

Influência do Congelamento Prévio da Solução de Tuberculina na Reatividade ao Teste Tuberculínico

Hisbello da Silva Campos

Médico do Centro de Referência
Prof. Hélio Fraga - FNS - MS.

Pulmão-RJ. Vol. 4 - nº 1; 15 a 21, 1994

Resumo

Este estudo teve como objetivo definir se o congelamento prévio da solução de tuberculina (PPD) interfere na resposta à prova tuberculínica. Utilizando-se tuberculinas previamente congeladas, uma ou mais vezes, e tuberculinas conservadas adequadamente, foram realizadas 340 provas tuberculínicas em 107 indivíduos. A análise de variância dos dados obtidos permitiu concluir que o congelamento prévio não interfere com o resultado da prova tuberculínica.

Palavras-chave: teste tuberculínico; congelamento da solução de tuberculina.

Summary

The objective of this study was to define whether previous freezing of the tuberculin solution (PPD) interfered with tuberculin testing. Using one or more times previously frozen and properly conserved tuberculin solutions, 340 tuberculin tests were made on 108 person. The variance analysis of the data allowed the conclusion that the previous PPD freezing doesn't interfere with the results of tuberculin testing.

Key-words: tuberculin skin test; freezing of tuberculin solution.

Introdução

Robert Koch, descobridor do bacilo da tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis* ou bacilo de Koch), tentando desenvolver um medicamento contra essa doença, produziu uma solução que denominou de **tuberculina** (1,2). Ela consistia num caldo de cultura do bacilo da tuberculose (BK), que Koch acreditava ser capaz de provocar reação do tecido doente. Entretanto, com a sua experimentação, observou que ela não tinha capacidade de curar a doença, porém podia identificar as pessoas infectadas pelo BK. Sua inoculação em pessoas que tiveram contato prévio com o bacilo provocava reação cutânea, chamada "**reação tuberculínica**". Atualmente, a prova tuberculínica é realizada, mais comumente, com a tuberculina PPD Rt23, derivado proteico purificado do bacilo tuberculoso.

A prova tuberculínica tem utilidade em inquéritos epidemiológicos, dimensionando a magnitude da infecção tuberculosa em populações e na investigação diagnóstica de casos individuais, sendo que diversas tuberculinas já foram utilizadas nesta prova. As técnicas de aplicação de tuberculina foram sofrendo diversas alterações com o objetivo de provocar apenas a reação no local da inoculação. Até chegar à técnica de injeção intradérmica proposta por Mantoux, a tuberculina foi aplicada pelo método percutâneo de Moro,

conjuntival de Calmette e intradérmica de Hamburger entre outras (3). No Brasil, sua aplicação é padronizada e supervisionada pela Coordenação de Pneumologia Sanitária, órgão do Ministério da Saúde responsável pela coordenação de todas as ações de controle da doença (4,5).

Às vezes, por problemas operacionais, a solução de tuberculina congela e surge a dúvida sobre sua validade. A resposta a esta questão é controversa. Enquanto alguns técnicos crêem que ela possa ser utilizada, baseados no fato de PPD Rt23 ser um derivado proteico e as proteínas não sofrerem desnaturação com o frio, outros, baseados na orientação da CNCT, desprezam os frascos congelados.

O presente estudo tem como finalidade tentar responder à esta questão.

Prova Tuberculínica

Atualmente, sabe-se que a reação tuberculínea é uma resposta imune, mediada por células, que não envolve anticorpos. A reação tuberculínica é um exemplo de reação de hipersensibilidade tardia, do tipo IV da classificação de Gell e Coombs. É importante lembrar que as respostas imune e de hipersensibilidade são dissociadas; apesar de ambas envolverem respostas imune mediadas por linfócitos T, são fenômenos distintos, desencadeados por diferentes antígenos do BK e mediados por linhagens diferentes de linfócitos (6,7).

A prova tuberculínica pode ser feita de diversas maneiras - por escarificação, percutânea, oftalmo-reação, intradermo-reação, "patch-test", multipunctura (Tine, Heaf, Monovac), quadripunctura, técnica de Craig, técnica de Trambusti. Diversas tuberculinas já foram utilizadas nesta prova: tuberculina OT (ou AT); Tuberculina TAF ("Tuberculin Albumose Frei"); Tuberculina PPD-S ("Purified Protein Derivative Standard")⁽⁸⁾ e a Tuberculina PPD ("Purified Protein Derivative"). Atualmente, esta última é a mais empregada.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) padronizou a prova tuberculínica em 1952 e o Brasil, em 1961⁽⁴⁾. Em nosso país, padronizou-se a tuberculina da partida Rt23, produzida pela *Statens Serum Institut* de Copenhagen, Dinamarca. A sigla Rt significa "*Renset tuberculin*" (tuberculina purificada). Como a tuberculina adere-se às paredes da vidraria que a envasa⁽⁹⁾, adiciona-se um detergente não-iônico (*Tween 80*) à solução para evitar perda de potência na reação. A tuberculina PPD Rt23-Tween 80 utilizada no Brasil é envasada em frascos pequenos (não maiores que 20 ml de capacidade), de cor âmbar (por ser sensível aos efeitos da luz solar e da radiação ultravioleta, que diminuem sua potência)^(10, 11), mantida em temperatura baixa (temperaturas acima de 20°C também reduzem sua potência) e utilizada num prazo não superior a 6 meses após diluída/envasada. É aplicada pela técnica intradérmica, proposta por Mantoux, em 1908. A prova tuberculínica consiste na injeção intradérmica de 0,1 ml da solução, que contém 2 UT (unidade tuberculínica), preferencialmente no terço médico de face anterior do an-

tebraço. A leitura do teste é feita 72 a 96 horas após a injeção, utilizando-se régua milimetrada e transparente. Por palpação, delimitam-se os bordos da região endurecida (desprezando-se a área de eritema) e mede-se o maior diâmetro transversal^(12, 13).

Baseado no tamanho da medida, os indivíduos testados são classificados em⁽¹⁴⁻¹⁶⁾:

a) **não-reator (0 - 4mm)** - pode ocorrer nos não infectados, anérgicos, nos infectados pelo BK ou vacinados com BCGid há longa data e que perderam a memória linfocitária, ou ainda nos infectados por outras micobactérias.

b) **reator fraco (5 - 9mm)** - pode ocorrer nos infectados pelo BK há longo espaço de tempo, nos vacinados com BCGid e nos infectados por outras micobactérias.

c) **reator forte (10mm ou mais)** - indica infecção pelo BK, podendo ainda ocorrer nos vacinados com BCGid.

Pela classificação acima, fica evidente que a prova tuberculínica oferece algumas restrições no diagnóstico individual de tuberculose. A reação forte à prova não significa, necessariamente, doença; exprime apenas contato com o BK^(6, 14-16). Por outro lado, alguns fatores podem provocar resultados falso-negativos. Primeiramente, a hipersensibilidade cutânea manifesta-se apenas cerca de 2 a 10 semanas após a infecção tuberculosa. Isto posto, quanto realizada neste período, pode ser negativa e o indivíduo testado estar em processo de adoecimento. Técnicas defeituosas de aplicação da tuberculina; erros de leitura da prova;

formas graves da doenças⁽¹⁷⁾; concomitância de doenças graves, toxêmicas, ou neoplásicas; sarcoidose algumas doenças virais e bacterianas (varicela, mononucleose infecciosa, escarlina, rubéola, p. ex); vacinação paralela com vírus mortos ou atenuados (pólio, sarampo, febre amarela) e emprego de medicação imunodepressora são exemplos de fatores que podem causar resultados falso-negativos na prova tuberculínica⁽¹⁸⁻²⁰⁾. Em investigações diagnósticas individuais, é de maior valor quando negativa, indicando a baixa probabilidade de a pessoa em questão ser um tuberculoso. Já em inquérito epidemiológico, objetivando dimensionar o **risco de infecção tuberculosa**- principal indicador epidemiológico da doença - pela sua simplicidade e baixo custo, torna-se um instrumento importante.

Estudos populacionais sobre a sensibilidade tuberculínica demonstraram que a frequência das reações têm distribuições distintas quando comparadas populações de doentes tuberculosos com populações gerais, não vacinadas com BCG. Entre os tuberculosos, a curva tem distribuição normal, enquanto no segundo caso, a distribuição é bimodal. Porém, a curva bimodal deixa de existir quanto a população estudada reside em áreas onde prevalência de outras micobactérias é elevada⁽³⁾.

* A padronização na produção, conservação e aplicação da tuberculina é fundamental, portanto, para a confiabilidade nos resultados da prova tuberculínica. Por isso, a OMS recomenda que haja produção e distribuição centralizadas da tuberculina em cada país e que existam enfermeiros de referência regionais na técnica de aplicação e leitura

da prova (3, 5, 10-12). Estes profissionais, aferidos periodicamente, servem como referência e atuam na formação de outros técnicos.

No Brasil, as normas de diagnóstico, tratamento, conservação e distribuição dos insumos, sistema de informação, na área do controle da tuberculose, orientam os técnicos das Unidades de Saúde (US) a conservarem adequadamente os frascos de PPD--Rt23 em refrigerador, a uma temperatura de $5 \pm 3^\circ\text{C}$ (que deve ser aferida periodicamente) (5, 12). Entretanto, por problemas operacionais diversos, o controle da temperatura no interior dos refrigeradores não é feito regularmente e, por vezes, descobre-se que a solução de tuberculina congelou. Nestas condições, surge a dúvida: "Pode-se usá-la assim mesmo?"

Casuística e Métodos

Este estudo foi realizado em 3 etapas, tendo iniciado em dezembro de 1989 e terminado em junho de 1990. No total, foram testados 107 pessoas e aplicadas 340 provas tuberculínicas.

Todas as aplicações e leituras das provas foram feitas pela mesma enfermeira de referência, em regime cego, isto é: no momento da aplicação, ela não sabia qual a tuberculina previamente congelada (PPD-C) e qual a conservada adequadamente (PPD-CA); no momento da leitura (72 horas após), ela também não sabia em qual local havia sido injetado o PPD-CA ou o PPD-C. As tuberculinas PPD-Rt23 usadas na primeira etapa haviam sido recém-diluídas e testadas no Instituto de Tisiologia e Pneumologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (ITP/UFRJ) que, até 1989, era o local

responsável pela diluição e distribuição do PPD em todo o país. A tuberculina usada nas demais etapas foram diluídas no Centro de Referência Prof. Hélio Fraga da Fundação Nacional de Saúde que, a partir de 1990, substituiu o ITP na atribuição de centro nacional de diluição e distribuição do PPD.

As tuberculinas empregadas - PPD-CA e PPD-C - em cada uma das etapas pertenciam sempre ao mesmo lote. Metade delas era adequadamente conservada em refrigerador (a temperatura era referida diariamente), e a outra metade era colocada no congelador. Na manhã de cada dia de teste, as soluções eram descongeladas em temperatura ambiente por uma das enfermeiras executoras do estudo. Esta enfermeira era a única que sabia quais frascos era de PPD-CA e quais era de PPD-C. Era ela também quem designava os locais de aplicação das provas tuberculínicas nos braços dos indivíduos testados, mediante sorteio prévio. Desta forma, tornou-se impossível que a enfermeira de referência, responsável pela injeção e leitura da prova, sofresse qualquer influência no momento da mensuração da área endurecida. Entre os indivíduos testados, havia pessoas saudáveis, doentes tuberculosos e portadores de outras patologias.

O objetivo inicial deste estudo foi o de verificar se o congelamento prévio da solução de tuberculina altera o tamanho da reação do PPD. Considerando a grande variabilidade individual das reações observadas, foi escolhido um esquema experimental, no qual cada indivíduo foi testado com as 2 tuberculinas (PPD-CA e PPD-C), o que permitiu remover aquela fonte de variação. Entre-

tanto, considerando ainda que as reações ao teste podem variar substancialmente de local para local de aplicação, decidiu-se parear as pessoas por local de aplicação (antebraço direito x antebraço esquerdo), optando-se por um esquema experimental clássico: blocos completos casualizados com 2 determinações por célula e o seguinte modelo linear para a análise de variância dos resultados:

$$X_{ijk} = \mu + \tau_j + \pi_i + \rho_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

no qual

X_{ijk} = reação do paciente i ao tratamento j ($j = 1 \rightarrow$ PPD-CA; $j = 2 \rightarrow$ PPD-C) no local K ($k = 1 \rightarrow$ braço direito; $k = 2 \rightarrow$ braço esquerdo).

μ = reação média geral.

τ_j = efeito do tratamento.

π_i = efeito atribuído ao paciente i .

ρ_{ij} = interação paciente i x tratamento j .

ε_{ijk} = erro associado à observação ijk .

O presente estudo desenvolveu-se em 3 etapas. Em cada uma delas, procurou-se investigar possíveis fontes de variância nos resultados. Na primeira, foram realizados 76 provas tuberculínicas em 38 pessoas; na segunda, 228 testes em 57 indivíduos e, na terceira, 36 provas em 12 pessoas.

A análise dos dados foi feita usando o método de análise de variância.

Resultados

Na primeira etapa de observações, foram testados 38 indivíduos 18 doentes tuberculosos e 20 recrutas do Exército com cicatriz vacinal pelo BCG. Cada um dos componen-

tes deste grupo foi submetido a 2 testes tuberculínicos simultâneos (PPD-CA e PPD-C), um em cada braço. As médias das provas tuberculínicas realizadas podem ser vistas na tabela 1. Para possibilitar a análise dos resultados, excluíram-se 8 casos que não apresentaram área de endurecimento em nenhum dos locais de injeção da tuberculina, não permitindo, portanto, estudar as diferenças entre elas.

Tabela 1
- Médias e desvios padrões dos testes tuberculínicos realizados empregando PPD-CA e PPD-C
1ª etapa - doentes tuberculosos e recrutas do Exército.

Tuberculina	Área endurecida (mm)	
	Média	Desvio padrão
CA	10,8	0,97
C	4,3	0,89

CA = Tuberculina conservada adequadamente; C = tuberculina congelada.

A simples inspeção da tabela 1 revela a diferença marcante entre as reações ao PPD-CA e ao PPD-C. A diferença entre os tamanhos médios das áreas de endurecimento - PPD-CA = 10,8 mm e PPD-C = 4,3 mm - é muito significativa.

A análise de variância dos resultados obtidos nesta primeira etapa confirma a diferença altamente significativa ($F = 76,00$) entre as reações obtidas com o PPD-CA e com o PPD-C, sugerindo que o congelamento prévio da solução de tuberculina interferiria com o resultado da prova tuberculínica.

Com o objetivo de confirmar estes resultados, a investigação continuou por mais 2 etapas. Na segunda, foram testadas 57 pessoas assim distribuídas: 30 doentes internados no Hospital Raphael de Paula e Souza (HRPS), 9 funcionários do Centro de Referência Prof. Hélio Fraga (CRPHF) e 18 recrutas do Exército. No primeiro grupo, havia portadores de tuberculose e de outras patologias. Novamente, para possibilitar a análise dos resultados, excluíram-se 11 indivíduos por apresentarem todas as medidas iguais a 0 (zero) mm. Cada pessoa do primeiro grupo foi submetida a 4 testes simultâneos: em cada braço foi aplicado em PPD-CA e um PPD-C. Com isto, objetivou-se anular a possível influência de um teste sobre o outro, o que poderia motivar as diferenças de leitura observadas na etapa anterior.

No segundo grupo (funcionários dos CRPHF), para anular a possível interferência da aplicação simultânea das diferentes soluções de tuberculina (PPD-CA e PPD-C), procedeu-se da seguinte maneira:

1) Em 2 indivíduos, aplicou-se o PPD-CA em primeiro lugar (1 injeção em cada braço, simultaneamente); 72 horas depois, após a leitura da prova, aplicou-se o PPD-C (1 injeção em cada braço, simultâneas), sendo o teste lido após 72 horas.

2) Em outras 2 pessoas, foi feito o inverso: primeiro aplicou-se o PPD-C e, após a leitura da prova, injetou-se o PPD-CA.

3) Num terceiro grupo (5 pessoas), foram feitas 4 provas tuberculínicas simultâneas (2 com PPD-CA e 2 com PPD-C).

No último grupo (18 recrutas do Exército), todos receberam 4 aplicações simultâneas de tuberculina (2 com PPD-CA e 2 com PPD-C).

Para a análise estatística dos dados obtidos na segunda etapa da investigação, foram utilizados os resultados dos testes em 40 indivíduos, cujas médias e respectivos desvios padrões estão apresentados na tabela 2. Os demais (17) não foram utilizados pelas razões já citadas na análise da primeira etapa. Nesta série, foram feitas 2 observações por célula, já que, em cada uma das 40 pessoas, foram aplicados 4 testes tuberculínicos.

Tabela 2
Médias e desvios padrões das provas tuberculínicas realizadas na 2ª etapa da investigação (N= 40)

Tuberculina / braço testado	Área de endurecimento (mm)	
	Média	Desvio padrão
CA - BD	9,98	4,29
- BE	10,6	5,25
C - BD	11,43	5,67
- BE	11,10	5,40

CA = Tuberculina conservada adequadamente; C = tuberculina congelada;

BD = braço direito; BE = braço esquerdo.

Diferentemente da tabela 1, à simples inspeção da tabela 2 é possível ver que as reações a ambos os PPD (PPD-CA e PPD-C) parecem equiparadas. A análise de variância confirma esta afirmativa: as diferenças entre as médias das reações ao PPD-CA e ao PPD-C são inexpressivas ($F = 2,22$)*.

*- Vale notar que o erro (que se confunde com a interação paciente x tratamento) é estatisticamente significativa ($F = 3,88$, sendo $F_{.05(39;80)} = 1,53$), o que confirma algo conhecido e relativamente trivial: que a reação ao PPD depende também do indivíduo no qual é aplicado.

Realizou-se, então, a terceira e última etapa da investigação, acrescentando-se uma nova interrogação ao estudo: **será que a repetição do processo de congelamento e descongelamento da solução de tuberculina pode interferir na reatividade ao teste? O que poderia explicar o ocorrido na primeira etapa e que não foi considerado na segunda?**

Nesta etapa, foi utilizado um terceiro frasco de tuberculina que havia sido congelado e descongelado por 3 vezes, em dias subsequentes, antes de ser usado (PPD-3C). Foram testados 12 indivíduos (recrutas do Exército), sendo que cada um submetido a 3 injeções simultâneas de tuberculina (PPD-CA, PPD-3C). As

diferenças entre as medidas estão apresentadas na tabela 3.

À simples observação, é fácil constatar que a maioria das diferenças observadas entre os resultados (PPD-CA x PPD-C X PPD-3C) ora são positivas (PPD-CA > PPD-C), ora negativas (PPD-CA < PPD-C), indicando que congelar uma ou mais vezes a solução de tuberculina não tende a reduzir ou aumentar o tamanho das reações, pelo menos de maneira visível.

Um teste de sinais confirma esta conclusão. Com efeito:

- para PPD-CA - PPD-C \Rightarrow n° de resultados positivos (X_1) = 7;
- para PPD-CA - PPD-3C \Rightarrow n° de resultados positivos (X_3) = 6;
- para PPD-C - PPD-3C \Rightarrow n° de resultados positivos (X_{13}) = 7;

Consultando as tabelas da distribuição binomial, temos, para $n = 12$:

$$P(X_1 \geq 7) 0,387$$

$$P(X_3 \geq 6) 0,613$$

$$P(X_{13} \geq 7) 0,387$$

Portanto, nestes 3 casos, como previsto, as probabilidades (0,387 e 0,613) de que as referidas amostras provêm de um universo em que o número de resultados positivos e negativos são idênticos indicam que esta hipótese não pode ser descartada, pelo menos a nível de 5%.

Discussão

Os resultados da prova tuberculínica derivam de fatores individuais (infecção pelo BK, por outras micobactérias, grau de hipersensibilidade, p. ex), da aplicação/leitura e da purificação/preparação da solução de tuberculina. Os fatores individuais já foram comentados anteriormente neste texto. As técnicas de purificação/preparação da solução, a partir da cepa mãe cultivada em Copenhagen, Dinamarca, são coordenadas e supervisionadas pelo Centro Panamericano de Zoonoses da OMS (CEPANZO), com rígido controle de qualidade (22). O controle da atividade biológica da tuberculina também é feito através de protocolo do CEPANZO, que realiza estudos periódicos sobre o controle da qualidade da tuberculina PPD diluída nos laboratórios regionais da América latina (Argentina, Brasil, Colômbia, Equador, República Dominicana, Paraguai e Uruguai). Pesquisas sobre a influência das técnicas de estocagem e de aplicação da solução na reação à prova tuberculínica definiram o prazo máximo de conservação (6 meses), a faixa de temperatura ideal para conservá-la ($5 \pm 3^\circ\text{C}$) e as normas de aplicação e de leitura da prova (10,11, 14, 22).

Durante décadas, o Brasil adotou a recomendação verbal para que os frascos de tuberculina que sofressem congelamento fossem desprezados. Entretanto, a extensa revisão bibliográfica realizada não revelou qualquer fundamento técnico para

Tabela 3 - Leitura da prova tuberculínica realizada em 12 indivíduos, utilizando-se o PPD-CA, PPD-C e PPD-3C. Diferenças entre as medidas.

N	PPD-CA (mm)	PPD-C (mm)	PPD-3C (mm)	CA-C (mm)	CA-3C (mm)	C-3C (mm)
1	11	9	13	2	-2	-4
2	11	12	9	-1	2	3
3	12	11	16	1	-4	-5
4	3	0	2	3	1	-2
5	5	4	6	1	-1	-2
6	0	0	0	0	0	0
7	16	17	14	-1	2	3
8	3	10	11	-7	-8	-1
9	14	15	15	-1	-1	0
10	14	16	15	-2	-1	1
11	15	14	10	1	5	4
12	11	10	8	1	3	2

tal orientação, e a análise dos resultados obtidos no presente estudo não demonstrou qualquer restrição ao uso da solução de tuberculina previamente congelada. Dr. H. G. ten Dam, na Unidade de Tuberculose da OMS, informado sobre os resultados obtidos neste estudo, e consultado sobre as bases técnicas de tal recomendação, respondeu, em comunicação pessoal, desconhecendo a orientação referida, dizendo que a orientação da OMS sobre a conservação da solução de tuberculina dizia apenas que "... deveria ser mantida em refrigerador, na temperatura de $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$, e que isso não necessariamente implicava que o congelamento deveria ser evitado. "Já a dra Kantor, responsável pela preparação e controle de qualidade da tuberculina empregada nas Américas, a quem foi feita a mesma consulta, apesar de não citar referência bibliográfica que suportassem a susposta recomendação, também em comunicação pessoal, disse ser de opinião que as soluções de tuberculina previamente congeladas deveriam ser desprezadas, já que este fato poderia ocasionar rápida queda da atividade biológica da solução, interferindo na reatividade à prova tuberculínica.

O fato observado na primeira etapa deste estudo - menor reatividade com a tuberculina congelada - não se repetiu nas posteriores. Os frascos de tuberculina previamente congelados empregados naquela etapa pertenciam ao mesmo lote dos frascos controles, porém estavam armazenados em locais diferentes. Os do grupo controle estavam estocados no refrigerador no Laboratório de Bacteriologia do Centro de Referência Prof. Hélio Fraga, onde a temperatura é periódica e regularmente controlada. Os frascos previamente

congelados, por sua vez, estavam guardados na geladeira do Hospital Raphael de Paula Souza, onde o controle da temperatura não era rigoroso. Como estes frascos iriam ser utilizados num inquérito tuberculínico entre recrutas do Exército, e a interrogação sobre a validade dos testes tuberculínicos realizados com soluções previamente congeladas era tema de discussão há algum tempo, aproveitou-se a oportunidade para dar início à investigação para solucionar a questão.

Conforme apresentado nos resultados, houve diferença significativa entre as reações observadas com os dois grupos de tuberculina (CA e C) na primeira etapa. As etapas subsequentes do estudo objetivaram, inicialmente, confirmar as observações anteriores e, posteriormente, avaliar possíveis explicações para a discrepância entre os resultados das duas primeiras etapas. Os resultados nelas obtidos, entretanto, não repetiram o observado na primeira etapa. Infelizmente, não há como investigar as possíveis hipóteses que justificariam o ocorrido na primeira fase já que aqueles frascos de tuberculina guardados no Hospital Raphael de Paula Souza não mais existem.

O presente estudo utilizou tuberculinas diluídas no laboratório responsável pela diluição/distribuição do PPD no Brasil e foi desenhado de maneira adequada à solução das dúvidas em questão (2ª e 3ª etapas). Nelas, ficou evidente que o congelamento da solução de tuberculina, mesmo que repetido, não parece influenciar, de forma significativa, na reatividade da prova tuberculínica. Os resultados obtidos neste estudo e a não localização de trabalhos equi-

valentes que indiquem conclusões opostas, não permitem discussão mais extensa sobre o tema.

Conclusão

O presente estudo demonstrou que o congelamento prévio da solução de tuberculina, mesmo que repetido, não interfere de maneira significativa na reatividade da prova tuberculínica. A análise retrospectiva da observação feita na primeira etapa do estudo, na qual os resultados destoam dos subsequentes, não permitiu explicar a razão da divergência dos resultados. Entretanto, deve-se ressaltar que a conclusão acima fundamenta-se na correta metodologia empregada na investigação e na análise dos resultados.

Assim, se os frascos de tuberculina armazenados nas US forem acidentalmente congelados, não precisam ser desprezados, e os resultados das provas tuberculínicas com eles realizadas são válidos.

Agradecimentos

Agradeço às enfermeiras de referência Edna Akerman Macedo e Maria Dalva Dantas, do Centro de Referência Prof. Hélio Fraga (FNS/MS), que participaram deste estudo realizando todas as provas tuberculínicas; ao dr Jacques Noel Manceau, ex--chefe da Unidade de Estatística Metodológica da Organização Mundial da Saúde, responsável pelo cálculo estatístico empregado neste estudo, que possibilitou suas conclusões; aos funcionários do Centro de Referência Prof. Hélio Fraga, aos pacientes do Hospital Raphael de Paula Souza e aos recrutas do Exército que se dispuseram a ser testados com as tuberculinas, possibilitando a realização deste estudo; à dra Isabel N de Kantor, do CEPANZO,

pela valiosa colaboração, fornecendo artigos sobre o assunto discutido e expressando sua opinião; ao dr H G ten Dam, por seu auxílio, respondendo às minhas questões; à minha esposa, Maria Beatriz, pela revisão gramatical deste texto.

Referências Bibliográficas

- 1) Koch R. Uber bacteriologish: forschung. Dtsch Med Wochenschr 1890; 16:756 (translated in Lancet 1980; 2:673).
- 2) Koch R. Fortsetzung der mitteilungen uber ein heilmittel gegen tuberculose, Dtsch Med Wochenshr 1891; 17: 101 (translated in Lancet 1891; 1:168).
- 3) Ruffino-Neto A. Prova tuberculínica. Res. ASS Med Bras 1979; 25 (7): 257-259.
- 4) Comissão Técnica da Campanha Nacional Contra a Tuberculose. Prova tuberculínica em Saúde Pública (2ª recomendação). Rev. Serv. Nac Tuberc 1968; 12:219-230.
- 5) Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria Nacional de Programas Especiais de Saúde, Divisão Nacional de Pneumologia Sanitária, Programa Nacional de Controle de Tuberculose. Manual de Normas para o Controle de Tuberculose. 2 ed. rev., Brasília, Centro de Documentação do Ministério da Saúde, 24 p., 1984.
- 6) Patterson RJ, Youmans GP. Demonstration in tissue culture of lymphocyte mediated immunity to tuberculosis. Infect Immun 1970; 1:600-603.
- 7) Heise ER, Weiser RS. Tuberculin sensitivity: the effect of antilymphocyte and antimacrophages serum on cutaneous, systemic and in vitro reactions. J. Immunol 1970; 104:704-709.
- 8) Sibert FB, Glenn JT. Tuberculin purified protein derivative: preparation and analysis of a large quantity for standard. Am Rev Respir Dis 1941; 44:9-25.
- 9) Waaler H, Guld J, Magnus K, Magnusson M. Adsorption of tuberculin to glass. WHO 1958; 19: 783-798.
- 10) Wijsmuller G, Terminis J. The tuberculin test. Effects of storage and method of delivery com reaction size. Am Rev Respir 1973; 107: 267-273.
- 11) World Health Organization. Tuberculosis Reseach Office. University of Copenhagen. Biophysics Laboratory. Effect of exposure of tuberculin to light. Bull WHO 1955; 12: 179-188.
- 12) Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria Nacional de Programas Especiais de Saúde, Divisão Nacional de Pneumologia Sanitária, Programa de Controle de Tuberculose. Manual de Procedimentos para Unidades de Saúde. 2 ed. rev., Brasília, Centro de Documentação do Ministério da Saúde, 1984.
- 13) Ruffino-Neto A, Lima-Filho EC, Almeida MCP. Estudo da relação eritema/induração na prova tuberculínica. I. Rev Med Carl - HC Fac Med Rib Preto, USP, 1973; 6:11.
- 14) Carneiro JF. Contribuição ao estudo da alergia tuberculínica. Rev Serv Nac Tuberc 1964; 8:31.
- 15) Narain R. Interpretation of the repeat tuberculin test. Tubercle 1968; 49:92-103.
- 16) Palmer CE, Bates LE. Tuberculin sensitivity of tuberculous patient. Bull WHO 1952; 7:171-181.
- 17) Woodruff CE. Tuberculin allergy inpatients critically ill with tuberculosis. am Rev Respir Dis 1946; 53:583-588.
- 18) Narain R, Nair SS, Ramanatha RG, Chandrasekkabar P, Pyareal. Enhacing of tuberculin allergy by previous tuberculin testing. Bull Wld Hlth Org 1966; 34:623-626.
- 19) Edwards PQ. Tuberculin negative? N Engl J Med 1972; 286:373-374.
- 20) Brody JA, Hammes L. Depression of the tuberculin reaction by viral vaccines. N Engl J Med 1964; 271: 1294-1296.
- 21) Collins FM, Mackaness GB. The relationship of delayed hypersensitivity to acquired antituberculous immunity. I - Tuberculin sensitivity and resistance of reinfection in BCG-vaccinated mice. Cell Immunol 1970; 1:253-265.
- 22) Kantor IN, Spizzamiglio G, Costa A, Garria V. The quality control of tuberculin PPD products from seven Latin American laboratories. Journal of Biological Standardization 1989; 17:233-239.