting effect".

d) As diluições de PPD RT 23 são distribuídas contendo substâncias estabilizadoras, podendo portanto ser conservadas em geladeira a 4° C. Não deixá-las expostas à luz.

e) As provas de Mantoux devem ser rigorosamente intradérmicas. Ler as reações com 72 horas. Não considerar o eritema. Procurar, com leve apalpação, os bordos da pápula, e medir a enduração no sentido transversal do antebraço. Registrar os resultados em milímetros, e mencionar quando houver flictenas ou necroses. Considerar negativas as reações com menos de 5 milímetros. Fazer as provas sucessivamente em locais diferentes da face interna do antebraço. Nunca injetar as diversas diluições ao mesmo tempo.

### 4 — Outros exames

Visando reunir o maior número possível de dados, outros exames podem ser efetuados, notadamente provas com dinitroclorobenzeno, contagens linfocitárias, relação monocito-linfocitária, perfil electroforético, resposta linfocitária à fitohemoaglutinina etc.

### SUMÁRIO

1 — No presente trabalho foram comentados: a principal bibliografia relativa ao BCG em oncologia, os resultados anunciados nesse campo com as técnicas parenterais de vacinação e os efeitos imunobiológicos conseguidos com a técnica oral, por cujos motivos é recomendada pelo Autor para ser confrontada com as primeiras, em ensaios terapêuticos.

2 — Pesquisas experimentais revelaram que o BCG é um dos mais potentes estimuladores do SRE e que por esse mecanismo ele desenvolve um efeito protetor contra diversas neoplasias, dificultando e mesmo impedindo sua implantação e ou o desenvolvimento em animais.

3 — No campo clínico, a imunoterapia ativa inespecífica com BCG está produzindo

resultados encorajadores, notadamente na leucemia aguda linfoblástica, linfomas em geral, melanoma maligno, pelo prolongamento das remissões e menor número de reativações.

4 — Os dados epidemiológicos são de certo modo discrepantes. Há análises negativas. Por outro lado, há inquéritos evidenciadores de que a mortalidade por leucemia aguda linfoblástica pode baixar cerca de 50% nos indivíduos previamente vacinados com BCG em confronto com a encontrada nos não vacinados.

5 — Para que se manifeste a ação favorável da imunoterapia nos tumores, alguns princípios fundamentais devem ser observados: **a)** redução prévia da população celular neoplásica por meio da cirurgia, irradiações e ou quimioterapia, atingindo o estado de remissão, isto é, de "doença cancerosa residual mínima"; **b)** evitar a ação concomitante ou logo anterior de agentes imuno-depressivos; **c)** introduzir no organismo, o BCG em doses elevadas por meio de administrações repetidas em curtos intervalos, por períodos relativamente longos.

6 — Da análise das principais contribuições clínicas, infere-se que as diferenças dos efeitos da imunoterapia com BCG parecem depender, de um lado da diversidade dos protocolos terapêuticos prévios, e de outro da cepa de vacina, técnicas e doses de aplicação.

7 — Para melhor estimular o SRE dos organismos cancerosos, comumente imuno-deficientes, afigura-se importante a prolongada repetição em curtos intervalos de doses substanciais de BCG. A via oral atinge facilmente esse desiderato conseguindo-se administrar totais elevadíssimos de BCG (até 20g ou mais) o

que é impossível com as técnicas de escarificação, multipuncturas e intradérmicas. A primeira é de fácil praticabilidade e não produz as reações indesejáveis frequentes nas últimas.

8 — A eficiência do BCG oral está comprovada pela longa experiência brasileira e de outros países. Sua absorção pelo organismo é aferida por diversos fatos, destacando-se cinco fundamentais: **a)** proteção específica antituberculosa; **b)** positividade da reação lepromínica; **c)** desencadeamentos nos analérgicos, da sensibilidade tuberculínica; **d)** dessensibilização dos organismos tuberculino-positivos pela repetição de doses; **e)** criação de imunidade com baixa ou nenhuma sensibilidade tuberculínica.

9 — Os estados imunobiológicos sem alergia tuberculínica mencionados acima, são evidenciáveis pela resposta positiva ao BCG—teste. Elas expressam os níveis mais altos de proteção específica e são conseguidos freqüentemente com a vacinação concorrente (repetição de ingestões de BCG em intervalos curtos).

10 — Há substancial acervo experimental e clínico demonstrativo de que imunidade e alergia tuberculínica são fenômenos dissociáveis e independentes e que esta pode ser mais prejudicial que benéfica. Ainda mais, que a primeira é mais eficiente na ausência da última.

11 — É de grande interesse aprofundar pesquisas para esclarecer até que ponto se poderá transferir essas noções para a imunoterapia com BCG em oncologia. Observações de que doentes cancerosos quando tuberculino-positivos evoluem mais favoravelmente que os negativos, tem induzido algumas vezes a encarar a sensibilidade tuberculínica como responsá-

vel pela resistência antineoplásica ou a ela estreitamente vinculada. Os fatos não parecem apoiar essa suposição. A resistência antitumoral que é notadamente celular (sistema retículo endotelial) sofre comumente depressão, podendo atenuar-se ou desaparecer as outras respostas, também de mecanismo celular, que participam como epifenômeno do processo imunitário, entre elas a resposta à tuberculina. A negativação da reação tuberculínica representa apenas uma das manifestações da capacidade reacional do organismo canceroso e não uma "anergia específica" à tuberculina.

12 — Como conclusão prática, fica a concepção de que na imunoterapia pelo BCG nos tumores, se deve preferir técnicas capazes de introduzir no organismo as mais elevadas doses de vacina com o objetivo de mais e melhor estimular o SRE, importando menos se em decorrência se reforça ou não a alergia tuberculínica.

13 — A técnica oral faculta a elaboração de protocolos de doses de 200 mg a 400 mg cada 3 dias, por longo prazo e mesmo ingestões diárias de 400 mg/600 mg

durante meses, como estamos realizando em investigações em curso.

14 — Para operar dessa forma impõe-se contar com cepa de BCG seguramente pouco "irritante" a fim de garantir a melhor tolerância. Toda experiência brasileira, durante 50 anos, foi efetuada com a cepa Moreau, que é a menos irritante de todas, inclusive, quando administrada por via parenteral. Esta cepa é de muito boa potência e até se mostrou de maior atividade **in vivo** em confrontos realizados com outras cepas internacionalmente usadas.

15 — Recomendou-se a realização de inquéritos de imunoterapia de tumores comparando-se as técnicas de escarificação, multipuncturas e oral e empregando-se a cepa Moreau liofilizada. No final foram anexados protocolos para imunoterapia ativa inespecífica com BCG em cancerologia.

#### **Termo índice**

BCG em cancerologia

BCG oral na imunoterapia ativa dos tumores malignos.

### ***Active Inespecific Immunotherapy with BCG in Malignant Tumors***

#### **SUMMARY**

1 — The main bibliography of the action of BCG vaccine in oncology is commented as well as the results obtained in this field employing the parenteral technique. It is also studied the immunological effect obtained with the use of BCG by the oral route, recommended by the Author, who suggests that a comparison between both procedures should be carried on in further therapeutic trials.

2 — Experimental investigations proved that BCG is one of the most potent RES stimulator and through this mechanism produces protection against several kinds of neoplasias difficulting or avoiding the implantation and even stopping the development of such tumors in animals.

3 — In the human body, active inespecific immunotherapy with BCG is giving encouraging results, remarkably in acute lymphoblastic leukaemia, lymphoma, malign-

nant melanoma, increasing the length of remissions and reducing relapses.

4 — The epidemiological data are somewhat discrepant. Negative analyses have been reported. In the other hand there are enquiries revealing that acute lymphoblastic leukaemia mortality can grow lower until 50% in those individuals previously vaccinated with BCG compared to those non-vaccinated.

5 — To obtain favourable action of the immunotherapy in the tumors we must observe some fundamental principles: a - previous reduction of the number of neoplastic cells by means of surgery, radiotherapy and or chemotherapy until remission is obtained; b - avoid association to immunosuppressive agents; c - high doses of BCG repeated short intervals for a long period must be introduced in the organism.

6 — From the analyses of the main clinical contributions one may conclude that the differences described upon the effects of immunotherapy with BCG seems to depend, by one side from the diversity of preliminary therapeutic protocols and by the other from the vaccin-strain, doses and procedure employed.

7 — It seems important the prolonged repetition of substantial doses of BCG to get a better RES stimulation on the organism of cancer patients, commonly immunosuppressives. The oral technique attempt easily this goal permitting the administration of 400/600mg of BCG repeated at short intervals reaching high totals (20gr or more). This is impracticable with other methods as multiple puncture, scarification or intradermal. The first method, the oral route is of easy feasibility and avoid undesirable effects very frequently with the others techniques. Furthermore no trained personnel is required.

8 — The effectiveness of oral BCG is improved not only by the Brazilian experiments but also by several other countries. BCG absorption by oral route is based on several facts being the five fundamental ones: a - specific protection against tuberculosis; b - development of post-vaccinal tuberculin sensitivity; c - conversion of lepromin test; d - desensitization of healthy reactors by means of repeated doses of BCG at short intervals; e - development of high immunity with a weak sensitivity or analergy.

9 — The organisms presenting such post-vaccinal immunological state, as explained in item 8, are characterized by hyperergy or absence of tuberculin sensitivity, generally showing a positive response to BCG-test. They express higher levels of antituberculous protection and are obtained with the so-called concomitant vaccination (repeated BCG doses at short and adequate intervals).

10 — It has been already proved in large scale by experimental and clinical data that immunity and allergy (tuberculin sensitivity) are independent and dissociated phenomena. Furthermore in addition these facts have demonstrated that allergy is more prejudicial than beneficial and that resistance is revealed as even more effective when allergy is absent.

11 — It is of great importance deepen investigations in this field to verify if such notions can be transferred to immunotherapy with BCG in oncology. Cancer patients with positive tuberculin test have revealed a better prognosis than those who that tuberculin sensitiveness is responsible for the resistance against neoplasia. But facts seem to be, contrary. The anti-tumoral immunity which is predominantly cellular is commonly depressed and are able to cause

weakness or even disappearance of other responses which belong to the cellular mechanism. These response are epiphenomena of the immunitary process, among them tuberculin sensitivity is included.

12 — As practical conclusion it remains the conception that in BCG immunotherapy in malignant tumors preference must be given to procedures who are able to introduce into the organism the highest doses of vaccin aiming to obtain the better stimulation of the RES disregarding the reinforcement of the tuberculin sensitiveness.

13 — The oral BCG procedure permits establish protocols of 200mg to 400mg doses each three days for a long period and even daily takings of 400mg/600mg for several months as we are employing in researches we are carrying out.

14 — To operate efficiently in this way it is very important to deal with a low irritating strain to goal a better tolerance. For 50 years the entire brazilian experience employed only the Moreau-strain (Brazilian-strain or BCG-Rio de Janeiro) the owest irritating strain among others vaccins, even when administered by parenteral methods. The Moreau-strain has a good potency, a low irritating capacity which illustrates complete tolerance and showed a great "in vivo" activity compared with others strains in some experiments.

15 — Trials of therapy of malignant tumors comparing scarification, multipuncture and oral procedures using the freeze-dried Moreau-strain are recommended by the Author. Protocols for the active inespecific immunotherapy with BCG in cancerology follow at the end of the present paper.

#### BIBLIOGRAFIA

1. ALDERSHOFF, H. & VAN DEN BERG, R. H. — Vaccination BCG dans les Pays-Bas, 1926-1932. In Vaccination préventive de la Tuberculose de l'homme et des animaux par le BCG, pág. 187. Institut Pasteur, Masson & Cie., Paris, 1932.
2. ALVIN, A. C. & NASCIMENTO, E. — Vacinação BCG concorrente. Memórias da Campanha Nacional contra a Tuberculose, Serviço Nacional de Tuberculose, 1953, **1**, 35, e Rev. Bras. Tuberc., 1953, **21**, 963.
3. ALVIM, A. C. & NASCIMENTO, E. — Quadros pulmonares nos vacinados pelo método concorrente na Favela da Praia do Pinto. Rev. Bras. Tuberc., 1954, **22**, 889.
4. ALVIM, A. C. & NASCIMENTO, E. — Mortalidade, morbidade e infecção tuberculosa em crianças não vacinadas com o BCG na Favela da Praia do Pinto. Rev. Bras. Tuberc., 1955, **23**, 611.
5. AMIEL, J. L. & BÉRARDET, M. — Immunothérapie active non spécifique par le BCG de la leucemie virale E o G2 chez des receveurs isogeniques. Rev. Franç. Études Clin. et Biol., 1967, **12**, 912.
6. AMIEL, J. L. & BÉRARDET, M. — Induction d'une insuffisance immunitaire chez la souris adulte par l'utilisation additive d'un stimulant non spécifique des réactions immunitaires et d'une chimiothérapie immunodépressive. Rev. Franç. Études Clin. et Biol., 1969, **14**, 912.
7. ARONSON, J. D., ARONSON, C. F. & TAYLOR, H. C. — A twenty-year appraisal of BCG vaccination in the control tuberculosis. Arch. Int. Med. 1959, **101**, 88.
8. ASSIS, A. — Alergia tuberculínica depois da vacinação e revacinação com BCG por via intradérmica. O Hospital, 1949, **18**, 1.
9. ASSIS, A. — Alguns aspectos novos da alergia tuberculínica nos analérgicos vacinados com BCG por via bucal. O Hospital, 1941, **20**, 523.
10. ASSIS, A. — Estudos sobre alergia infratuberculínica. O Hospital, 1942, **21**, 795.

- 10-A. ASSIS, A. — Tolerância do organismo adulto alérgico ao BCG. *O Hospital*, 1945, **28**, 875.
11. ASSIS, A. — Vacinação BCG concorrente. *O Hospital*, 1947, **31**, 815.
- 11-A. ASSIS, A. — Vaccination concomitante au BCG. Premier Congrès International du BCG, pág. 205, 18-23 junho 1948, Institut Pasteur, Paris.
12. ASSIS, A. — Alergia tuberculínica depois da vacinação oral do recém-nascido com dose única (100 miligramas) de BCG. *O Hospital*, 1948, **33**, 169.
13. ASSIS, A. — Concurrent BCG vaccination. *Dis. Chest*, 1949, **16**, 266.
14. ASSIS, A. — Novas perspectivas da vacinação contra a tuberculose pelo BCG. *O Hospital*, 1950, **37**, 337.
15. ASSIS, A. — Ordre d'urgence des mesures à prendre pour la lutte antituberculeuse dans les pays où cette lutte est à ses débuts. XI Conférence de l'Union Internationale contre la tuberculose, pág. 477, 3-6 setembro 1950, Copenhague.
16. ASSIS, A. — The Oral application of BCG. *Adv. Tuberc. Res.* 1957, **8**, 105, S. Karger, Basel.
17. ASSIS, A. — Passado, presente e futuro da vacinação BCG. *Rev. Serv. Nac. Tuberc.*, 1964, **8**, 7.
18. ASSIS, A. & CARVALHO, A. — Vacinação BCG por via bucal e alergia tuberculínica. *O Hospital*, 1940, **18**, 543.
19. ASSIS, A. & CARVALHO, A. — Estudos sobre alergia infratuberculínica. I — Ação do BCG morto em indivíduos isentos de infecção tuberculosa. *O Hospital*, 1942, **22**, 173.
20. ASSIS, A. & CARVALHO, A. — Estudos sobre alergia infratuberculínica. II — Ação do BCG morto nos indivíduos em período antialérgico da tuberculose virulenta. *O Hospital*, 1942, **22**, 823.
21. AYER Fº, R., SALOMÃO, A. & FERREIRA, D. L. — Positivização da reação de Mitsuda, primitivamente negativa, pelo emprego do BCG oral e em paucipunturas em filhos saudáveis de hansenianos, internados em preventórios. VI Congresso Internacional de Leprologia, pág. 630, 1953, Madri.
22. AZULAY, R. D. — A ação do BCG sobre a reação lepromínica. *O hospital*, 1948, **34**, 853.
23. BALNER, H., OLD, L. J., & CLARKE, D. A. — Accelerated Rejection of Male Skin Iso-grafts by Female C57BL Mice Infected with *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1962, **109**, 58.
24. BALTENU, I. TOMA, A. & GARAGULI, A. — Vaccination et infection tuberculeuse chez les cobayes anergiques. III — International Congress Microbiology. Abstracts of Communications, pág. 268, 1939.
25. BARUK, H., BIDERMAN, M., LAUNAV, J. et al. — Nouvelles recherches sur l'allergie tuberculínique dans les psychoses. Essai de désensibilisation par le BCG. Résultats allergométriques et psychiatriques. *Sem. Hôp. Paris*, 1956, **32**, (2).
26. BAUDOUIN, J. A. — Vaccination contre la tuberculose par le BCG à Montréal. In Vaccination préventive de la tuberculose de l'home et des animaux par le BCG., pág. 103, Institut Pasteur, Masson & Cie., Paris, 1932.
27. BECHELLI, L. M., QUAGLIATO, R. & NASSIF, S. J. — Calmetização de holandeses radicados há cerca de 3 anos no Brasil e sem contato com doentes de lepra. VI Congresso Internacional de Leprologia, pág. 540, 1953, Madri.
28. BENOIT, J. C. & PANISSET, M. — Survie et multiplication du BCG et du bacille tuberculeux chez la souris. IV — Survie et multiplication de souches-filles de BCG en fonction du temps et de la dose. *Acta Tuberc. Pneumol. Scand.* 1963, **43**, 125.
- 28-A. BERKELEY, J. S. — *Health Bull.* (Chief Med. Officer Scottish Home and Health Department, 1970, **29**, 167.
29. BERNARD, E., CROS-DECAM, J. et al. — Symposium sur la vaccination au BCG par

- voie buccale, 20 setembro 1957, Paris, Bull. Un. Int. Tuberc. 1958, **28**, 128.
30. BIOZZI G., BENACERRAF, B., GRUMBACH, F. et al. — Étude de l'activité granuleuse du système réticulo-endothélial au cours de l'infection tuberculeuse expérimentale de la souris. Ann. Inst. Pasteur, 1954, **87**, 291.
  31. BIOZZI, G., STIFFEL, C., HALPERN, B. N. et al. — Effet de l'inoculation de bacille de Calmette-Guérin sur le développement de la tumeur ascitique d'Ehrlich chez la souris. C. R. Soc. Biol. Paris, 1959, 987.
  32. BIOZZI, G. STIFFEL, C., HALPERN, B. N. et al. — Recherches sur le mécanisme de l'immunité non spécifique produite par les mycobactéries. Rev. Franç. Etudes Clin. et Biol., 1960, **5**, 876.
  33. BIRKAUG, K. — Allergy and immunity (iatrogeny) in experimental tuberculosis. Acta Tuberc. Scand., 1937, **11**, 199; 1939, **13**, 163.
  34. BIRKAUG, K. — Iatrogenic immunity in experimental tuberculosis. Chr. Michelsens Institut. A. S. John Griegs Boktrykkery, Bergen, 1940.
  35. BLASI, A. & CURCI, G. — Indagini sperimentali sulla vaccinazione antituberculosa con BCG per via orale secondo le metodiche di A. de Assis. Arch. di Tisiologia, 1955, **10**, 96.
  36. BLUMING, A. Z., VOGEL, C. L. ZIEGLER, J. L. et al. — Immunological Effects of BCG in Malignant Melanomas: two Modes of Administration Compared. Ann. Int. Med., 1972, **76**, 405.
  37. BOQUET, A. — Influence des réactions hyperergiques d'épreuve et de l'anergie provoquée (désensibilisation) sur l'évolution de la tuberculose expérimentale. C. R. Soc. Biol., 1933, **112**, 1168.
  38. BOTEZ, V., PARASCHIVESCO, M., ANGELESCO, I. et al. — Estudo experimental sobre a vacinação BCG intensiva por via oral. Arch. Roumaines Path. Exp. Microbiol. 1961, **20**, 171. Traduzido no O Hospital, 1962, **61**, 441.
  39. BRANCH, A. & KROPP, G. — The desensitization of tuberculous guinea-pigs with unheated tuberculin. Ann. Rev. Tuberc., 1937, **35**, 247.
  40. BRETEY, J., GERNEZ-RIEUX, C. & TACQUET, A. — Ingestion de BCG à doses massives et répétées chez les adultes tuberculeux et non tuberculeux. Bull. Acad. Med., 1953, (11 et 12), 215.
  41. BUDIANSKY, E. & CAMPOS, E. C. — Possível papel protetor do BCG contra a lepra. Anais do X Congresso Brasileiro de Higiene, pág. 743, 1953, Belo Horizonte.
  42. CALMETTE, A. — L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux. 4<sup>e</sup> ed., Masson & Cie, Paris, 1936.
  43. CALMETTE, A., BOQUET, A. & NÈGRE, L. — Essais de vaccination contre l'infection tuberculeuse par voie buccale chez les petits animaux du laboratoire. Ann. Inst. Pasteur, 1924, **38**, 399.
  44. CARVALHO, A. — Sobre a primovacinação com BCG por via oral de crianças analérgicas. Brasil Med., 1934, **48**, 56.
  45. CARVALHO, A. — Tuberculose familiar e vacinação BCG. Arq. Higiene, 1937, **7**, 195.
  46. CHAUSSINAND, R. — Allergie et prémunition dans la vaccination par le BCG. Rev. Tuberc. (Paris), 1939-1940, **5**, 916.
  47. CHAUSSINAND, R. — Prémunition relative antilepreuse par la vaccination au BCG. Premier Congrès International du BCG, pág. 66, 18-23 junho 1948, Institut Pasteur, Paris.
  48. COMSTOCK, G. W. — Leukaemia and BCG. A Controlled Trial Lancet, 1971, (Nov. 13) 1062.
  - 48-A. COMSTOCK, G. W. & PALMER, C. E. — Long-term Results of BCG Vaccination in the Southern United States. Amer. Rev. Res. Dis., 1966, **93**, 171.
  49. CROS-DECAM, J. — Sur la vaccination BCG par voie buccale. Rev. Tuberc. Pneumol. (Paris), 1961, **25**, 509.
  50. DAVIGNON, L. LEMONDE, P., ROBILLARD, P. et al. — BCG vaccination and leukaemia mortality. Lancet, 1970 (set. 26), 638.

51. DOMINGO, P. — Significación de la inmunidad en la vacunación antituberculosa por el BCG. *Rev. As. Med. Argentina*, 1947, **61**, 608.
52. DOMINGO, P. — Valeur de la voie gastrique dans la vaccination antituberculeuse par le BCG. Premier Congrès International du BCG, pág. 230, 18-23 junho 1948, Institut Pasteur, Paris.
53. DOMINGO, P. — Valor de la via gástrica en la vacunación antituberculosa con el BCG. La Habana, Cuba, 1950.
54. DOMINGO, P. — La valoración de la via gástrica en la vacunación antituberculosa con el BCG. *Rev. Cubana Tuberc.*, 1952.
55. DOMINGO, P. — La vacunación por via gástrica después del año 1930. *Rev. Cubana Tuberc.*, 1952, **16** (2).
56. DOMINGO, P., BALLESTERO, R. & HERNANDEZ PEREZ, J. M. — *Rev. Cubana Pediat.*, 1957, **29** (10), apud Assis, A. — Apon-tamentos sobre a vacinação BCG e sua ava-liação. *O Hospital*, 1960, **57**, 611.
57. DRABKINE, R. O. & SUKHODOLSKAYA, A. E. — *Zh. Mikrobiol. (Mosk.)* 1957, **28**, 78.
58. DRABKINE, R. O. & SUKHODOLSKAYA, A. E. — *Probl. Touberk*, 1958, **36**, 87.
59. EILBER, F., & MORTON, D. — Impaired immunologic reactivity and recurrence follow-ing cancer surgery. *Cancer*, 1970, **25**, 362.
60. FERNANDEZ, J. M. M. — Estudio compara-tivo de la reacción de Mitsuda con las reacciones tuberculínicas. *Rev. Argentina Dermatosifilologia*, 1939, **23**, 425.
61. FILLASTRE, C. — Sur la vaccination BCG par voie buccale. *Rev. Tuberc. Pneumol. (Pa-ris)*, 1961, **25**, 514.
62. FOURESTIER, M. — Sur la vaccination BCG par voie buccale. *Rev. Tuberc. Pneumol. (Paris)*, 1961, **25**, 492 e 510.
63. FOURESTIER, M. & BLACQUE-BELAIR, A. — Études sur l'allergie et l'immunité dans l'infection tuberculeuse. Vigot Frères Ed., 1957.
64. FOURESTIER, M. MARSAL, J., BLACQUE-BELAIR, A. et al. — la méthode de pré-munition et d'infection tuberculeuse la plus inoffensive, la plus pratique et la plus efficace: BCG iterative des nourrissons (im-prégnation orale) et BCG-test (cuti) systéma-tique annuel (micro-revaccination). *Sem. Hôp. Paris*, 1960, 12 janeiro, 84.
65. FRAPPIER, A., DAVIGNON, L., LEMONDE, P., et al. — Le BCG et la prevention de la leucemie chez l'animal et chez l'home. *Comunicação no 150º Aniversário da Acad. Nac. Med. Paris*, 1972 — abril 17.
66. FRIMODT-MÖLLER, J., THOMAS, J., & PARTHASARATHY, R. — Observation on the Protective Effect of BCG Vaccination in a South Indian Rural Population. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 1964, **30**, 545.
67. GALZERANO, G. — La vaccinazione antitu-bercolare per via orale con il BCG. *Arch. Tisiol.* 1954, **9**, 16.
68. GERNEZ-RIEUX, C., BRETON, A., TACQUET, A. et al. — Vaccination antituberculeuse par voie digestive chez les sujets allergiques. *Rev. Tuberc. (Paris)*, 1954, **18**, 677.
69. GERNEZ-RIEUX, C., GERVOIS, M. & MISTRI, R. — Résultats éloignés des premières vaccinations antituberculeuses (BCG) d'Albert Calmette effectuées à Roubaix, de 1925 a 1934. *Ann. Inst. Pasteur, Lille*, 1958-59, **10**, 89.
70. GERNEZ-RIEU, C., PIAT, G., TACQUET, A. et al. — Innocuité de la vaccination anti-tuberculeuse par voie digestive à doses massives répétées chez les adultes tuber-culeux et non tuberculeux. Devenir du BCG chez ces sujets. *Ann. Inst. Pasteur, Lille*, 1952-1953, **5**, 1.
71. GINÉS, A. R. & POLETTI, J. G. — La reac-ción de Mitsuda en los vacunados con BCG. *Hoja Tisiol.*, 1945, **5**, 284.
72. GUEDES-PEREIRA, W., GARCIA, A. R., FRANCA, J. L. M. et al. — Tuberculose domiciliar e vacinação BCG. *O Hospital*, 1948, **34**, 1, 203, 357, 495, 737 e 871.

73. HALPERN, B. — O sistema retículo-endotelial e a imunidade. Triângulo, 1966, **81**, 174.
74. HALPERN, B. N., BIOZZI, G. STIFFEL, C. et al. — Effect of the stimulation du système réticulo-endothélial par l'innoculation des Bacilles de Calmette-Guérin sur le développement de l'épithélioma atypique T-8 de Guérin chez le rat. C. R. Soc. Biol. (Paris), 1959, **153**, 919.
75. HART, P. D'ARCY & SUTHERLAND, I. apud SUTHERLAND, I. — Efficacité et durée de la protection conférée par le vaccin BCG. Les Cahiers Internationaux de la Tuberculose (3), Tuberculose, 1967 (20).
76. HELLSTRÖM, K. E. & HELLSTRÖM, I. — Cellular Immunity Against Tumor Antigens. Advances in Cancer Research, 1969, **12**, 167.
77. HEMS, G. & STUART, A. — BCG and Leukaemia. Lancet 1971, (jan. 23), 183.
78. HERRENSCHMIDT, J. L. — Sur la vaccination BCG par voie buccale. Rev. Tuberc. Pneumol. (Paris), 1961, **25**, 515.
79. HIGGINBOTHAM, M. W. — A study of heteroallergic reactivity of tuberculin-desensitized tuberculous guinea-pigs. Am. Journ. Hyg., 1937, **26**, 197.
80. HILSCHER, W. & GHENO, E. — BCG por via oral em comparação com a via intracutânea. Arq. IBIT, 1959, **18**, 105.
81. HOWARD, J. G., BIOZZI, G., N. et al. — The effect of Mycobacterium Tuberculosis (BCG) Infection on the Resistance of Mice to Bacterial Endotoxin and Salmonella Enteritis Infection. Brit. Journ. Exp. Path. 1959, **40**, 281.
82. KAGRAMANOV, A. I. — Rozhl. Tuberk., 1957, **37**, 253.
83. KAGRAMANOV, A. I. & MARKEVITCH, N. M. — Probl. Tuberk, 1938, **36**, 80.
84. KINLEN, L. J. & PIKE, M. C. — BCG Vaccination and Leukaemia. Evidence of Vital Statistics. Lancet 1971, (agosto 21) 328.
85. KRAUS, E. & DVORAK, J. — Allergie e immunité des nourrissons vaccinés par des doses massives de BCG per os, selon la technique brésilienne. Bull. du BCG, 1954, **5**, (17-18), 127.
86. KREIS, B. — Sur la vaccination BCG par voie buccale. Rev. Tuberc. Pneumol. (Paris), 1961, **25**, 517.
87. LAMENSANS, A., MOLLIER, M. F., LAURENT, M. — Action du BCG sur l'activité catalasique hépatique chez la souris. Relations avec le système réticuloendothélial et la résistance à la leucose greffé AKR. Rev. Franç. Etud. Clin. Biol. 1968, **13**, 871.
88. LE HIR, M. — Sur la vaccination BCG par voie buccale. Rev. Tuberc. Pneumol. (Paris), 1961, **25**, 515.
89. LE HIR, M. — Sur la vaccination BCG par voie buccale. Rev. Tuberc. Pneumol. (Paris), 1961, **25**, 521.
90. LEMONDE, P. & CLODE, M. — Effect of BCG on Leukaemia and Polyoma in Mice and Hamster. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1962, **111**, 739.
91. LEMONDE, P., DUBREIL, R. GUINDON, A., et al. — Stimulating Influence of Bacillus Calmette-Guérin on Immunity to Polyoma Tumors and Spontaneous Leukemia. Journ. Nat. Cancer Inst., 1971, **47**, 1013.
92. LINDGREN, I. — The pathology of tuberculous infection in BCG vaccinated humans. Adv. Tuberc. Res., 1965, **14**, 202.
93. LURIE, M. — Studies on the mechanism of immunity in tuberculosis. The fate of tubercle bacilli ingested by mononuclear phagocyte derived from normal and immunized animals. Journ. Exp. Med. 1942, **75**, 247.
94. LY-THANH-DANG, BENOIT, J. C., PANISSET, M. et al. — Survie et multiplication du BCG et du bacille tuberculeux chez la souris. III — Comparaison des souches-filles brésilienne, canadienne, danoise, française, japonaise et russe. Acta Tuberc. Pneumol., Scand., 1963, **43**, 113.
95. MANDE, R. & HUET, R. — Premiers essais de vaccination par le BCG selon la mé-

- thode dite "bresilienne". Arch. Franç. Pédiat. 1954, **11**, 301. Resumo "O Hospital", 1954, **46** (4).
96. MANDE, R., HUET, A., HERAULT, A. et al. — Effets de l'administration buccale de doses massives et répétées de BCG sur les réactions tuberculiques d'enfants antérieurement allergiques. Arch. Franç. Pédiat. 1954, **11**, 296.
97. MATHÉ, G., AMIEL, J. L., SCHWARZENBERG, L. et al. — Demonstration de l'efficacité de l'immunothérapie active dans la leucémie aiguë lymphoblastique humaine. Re. Franç. Etudes Clin. et Biol. 1968, **13**, 454.
98. MATHÉ, G., AMIEL, J. L., SCHWARZENBERG, L. et al. — Active immunotherapy for acute lymphoblastic leukemia. Lancet, 1969, **1**, 697.
99. MATHÉ, G., AMIEL, J. L., SCHARZENBERG, L. et al. — Preliminary of a new protocol for the active immunotherapy of acute lymphoblastic leukemia: inhibition of the immunotherapeutic effect by vincristine or adamantadine. Rev. Europ. Etudes Clin. e Biol., 1971, **16**, 216.
100. MATHÉ, G. & LAPEYRAQUE, F. — Immunothérapie active de la leucémie L1210 appliquée après la greffe tumorale. Rev. Franç. Etudes Clin. & Biol., 1968, **13**, 881.
101. MATHÉ, G. POUILLART P. & LAPEYRAQUE, F. — Active immunotherapy of L1210 Leukemia applied after the graft of tumor cells. Brit. Journ. Cancer 1969, **23**, 814.
102. MATHÉ, G., SCHWARZENBERG, L., AMIEL, J. L. et al. — Traitement de la leucémie argüe lymphoblastique pendent une rémission par l'irradiation du système nerveux central et l'administration successive de cures de huit composés chimiothérapeutiques. Sem. Hôp. Paris, 1966, **42**, 2960.
103. Medical Research Council. Tuberculosis Vaccines Trials Committee. HART, P. D'ARCY, CHARLES, J. CRUICKSHANK, R. et al. — BCG and Vole Bacillus vaccines in the prevention of tuberculosis in adolescents. First Report. Brit. Med. J., 1956, 25 feveerei-ro, 413; Second Report 1959, 12 setembro, 379; Third Report, 1963, 13 abril, 973.
104. Medical Research Council — Treatment of Acute Lymphoblastic Leukaemia. Comparison of Immunotherapy (BCG), Intermitent Methotrexate, and no therapy after a Five-month Intensive Cytotoxic Regimen (Concord Trial). Brit. Med. Journ. 1971, **4**, 189.
105. MORTON, D. L., EILBER, R., MALMGREN, R. A. et al. — Immunological factors which influence response to immunotherapy in malignant melanoma. Surgery, 1970, **68**, 158.
106. MUROHASHI, T., SEKI, M. & TAKAHASHI, H. — Oral inoculation of BCG into guinea pigs. Kekkaku, **33**, 176 (March 1958) apud Am. Rev. Tuberc., 78, Abstracts 76 (September 1958).
107. NATHANSON, L. — Experience with BCG in malignant melanoma. Proc. Amer. Ass. Cancer Research, 1971, **12**, 99.
108. NÈGRE, L. — La vaccination antituberculeuse par le bacille de Calmette et Guérin (BCG). Biol. Med. Paris, 1951, **40**, 141.
109. NÈGRE, L., BRETEY, J. & ROY, D. — Étude de l'allergie à la tuberculine et de l'infra-allergie aux corps bacillaires dans leurs rapports avec la résistance antituberculeuse chez des cobayes vaccinés par ingestion de grosses doses de BCG. Ann. Inst. Pasteur, 1960, **98**, 1.
- 109-A. PANISSET, M. — Considérations sur l'évaluation du pouvoir immunisant du BCG. Bull. Un. Int. Tuberc. 1968, **41**, 31.
110. OLD, L. J., BENACERRAF, B., CLARKE, D. A. et al. — The role of the Reticuloendothelial System in the Host Reaction to Neoplasia. Cancer Research, 1961, **21**, 1282.
111. OLD, J. L., & CLARKE, D. A. — Effect of Bacillus Calmette-Guérin Infection on transplanted tumors in the Mouse. Nature, 1959, **184**, 291.
112. OLD, J. L., CLARKE, D. A. & BENACERRAF, B. — Mengo Virus Infection in Bacillus Calmette-Guérin or Zymosan Treated Mice. Federation Proceedings, 1960, **19**, 208.

113. Old, J. L., CLARKE, D. A., BENACERRAF, B. et al. — The Reticuloendothelial system and the neoplastic process. *Ann. N. Y. Acad. Scien.* 1960, **88**, 264.
114. PALMER, C. E., SHAW, L. W., & COMSTOCK, G. W. — Community trials of BCG Vaccination. *Am. Rev. Tub. Pulm. Dis.*, 1958, **77**, 877.
115. PARROT, L., CATANEI, A. & LAVERDANT, CH. — Sur un essai de vaccination antituberculeuse itérative. *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, 1958, **36**, 297.
116. PASQUIER, J. F. & KURYLOWICZ, W. — Étude comparative de différents vaccins BCG au moyen de bacilles tuberculeux bovins et humains marqués avec du carbone 14 ( $^{14}\text{CH}_3\text{CO}_2\text{NA}$ ). *Rev. Immunol.*, 1956, **20**, 139.
117. PEARMAIN, G., LYCETTE, R. R. & FITZGERALD, P. H. — Tuberculin-induced mitosis in peripheral leukocytes. *Lancet*, 1963, **1**, 637.
118. PEREIRA, P. C. R., SALOMÃO, A., MARIANO, J. et al. — Da reversibilidade da lepromino-reação. *Arq. Mineiros Leprol.*, 1952, **12**, 32.
119. PEREIRA FILHO, A. C. — Aplicação do BCG em preventórios. VI Congresso Internacional de Leprologia, pág. 151, 1953, Madri.
120. PIERCE, C. H. & DUBOS, R. J. — Differential characteristics in vitro and in vivo of several substrains of BCG. II. Morphologic characteristics in vitro and in vivo. *Am. Rev. Tuberc. Pulm. Dis.*, 1956, **74**, 667.
121. ROSEMBERG, J. — Posição da vacina BCG na profilaxia da tuberculose. *Rev. Bras. Tuberc.*, 1945, **14**, 121.
122. ROSEMBERG, J. — Contribuição ao estudo da alergia infratuberculínica. *Gráficas do Jornal do Brasil*, 1946.
123. ROSEMBERG, J. — A vacinação BCG em alérgicos. *O Hospital*, 1949, **35**, 11.
124. ROSEMBERG, J. — Resultados da vacinação BCG no Brasil. (Resultados da calmetização de alérgicos). *Rev. Bras. Tuberc.*, 1949, **17**, 331.
125. ROSEMBERG, J. — La vaccination par le BCG chez les sujets allergiques. *Rev. Tuberc. (Paris)*, 1950, **14**, 490.
126. ROSEMBERG, J. — Present status of the oral BCG vaccination. *O Hospital*, 1952, **42**, 15.
127. ROSEMBERG, J. — Immunity in tuberculosis. XII Conférence de l'Union Internationale contre la Tuberculose, pág. 48, 24-27 agosto 1952, Rio de Janeiro.
128. ROSEMBERG, J. — Vacinação BCG no Brasil. Memória del Primer Congreso Interamericano de Higiene, pág. 517, 26 setembro — 1º outubro, 1952. Havana.
129. ROSEMBERG, J. — Die orale BCG — Impfung beim Menschen (pág. 160). GRIESBACH, R. — Die BCG — Schutzimpfung. Georg Thieme, Stuttgart, 1954 e La vaccination par le BCG buccal chez l'homme (pág. 167).
130. ROSEMBERG, J. apud ASSIS, A. — The oral application of BCG. *Adv. Tuberc. Res.*, pág. 112, 8, S. Karger, Basel, 1957.
131. ROSEMBERG, J. — Considerações sobre o BCG liofilizado. Novas perspectivas para a vacinação indiscriminada nos programas de saúde pública. *O Hospital*, 1965, **67**, 215.
132. ROSEMBERG, J., AMARAL, J. C. & SANTOS, M. S. — Administração de BCG oral em doses intensivas a adultos portadores de tuberculose pulmonar. *Rev. Bras. Tuberc.*, 1954, **22**, 211.
133. ROSEMBERG, J., AUN, J. N. & MACARRON, B. — Evolução da alergia segundo os esquemas da orovacinação BCG. *Clínica Tisiol.*, 1951, **6**, 125.
134. ROSEMBERG, J. & MACARRON, B. — Revacinação do tipo concorrente em alérgicos antigos vacinados com BCG. *O Hospital*, 1951, **39**, 641.
135. ROSEMBERG, J., ROCHA PASSOS Fº, M. C. & AUN, J. N. — O moderno dispensário antituberculoso. *Soc. Brasileira Expansão Comercial Ltda.*, São Paulo, 1954.
136. ROSEMBERG, J., SOUZA CAMPOS, N. & AUN, J. N. — Da relação imunobiológica

- entre tuberculose e lepra. I. — Ação positiva do BCG sobre a lepromino-reação. *Rev. Bras. Leprol.*, 1950, **18**, 3.
137. ROSEMBERG, J. SOUZA CAMPOS, N. & AUN, J. N. — Da relação imunobiológica entre tuberculose e lepra. III — A lepromino-reação em crianças de descendência não leprosa vacinadas com BCG por via oral. Dissociação entre alergia tuberculínica e reação de Mitsuda. *Rev. Bras. Leprol.* 1950, **18**, 129.
138. ROSEMBERG, J., SOUZA CAMPOS, N. & AUN, J. N. — Da relação imunobiológica entre tuberculose e lepra. IV — A lepromino-reação em crianças vacinadas um ano antes com BCG, descendentes de doentes de lepra. Dissociação entre alergia tuberculínica e reação de Mitsuda. *Rev. Bras. Leprol.*, 1951, **19**, 8.
139. ROSEMBERG, J., SOUZA CAMPOS, N. & AUN, J. N. — Da relação imunobiológica entre tuberculose e lepra. V. — Tempo de positividade da reação de Mitsuda após a introdução simultânea de BCG por via oral e da lepromina por via intradérmica. *Rev. Bras. Leprol.*, 1951, **19**, 19.
140. ROSEMBERG, J., SOUZA CAMPOS, N. & AUN, J. N. — Da relação imunobiológica entre tuberculose e lepra. VI. — Inversão da reação de Mitsuda com BCG oral em indivíduos reiteradamente negativos à lepromina durante vários anos. *Rev. Bras. Leprol.*, 1952, **20**, 67.
141. ROSEMBERG, J. SOUZA CAMPOS, N. & AUN, J. N. — Da relação imunobiológica entre tuberculose e lepra. VII. — Influência do BCG oral sobre a reação de Mitsuda em indivíduos previamente positivos à lepromina. *Rev. Bras. Leprol.*, 1952, **20**, 75.
142. ROSEMBERG, J., SOUZA CAMPOS, N. & AUN, J. N. — Da relação imunobiológica entre tuberculose e lepra. VIII. — Positivização remota do Mitsuda por efeito da vacinação BCG oral. *Rev. Bras. Leprol.*, 1952, **20**, 84.
143. ROSEMBERG, J. & ROCHA PASSOS FILHO, M. C. — Vacinação BCG pela técnica oral. *O Hospital*, 1970, **78**, 89.
144. ROSEMBERG, J., SOUZA CAMPOS, N. & AUN, J. N. — Reação de Mitsuda induzida por efeito de esquemas de vacinação oral e pela técnica de multipuncturas de Rosenthal. *Rev. Bras. Leprol.*, 1952, **20**, 183.
145. ROSEMBERG, J. SOUZA CAMPOS, N., AUN, J. N. et al. — Immunobiologic relation between tuberculosis and leprosy. X. — Comparative study of the results of the lepromin test in subjects submitted to serial injections of Mitsuda's antigen and to oral BCG vaccination. *Intern. Journ. Leprosy*, 1960, **28**, 271 e da relação imunobiológica entre tuberculose e lepra. X. — Estudo comparativo dos resultados da lepromino-reação em indivíduos submetidos a injeções seriadas do antígeno de Mitsuda, a curto prazo, e vacinados com BCG oral. *Rev. Bras. Leprol.* 1961, **29**, 67.
146. ROSENTHAL, S. R. — BCG in Cancer and Leukemia. *Bull. Inst. Pasteur*, 1972, **70**, 29.
147. ROSENTHAL, S. R., LOEWINSHON, E., GRAHAM, M. L. et al. — BCG Vaccination Against Tuberculosis in Chicago. A twenty-year Study Statistically Analysed. *Pediatrics* 1969, **28**, 622.
148. ROTHSCCHILD, H. FRIEDENWALD, J. S. & BERNSTEIN, C. — The relation of allergy to immunity in tuberculosis. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 1934, **54**, 232.
149. SAENZ, A., DEINSE, F. VAN, & SAYÉ, L. — État actuel de la vaccination par le BCG et les problèmes qui se posent du point de vue bacteriologique et clinique. *Bull. Un. Int. Tuberc.*, 1954, **24**, 68.
150. SALOMÃO, A. & FERREIRA, D. L. — Influência favorável do BCG na evidenciação da reação de Mitsuda em crianças abaixo de 3 anos de idade, na Pupileira Ernani Agrícola. *Anais do X Congresso Brasileiro de Higiene*, pág. 755, 1953, Belo Horizonte.
151. SAYÉ, L. — Vaccination antituberculeuse avec le BCG à Barcelone. Faits observés de 1924 à 1931. In *Vaccination préventive de la tuberculose de l'homme et des animaux par le BCG*, pág. 126, Institut Pasteur, Masson & Cie, Paris, 1932.

152. SAYÉ, L. — Doctrina y práctica de la profilaxis de la tuberculosis. Ed. Sudamericana S.A., Buenos Aires, 1940.
153. SAYÉ, L. — Résultats obtenus avec le BCG et l'évolution des techniques de son application. Premier Congrès International du BCG, pág. 125, 18-23 junho 1948. Institut Pasteur, Paris.
- 153-A. SAYÉ, L. — Significación de los resultados obtenidos con el BCG en especial en un grupo de vacunados al nacer de 14 a 23 años de edad. La patologia tuberculosa atípica del vacunado. Segundo Congreso Argentino de Tisiología, pág. 180, 28-30 novembro 1949, Alta Gracia, Córdoba, Argentina.
154. SAYÉ, L. — Résultats éloignés obtenus avec le BCG. Rev. Tuberc. (Paris), 1951, **15**, 1188.
155. SAYÉ, L. — Contribution à l'étude de la réaction de réinfection et de la sensibilité à la tuberculine chez des enfants vaccinés avec le BCG seg par voie digestive. Presse Méd., 1953, **61**, 524.
156. SAYÉ, L. — Symposium sur la vaccination au BCG par voie buccale, 20 setembro 1957, Paris, Bull. Un. Int. Tuberc., 1958, **28**, 94.
157. SAYÉ, L. & CRESPO, I. S. — Resultados lejanos obtenidos con el BCG por vía digestiva con la técnica original de Calmette-Guérin. Su significación. La vacunación intensiva. El Tórax, 1952, **1**, 175.
158. SCHIAPPACASSE FERRETTI, E. — Resultado de la investigación de la alergia en la vacunación BCG por vía oral en dosis alta. Tese. Facultad de Biología y Ciencias Médicas, Universidad de Concepción, Chile, 1950-1951 (120), 11. Resumo "O Hospital", 1952, **41** (2).
159. SÉNECAL, J. — Sur la vaccination BCG par voie buccale. Rev. Tuberc. Pneumol. (Paris), 1961, **25**, 512.
160. SILVEIRA, J. — La vaccination antituberculeuse par voie buccale. Med. Hyg., 1962, **20**, 983.
161. SILVEIRA, J. & MEDEIROS, S. — O BCG nos alérgicos. Arq. IBIT, 1948, **7**, 57.
162. SOKAL, J. & AUNGST, W. — Response to BCG vaccination and survival in advanced Hodgkin's disease. Cancer, 1969, **24**, 128.
163. SOUZA CAMPOS, N., LESER, W., BECHELLI, L. M. et al. — Viragem da lepromino-reação em função de diferentes estímulos. Influência da idade nessa viragem, no grupo etário de 6 a 43 meses. Rev. Bras. Leprol., 1962, **29**, 3.
- 163-A. SPARROW, H., CARUANA, M. & CARRÉ, G. — Un an de vaccination antituberculeuse des enfants du premier âge par la "Methode Brésilienne." C. R. des Deuxièmes Journées de Pédiatrie, Tunis, 24-25 abril, 1954.
164. STEWART, T. H. M. — The presence of delayed hypersensitivity reactions in patients toward cellular extracts of their malignant tumors. 1 — The role of tissue antigen, non specific reactions of nuclear material, and bacterial antigen as a cause for this phenomenon. Cancer, 1969, **23**, 1368.
165. STEWART, A. & DRAPER, G. — BCG vaccination and leukaemia mortality. Lancet 1971, (abril 17) 799.
166. SUTHERLAND, I. — Efficacité et durée de la protection conférée par le vaccin BCG. Les Cahiers Internationaux de la Tuberculose (3), Tuberculose, 1967.
167. USTVEDT, H. J. — BCG vaccination by mouth. JAMA, 1951, 146 (212).
- 167-A. VILLASOR, R. — The clinical use of BCG vaccine in stimulating host resistance to cancer. Philipp. Med. Ass., 1965, **41**, 619.
168. WAALER, H. T. — BCG and leukaemia mortality. Lancet, 1970, **2**, 1314.
169. WEISS, D. W., BONHAG, R. S. & LESLIE, P. — Studies on the heterologous immunogenicity of a methanol-insoluble fraction of attenuated tubercle bacilli (BCG). II — Protection against tumor isografts. Journ. Exp. Med., 1966, **124**, 1039.
170. WEISS, D. W., BONHAG, R. S. & PARKS, J. A. — Studies on the heterologous immunogenicity of a methanol-insoluble fraction of attenuated tubercle bacilli (BCG).

- I — Antimicrobial Protection. Journ. Exp. Med., 1964, **53**, 119.
171. WILLIS, H. S. — The waning of cutaneous hypersensitiveness to tuberculin and the relation of tuberculoimmunity to tuberculoallergy. Am. Rev. Tuberc., 1928, **17**, 240.
172. WILSON, G. S., SCHWABÄCHER, H. & MAIER, I. — The effect of desensitization of tuberculous guinea-pigs. Journ. Path. Bact., 1940, **50**, 89.
173. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Groupe Scientifique de Recherches sur la Tuberculose. Rapport au Directeur Général, 22-28, maio, 1960.
174. WHO/BS/69, 956, pág. 2.
175. ZAPASNIK-KOBIERSKA, H. & STOPNICKA, M. — Comparaison des résultats obtenus par des vaccins BCG lyophilisés préparés avec différentes souches. Rev. Tuberc. (Paris), 1956, **20**, 990.
176. ZAPASNIK-KOBIERSKA, H. — Résultats de la vaccination des nouveaux-nés par le BCG avec la sous-souche brésilienne en Pologne. Arq. IBIT, 1962, **21**, 26.
177. ZEYLAND, J. & PIASECKA-ZEYLAND, E. — Sur la pénétration des bacilles à travers la paroi du tube digestif d'après les autopsies des enfants vaccinés au BCG par voie buccale. Ann. Inst. Pasteur. 1928, **42**, 61 e 1936, **56**, 46.
178. ZEYLAND, J. & PIASECKA-ZEYLAND, E. — Études de 50 autopsies d'enfants vaccinés au BCG et morts de maladies non tuberculeuses. Ann. Inst. Pasteur, 1929, **43**, 767.
179. ZEYLAND, J. & PIASECKA-ZEYLAND, E. — Imunidade antituberculosa produzida pela vacina BCG. Acta Paediat., 1940, **27**, 393, apud "O Hospital", 1942, **21** (1).
180. CALMETTE, A. & GUÉRIN, C. — Ann. Inst. Pasteur, 1906, **20**, 609.
181. CALMETTE, A., GUÉRIN, C. & BRETON, M. — Ann. Inst. Pasteur, 1907, **21**, 401.
182. CALMETTE, A., WELL-HALLÉ, B., SAENZ, A. et al. — Démonstration expérimentale du passage des bacilles-vaccins BCG à travers la muqueuse de l'intestin chez l'enfant et chez le sing. Bull. Acad. Med., 1933, **110**, 203.
183. FAIRLEY, G. H. & MATTHIAS, J. Q. — Brit. Med. Journ, 1960, **2**, 433.
184. HUGHES, L. E. & MACKAY, W. D. — Suppression of the Tuberculin Response in Malignant Diseases. Brit. Med. Journ, 1963, dez. **4**, 1346.
185. ISRAEL, L., MUGICA, J. & CHAHINIAN, P. — Prognosis of early bronchogenic carcinoma. Survival curves of 451 patients after resection of lung cancer in relation to the results of pre-operative tuberculin skin test. Biomedicine, 1973, **19**, 68.
186. KOSTITCH-JOKSITCH, S. — La lymphadénite mésentérique "Bécégique". Sem. Hôp. Paris, Ann. Pediat., 1955, **31**, 2213.
187. PASQUIER, J. F. — Sur la vaccination BCG par voie buccale. Rev. Tuberc. Pneumol. (Paris), 1961, **25**, 504.