

Prova tuberculínica cutânea

Tuberculin skin test

Michelle Cailleaux Cezar ¹, Daniel Almeida Melo ¹, Gisele Martins Xavier ¹,
Cristiane Salles ¹, Marcus Barreto Conde ¹, Antonio Ruffino Netto ²

Descritores: prova tuberculínica cutânea.

Keywords: tuberculin skin test.

Histórico

A tuberculina

A avaliação da tuberculina como instrumento para diagnóstico da tuberculose (TB) teve início em Janeiro de 1890, apenas cinco meses após Robert Koch ter anunciado sua descoberta⁽¹⁾. Koch observou que após a injeção intracutânea de grandes quantidades de tuberculina, ocorriam reações gerais no organismo inoculado, tais como: febre, tremores, náuseas e vômitos. Por outro lado, ocorria também uma reação ao nível do foco de infecção tuberculosa. O próprio pesquisador se submeteu à inoculação da tuberculina, observando a evolução de um ponto endurecido e doloroso no ponto da injeção (reação local)⁽²⁾.

Apesar de descrever as duas reações provocadas pela tuberculina nos portadores de lesões tuberculosas (reação geral – confirmava a existência da tuberculose –, e reação local – sua localização), Koch não deu importância maior à reação que sobrevinha no local da injeção⁽²⁾.

No entanto, muito cedo foram observadas reações positivas em indivíduos normais, como acontecera com o próprio Koch, contrastando com o achado de reações negativas em portadores de TB com doença avançada⁽³⁾. Peiper, citado por Carneiro⁽³⁾, fez uma investigação

especial sobre reações tuberculínicas positivas em indivíduos sadios, acarretando por algum tempo certo descrédito para o tuberculino-diagnóstico. Mas entraram em cena os médicos veterinários que de pronto decifraram o pequeno enigma. Em 1932, o Professor Eber demonstrou que 85% de 134 bovinos que reagiram à tuberculina, apresentavam lesões à autopsia e 89% de 113 que não reagiram ao teste, não apresentavam lesões na autopsia⁽⁴⁾. Em relação a esses resultados, Snider chama atenção que, se considerarmos os achados da autópsia como marcadores para presença ou ausência da TB, os dados de Dr. Eber indicam uma sensibilidade de 85% e uma especificidade de 89% para o teste com a tuberculina⁽⁵⁾.

Outro médico veterinário, Leonard Pearson, que trabalhava no laboratório de Koch em 1890, testou um rebanho de 79 animais com a tuberculina OT (*Old Tuberculin*) e encontrou 30 reatores. Esses 30 animais foram sacrificados e a autópsia mostrou lesões tuberculosas em todos eles, embora muitas vezes essas lesões fossem mínimas e clinicamente pouco significativas⁽⁶⁾. Nocard, em 1891, utilizando tuberculina fabricada na França por Roux e baseado na experimentação em bovídeos, concluiu que a tuberculina constituía um meio capaz de detectar a presença da TB.

1. Unidade de Pesquisa em Tuberculose - Universidade Federal do Rio de Janeiro

2. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo

Endereço para correspondência: Antônio Ruffino-Neto. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Av. Bandeirantes, 3900
14049-900 Ribeirão Preto- SP- Brazil. E-mail: aruffino@fmrp.usp.br

Artigo recebido para publicação no dia 24/10/2003 e aceito no dia 10/12/2003, após revisão.

O método original utilizado por Koch para preparar a tuberculina envolvia o cultivo do *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb) em um meio de glicerol enriquecido com caldo de carne. Posteriormente, o material cultivado era concentrado e levado à ebulição. Após filtração com eliminação dos bacilos, o material era submetido a banho-maria até reduzir a 1/10 do seu volume original, resultando na linfa de Koch ou tuberculina bruta⁽⁷⁾. Essa tuberculina recebeu o nome de "Old Tuberculin" (OT) e foi utilizada extensivamente até 1930. Nessa ocasião, já era reconhecida a dificuldade em manter as mesmas características dessa complexa mistura de uma série para outra⁽⁵⁾.

O primeiro produto purificado testado em humanos foi o MA-100, preparado por Masucci e McAlpine (1930)⁽⁸⁾. Florence Seibert, do Instituto Henry Phillips, reconhecendo a necessidade de uma nova tuberculina, de fácil reprodutibilidade, iniciou sua pesquisa nessa área na mesma ocasião que Masucci e McAlpine. Em 1932, Florence Seibert e Munday isolaram um derivado protéico purificado (PPD, do inglês *purified protein derivative*) de baixo peso molecular precipitando filtrado de cultura de Mtb com ácido tricloroacético. Em baixas doses, esse produto se mostrou altamente específico para infecção tuberculosa em cobaias e humanos⁽⁹⁾. O desenvolvimento do PPD, uma tuberculina potente, purificada e estável, foi um importante marco na história da TB⁽⁵⁾. Era grande a expectativa que se tinha em utilizar um produto purificado, julgando que ele seria de melhor qualidade que um produto não purificado. Contudo, observou-se que esta tuberculina freqüentemente desencadeava o fenômeno de *Arthus*.

Em 1941, Seibert e Glenn produziram uma grande quantidade de PPD (lote #49608) a partir de uma única cepa de Mtb. Alíquotas desse lote foram enviadas para o Instituto Nacional de Saúde (NIH, do inglês *National Institute of Health*) para uso em larga escala nos Estados Unidos da América (EUA). Esse PPD padrão ficou conhecido como PPD-S (do inglês *PPD standard*)⁽¹⁰⁾.

A unidade internacional ou unidade de tuberculina (UT) é a atividade biológica representada por 0,000028mg de PPD-S, consistindo de 0,000020mg de PPD mais 0,000008 mg de sal. A potência padronizada para a PT é de 5UT⁽⁷⁾. Uma vez mais, contrariando todas as expectativas, esta tuberculina desencadeava o fenômeno de *Arthus* em maior intensidade que o PPD anterior.

Em 1943, Palmer estudou a resposta a altas doses de tuberculina em estudantes de enfermagem⁽¹¹⁾. O autor demonstrou que a dose de 0,0001mg (5 TU – do inglês *Tuberculin Unit*), provou ser altamente sensível em identificar estudantes com calcificações pulmonares

e/ou infiltrados e reações negativas à histoplasmina, mas não houve relação entre a presença de lesões pulmonares e reações à 250TU (0,005mg de tuberculina). O fator mais importante associado com as reações às altas doses foi a localização geográfica da moradia. Aqueles que moravam no sudeste dos EUA apresentaram reações às doses de 250TU de maneira mais freqüente do que aqueles que moravam no norte ou oeste do país. Amplo inquérito tuberculínico realizado em marinheiros dos EUA demonstrou uma grande variação nas reações à tuberculina, com diferenças marcantes correspondendo à área de residência do recruta⁽¹²⁾. Em todas as áreas geográficas representadas foram encontrados recrutas com extensas reações (>10mm), comumente vistas em pacientes com tuberculose. Em contraste, pequenas reações (<5mm) foram mais freqüentes nos recrutas naturais do Sudeste e menos freqüentes naqueles provenientes do Norte do país. Posteriormente demonstrou-se que essas reações menores foram causadas pela infecção por micobactérias não tuberculosas⁽¹³⁾.

A medida que os estudos em torno da PT foram sendo planejados e executados, ficou claro que deveriam ser desenvolvidos métodos precisos para administração da prova, assim como métodos objetivos para medir o diâmetro das reações⁽⁵⁾.

Em 1955, com o objetivo imediato de selecionar indivíduos para a aplicação da vacina BCG intradérmica, a Organização Mundial de Saúde (OMS) obteve com a contribuição da UNICEF o preparo de grandes partidas de tuberculina purificada, através do *Statens Serum Institut*, de Copenhague, de modo a poder empregar por longos períodos o mesmo material. Essa nova tuberculina deveria ser preparada seguindo a metodologia utilizada para preparação de outras tuberculinas fabricadas previamente pelo mesmo Instituto (RT19-21, RT22)⁽¹⁴⁾. A quantidade preparada deveria ser de pelo menos 500g, quantidade estimada para suprir a demanda mundial de tuberculina por 10 anos. A nova tuberculina recebeu o nome de PPD (do inglês, *purified protein derivative*) RT (do alemão, *renset tuberkulin*) 23, ou seja, PPD-RT23⁽¹⁴⁾.

Prevendo a importância dessa nova tuberculina, Guld e cols. (1958) realizaram um estudo com os objetivos de: (1) padronizar essa nova tuberculina, em substituição ao PPD-S; (2) comparar o RT23 com outras tuberculinas fabricadas previamente pelo *Statens Serum Institut* e (3) examinar diferentes diluições do RT23 preparadas com e sem *Tween* 80. Nas diluições empregadas nas PT, a atividade da PPD acusava variações consideráveis e imprevisíveis, devidas à adsorção rápida da tuberculina, em grande parte pela vidraria em que é

contida. A adição de Tween 80 (detergente não iônico) ao diluente poderia prevenir esse fenômeno. Além de se mostrar mais potente do que a anteriormente utilizada (RT22), essa tuberculina diluída em solução contendo agente estabilizante provocou menos reações locais quando comparada a solução sem esse agente.

Após experimentações em animais e humanos, foi recomendado o emprego de 1 UT de RT23 que corresponde a 0,02mg da substância pura; para o uso em rotina, 0,02mg de RT23 deveria ser diluído em 0,1ml do agente estabilizante Tween 80 cujos resultados correspondiam aos obtidos anteriormente com 5 UT (0,0001mg) da partida RT22 em diluente comum^(14,15). As diluições em diluente estabilizante foram capazes de manter sua atividade durante seis meses, desde que conservadas em temperatura não superior a 20°C, e, que não fossem expostas à luz solar direta nem desnecessariamente à luz solar indireta; nos refrigeradores comuns, em que devem ser conservadas, a temperatura não ultrapassa, em geral, a 10°C⁽¹⁴⁾. Convém referir que 1 UT da RT23 em diluente estabilizante corresponde, praticamente a 3 UT (0,06mcg) da PPD-S em diluente comum, produzida nos Estados Unidos e destinada a servir como padrão internacional.

No Brasil, a partir do XI Congresso Nacional de Tuberculose, realizado em Porto Alegre em novembro de 1961, quando foi apresentado o trabalho da Comissão Técnica da Campanha Nacional Contra a Tuberculose (CNCT) sobre a PT em Saúde Pública, o Serviço Nacional de Tuberculose (SNT) passou a "recomendar a prática dessa prova, padronizada pela OMS, com emprego do PPD em dose única, fraca, em todas as Unidades de luta contra tuberculose no Brasil, de modo a tornar comparáveis os dados procedentes de diversas áreas, obtidos em diferentes épocas, e mesmo a comparação com dados estrangeiros"⁽¹⁶⁾.

Foi então, de acordo com a padronização da OMS, adotada a dose única de 1 UT (0,02mg) de tuberculina RT23, produzida no *Statens Serum Institut*, de Copenhague, em 0,1ml de diluente estabilizante (contendo 0,005% de Tween 80), aplicada por via intradérmica, com critério da leitura quantitativa e com determinado critério de interpretação. As diluições do PPD RT23 distribuído no Brasil passaram a ser feitas no Laboratório de referência da CNCT (Laboratório Central de Tuberculose do Estado da Guanabara), de acordo com as instruções do *Statens Serum Institut*, submetidas a testes de esterilidade e, finalmente, confrontadas com igual diluição procedente desse Instituto, para verificação da

atividade, em provas tuberculínicas simultaneamente executadas no homem⁽¹⁶⁾.

Ainda em 1961, a Comissão Técnica da CNCT elaborou a segunda recomendação da PT em saúde pública, que tinha como principal objetivo a modificação da dose única de 1 UT (0,02mg) para 2 UT em 0,1ml de diluente estabilizante⁽¹⁶⁾. A utilização de 2UT no Brasil permitiria uniformizar o procedimento no continente. A dose de 2UT para fins de saúde pública já vinha sendo utilizada sem inconveniente na maioria dos países da Europa e da América Latina. Da mesma forma que a dose de 1 UT, a de 2UT de RT 23 é também considerada dose fraca, exigida para identificar reações específicas, isto é, alergia induzida pelo Mtb⁽¹⁶⁾. A principal vantagem levantada pela CNCT era que as reações a 2UT eram mais consistentes, mais duras, de bordos mais bem delimitados, tornando a leitura mais fácil e precisa, assim, tendendo a corrigir o erro para menos, resultante da não inclusão, na leitura da periferia menos consistente, mole, das reações a 1 UT.

Imunologia

A PT se fundamenta numa reação imune mediada por células denominada hipersensibilidade tardia (RHT). Esse tipo de resposta imune é o mecanismo de defesa primária contra bactérias intracelulares como a *Listeria monocytogenes* e o Mtb. O modelo animal clássico da RHT é a resposta do cobaio imunizado com antígeno pincelado na pele ou introduzido via intradérmica. Essas reações podem ser induzidas em humanos através do contato e sensibilização com antígenos presentes no meio ambiente ou através da injeção intradérmica de antígenos microbianos em indivíduos sensibilizados por uma infecção prévia, como é o caso da PT⁽¹⁷⁾. Após a infecção pelo Mtb, os linfócitos T (referente a linfócito derivado do Timo) proliferam e se tornam sensibilizados. A sensibilização dessas células usualmente alcança níveis adequados para produzir uma RHT detectável, 2-12 semanas após a infecção inicial pelo bacilo. Essa sensibilidade pode persistir por anos, apesar da reatividade decair com aumento da idade⁽¹⁸⁾.

Após quatro horas da injeção da tuberculina na pele, ocorre o acúmulo de neutrófilos ao redor dos capilares presentes no local da aplicação. Em seguida, neutrófilos migram para o local e, cerca de 12 horas após, pode-se observar no local um infiltrado de linfócitos T e monócitos provenientes do sangue periférico. As células endoteliais que revestem os capilares tornam-se volumosas, com aumento das

organelas biosintéticas, e vazamento de macromoléculas para o plasma. Ocorre a passagem de fibrinogênio para o tecido ao redor da lesão, o qual é transformado posteriormente em fibrina. O depósito de fibrina e, em menor extensão, o acúmulo de linfócitos T e monócitos no espaço extravascular ao redor do local da injeção provoca vermelhidão e endurecimento do tecido ("induração"). A induração cutânea (IC), o marco da RHT, é detectável cerca de 18 horas após a injeção do antígeno e atinge seu máximo entre 24-48 horas. Devido à esta demora na percepção da induração, a reação ao PPD passou a ser chamada de RHT. Essa resposta é chamada tardia porque a reação só se torna evidente após 24-48 horas⁽¹⁷⁾.

O eritema, uma reação inflamatória aguda marcada pela presença de vermelhidão no local da injeção, pode se desenvolver em resposta à um teste antigênico cutâneo. Essa reação é causada pela vasodilatação e congestão dos capilares. Convém assinalar que sozinha essa reação não constitui uma reação positiva⁽⁷⁾.

O PPD tem sido amplamente utilizado como reagente imunológico. Seu principal papel nessa área está em demonstrar a RHT ao antígeno micobacteriano em animais ou no homem, previamente infectados pelo Mtb⁽⁵⁾. Nessas condições, o PPD parece se comportar quase que exclusivamente como um potente estimulador de células T. No entanto, a pequena quantidade desse antígeno utilizada na PT parece não ser suficiente para estimular a imunidade. Fato é que a PT pode ser realizada repetidamente e, em caso positivo, continua sendo diagnosticada infecção recente pela Mtb ou vacinação prévia com BCG. Quando administrado por outras vias sem ser a intradérmica, e em altas doses, o PPD continua se comportando como estimulador exclusivo de células T. Lauchmann e cols. (1986) demonstraram que o PPD acoplado a um hapteno e injetado em animal de laboratório induz a uma fraca produção de anticorpos, mesmo naqueles vacinados previamente com BCG⁽¹⁹⁾. Já Klaussen e cols. observaram uma resposta imunogênica significativa ao administrar doses de PPD acima de 1mg em animais de laboratório. A imunogenicidade do PPD foi independente da vacinação prévia com BCG.

Na tentativa de superar o problema de baixa imunogenicidade do PPD, Bardarov (1990) descreveu um método para aumentar a resposta de anticorpos, porém com resultados aquém do esperado^(5, 20). Na realidade, a produção do PPD implica em uma complexa mistura de componentes protéicos e,

apesar do seu amplo uso, muito pouco se sabe a respeito dos componentes dessa tuberculina responsáveis pelo estímulo das células T.

Métodos de aplicação do teste tuberculínico

Epstein e Escherich foram os primeiros a chamar atenção para o valor da inflamação que aparecia no local da injeção da tuberculina⁽³⁾. Procurou-se distinguir a área de vermelhidão que aparecia na pele no ponto da introdução da agulha (chamada na ocasião de *Stichreaktion*), da área de infiltração subcutânea. A distância entre as duas reações dependia da profundidade de penetração da agulha no tecido subcutâneo. Essa distinção não era geralmente aceita, usando-se apenas o termo *Stichreaktion*, com o qual se designava a reação local resultante da introdução da tuberculina no tecido subcutâneo. Em 1908, Hamburger introduziu pequenas modificações na execução da *Stichreaktion*⁽³⁾. Hamburger realizava a injeção mas procurando ficar perto da pele, penetrando pois muito pouco no tecido subcutâneo. Foi um precursor, portanto, do método intradérmico.

Já um ano antes, Clemens Von Pirquet tivera a idéia de aplicar à pesquisa da sensibilidade tuberculínica, a técnica da escarificação ou cutirreação, que consistia em escarificar apropriadamente a pele e, a seguir, deixar cair algumas gotas de tuberculina no local da escarificação⁽²¹⁾.

Em 1908, Mantoux introduziu seu teste percutâneo mostrando que a intra-dermo reação, feita com uma solução de 1 para 5000 de tuberculina, era positiva em todos os casos que a cutirreação o era, e ainda em outros casos nos quais aquela técnica se mostrava negativa⁽²²⁾.

É importante assinalar a superioridade da intradermoreação de Mantoux sobre a cutirreação de Pirquet e sobre o método percutâneo de Moro. Enquanto que para obter um número razoável de respostas positivas com essas duas técnicas é necessário empregar a tuberculina pura, na técnica de Mantoux gradua-se a quantidade de tuberculina a injetar de acordo com as necessidades, possibilitando praticar reações quantitativas, vantagem que só depois se veio avaliar⁽³⁾.

Pode-se dizer que o tuberculino-diagnóstico foi utilizado inicialmente pelos veterinários, seguidos pelos pediatras. Mais tarde seu uso foi ampliado, resultando em uma melhor compreensão da patologia da tuberculose, em uma avaliação mais perfeita da situação epidemiológica em diferentes épocas, e uma orientação mais segura nos muitos casos que a clínica nos oferece⁽³⁾.

A técnica de Mantoux é a melhor disponível e a mais utilizada atualmente no mundo ⁽²¹⁾. Para a sua execução, a Divisão Nacional de Tuberculose assinala: "É desnecessária a limpeza da pele com álcool. Nos casos de marcada falta de asseio, lavar o braço com água e sabão. Firmar o antebraço esquerdo com uma das mãos. Distender a pele no sentido longitudinal do braço e, com a outra, segurar a seringa carregada. Introduzir superficialmente no terço médio da face anterior do antebraço, na direção do seu maior comprimento, a ponta da agulha, que deve ter o bisel voltado para cima. O recurso à face posterior do antebraço, habitualmente usado pela OMS, também pode ser admitido. Quando o bisel estiver todo introduzido, injetar lentamente 0,1 ml da tuberculina, observando atentamente a graduação" ⁽²³⁾.

Com a produção de novas tuberculinas e com o aparecimento de novas técnicas observou-se um incremento de trabalhos abordando diferentes aspectos da PT ^(24, 25). A PT passou a ser considerada um método valioso para o controle da tuberculose. Evidenciava-se cada vez mais a sua utilidade, tanto para descoberta de casos como para o diagnóstico diferencial ⁽²⁶⁾. Além dos Serviços especializados que a utilizavam em rotina, os serviços gerais, principalmente os pediátricos, começaram a demonstrar interesse em executar a prova nos pacientes sob sua responsabilidade ⁽²⁶⁾.

No entanto, apesar da grande responsabilidade atribuída aos resultados da PT, percebeu-se que erros eram cometidos nas diferentes etapas de sua execução e provavelmente incidindo com maior intensidade por ocasião da leitura ⁽²⁷⁾.

Leitura da prova tuberculínica

Em 1966, o XIII Congresso Nacional de Tuberculose no Brasil já chamava à atenção para necessidade de treinamento adequado do pessoal para a execução da prova tuberculínica, de modo a assegurar resultados fidedignos no levantamento do índice de infecção tuberculosa e a utilização de métodos padronizados de aplicação, leitura e interpretação ⁽²⁸⁾. Estas recomendações são conclusões literais dos trabalhos então apresentados por Ruffino-Netto e cols. e Teruel e cols. ⁽²⁴⁻²⁶⁾.

De maneira semelhante, o Congresso da *Arden House* sobre TB, entre outras recomendações, apresentou a de intensificar as pesquisas para um teste tuberculínico simples e exato que pudesse ser aplicado e lido por pessoas não médicas ⁽²⁹⁾. Naquela ocasião já se previa a ausência de disponibilidade de médicos, tornando-se necessário contar com a colaboração de enfermeiras de saúde pública e auxiliares de

enfermagem ^(24, 25). No entanto, a participação desses elementos implicaria em uma fase de treinamento com o objetivo de padronização do trabalho para reduzir as possibilidades de erro de leitura, uma vez que sempre ocorre, existindo trabalhos que o constataram ^(27, 30).

Em 1967, Ruffino-Netto e cols. publicaram um trabalho onde avaliam os erros cometidos nas leituras da PT quando vários leitores avaliavam a mesma induração. Foram analisados os resultados de 316 reações lidas por um médico previamente padronizado e por duas enfermeiras de saúde pública. No estudo, os autores sugerem como critério de padronização e condição necessária para participar na rotina de leitura da PT, uma concordância de no mínimo 80% nos resultados dos leitores em fase final de treinamento com um leitor treinado, aceitando como leitura concordante uma diferença de até 2mm nos diâmetros das indurações.

No ano seguinte, os mesmos autores publicaram um outro estudo, aonde descrevem um método de avaliação do treinamento de enfermeiras e de visitadoras sanitárias, na execução da PT, através da comparação de leituras, independentes, realizadas pelo grupo em treinamento e por um leitor previamente padronizado. O método foi aplicado na avaliação do treinamento de quatro enfermeiras (através da comparação de 110 resultados positivos ou duvidosos de um total de 315 provas tuberculínicas) e de 10 visitadoras sanitárias (através da comparação de 108 resultados positivos ou duvidosos das provas tuberculínicas), no período de uma semana. ^(24, 25)

Em 1968, a Comissão Técnica da Campanha Nacional Contra Tuberculose (CNCT) recomendou que a leitura da PT fosse feita de 48 a 72 horas após a aplicação. Essa recomendação foi mantida no I Consenso Brasileiro de Tuberculose, ocorrido em Brasília no ano de 1997 ⁽³¹⁾.

Dois anos após a segunda recomendação da CNCT sobre a PT em saúde pública, Ruffino-Netto estudou 793 reações (487 com tuberculina OT – dose 5 UI; 306 com tuberculina PPD-Rt23 dose 1TU), em que as leituras foram feitas por um único leitor, de maneira duplo-cega, 48 e 72 horas após a aplicação e concluiu que as leituras dos diâmetros da induração com 48 ou 72 horas são iguais, para as tuberculinas OT ou PPD-Rt23, nas doses assinaladas ⁽³²⁾.

Anos antes, a OMS efetuou a PT em 18.000 operários têxteis em *Mehalla el Kolra*, Egito, utilizando tuberculina PPD-Rt-19-20-21, sendo as leituras realizadas diariamente, em cinco dias consecutivos após a aplicação. Nesse estudo também foi adotado o mesmo leitor para as leituras sucessivas, sem referência à sua

leitura prévia. Não foi encontrada nenhuma diferença de significado prático entre os resultados das leituras realizadas do segundo ao quinto dia. Aproximadamente todas as reações de tamanho maior ou igual a 6 mm de induração, em qualquer dia (exceto no primeiro), permaneceram maiores ou iguais a 6 mm nos dias subseqüentes, e as que mediam 0-6 mm não excederam 6 mm nos dias posteriores. Assim, se as reações tivessem sido lidas no segundo, terceiro, quarto ou quinto dia, a mesma pessoa teria sido classificada, essencialmente, da mesma forma, como negativa, de acordo com a induração. Importante ressaltar que os autores assinalam que resultados diferentes seriam possivelmente obtidos em outros grupos, com diferentes tipos de sensibilidade tuberculínica, ou testadas com outros tipos de tuberculinas ⁽³³⁾.

Duboczy e Brown investigaram 308 pacientes com TB comprovada, em um hospital de Nova York. Efetivaram a PT utilizando diferentes concentrações de PPD e observaram a evolução da reação durante sete dias, determinando o momento e o tamanho da máxima intensidade da reação. Observaram que as reações atingiram sua máxima intensidade de 24 horas a 7 após a aplicação da injeção, com uma maior porcentagem às 48 horas ⁽³⁴⁾.

A Divisão Nacional de Tuberculose recomenda que "a leitura da PT seja feita dentro de 3 a 4 dias, idealmente 72 horas após a injeção, considerando exclusivamente a área de induração (infiltração). Para a sua execução, toma-se em uma das mãos (geralmente a direita) a régua milimetrada transparente e com a ponta do dedo indicador a outra mão apalpa cuidadosamente, com leve toque, o local da injeção. Se houver induração, delimita-se o contorno e mede-se, em milímetros, o maior diâmetro transverso da área de induração palpável. O resultado da leitura é anotado em milímetros. Se não houver induração sensível à palpação, registra-se zero" ⁽³⁵⁾. O mesmo documento ainda assinala que somente uma boa experiência de leitura quantitativa permite a leitura das reações com exatidão e uniformidade. O observador inexperiente tende, por exemplo, a cometer erro para mais ao ler as reações fortes, por incluir na área de induração o edema que muitas vezes circunda essas reações; ao contrário, pode errar para menos, deixando de incluir na área de induração a parte periférica, menos consistente, mais mole, mais freqüentemente encontrada nas reações fracas.

Embora a recomendação seja para que se efetue sempre a leitura apenas da induração, deve-se assinalar que, no Japão, durante muito tempo se efetuava a leitura através do eritema. Ruffino-Netto,

Lima Filho e Puntel de Almeida, 1973, a partir desta conduta adotada no Japão, efetuaram um estudo com resultados de 4.615 PT feitas com PPD-RT23, dosagem de 1 TU e estudaram a correlação entre diâmetro do eritema em mm (chamado de X) e o diâmetro da induração em mm (chamado de Y). Encontraram a seguinte relação: $Y = -1,10 + 0,73 X$ e também $X = 2,68 + 1,08 Y$.

Chamando-se de Z a variável definida por $Z = X - Y$, foi verificado que esta variável apresentava uma distribuição Normal, com média (m) = 2,99 e variância (s) = 5,84. Ou seja, o eritema é em média igual o tamanho da induração somado em mais 3 milímetros.

Interpretação da prova tuberculínica

A distinção entre reações tuberculínicas que representam infecção pelo Mtb e as que não representam não depende somente do tamanho da reação (induração). A definição de um resultado significativo deve ser baseado em duas importantes considerações: o poder que esse resultado tem para separar, de maneira clara, as reações decorrentes da infecção pelo Mtb, daquelas resultantes de outros fatores. Essa definição é influenciada pela dose, diluição e natureza da preparação da tuberculina utilizada e também pela prevalência relativa da sensibilidade tuberculínica resultante não só da infecção pelo Mtb, mas também de outros fatores presentes na população em estudo. O segundo ponto a ser considerado se refere às reações significativas e não significativas serem falsamente classificadas como representando ou não uma infecção tuberculosa devido a problemas na interpretação da PT ⁽⁵⁾.

As reações decorrentes da infecção pelo Mtb são mais comuns do que aquelas decorrentes de reações cruzadas em pessoas que são contatos de pacientes com TB e naquelas com anormalidades clínico-radiológicas sugestivas de TB. Assim, alguns autores consideram que uma reação de 5mm ou mais, entre indivíduos com contato recente com pacientes portadores de TB ou com lesões sugestivas de TB doença, é suficiente para separar reações significativas das não significativas nesse grupo, com um pequeno percentual de reações falso positivas e negativas ^(36,37). Como a prevalência de TB infecção é alta nesse grupo, o valor preditivo positivo da PT é alto, mesmo se o critério para reação significativa diminuir para 5 mm de induração.

Palmer & Edwads (1967) testaram mais de 5000 pacientes com TB e 96% desenvolveram reação à tuberculina; a reação média foi de 16-17mm e poucas

reações foram $< 5\text{mm}$ ³⁸. Weg (1988) encontrou resultados da PT $\geq 10\text{mm}$ em 90% dos casos de infecção pelo MTb, comprovado pela cultura⁽³⁹⁾. A realização da PT (utilizando a técnica de Mantoux e PPD-S 5UT ou equivalente) em pacientes com TB pelo mundo demonstrou uma curva de distribuição normal, com extremos de 6 mm a mais de 26 mm e pico de 14 a 15 mm⁽⁵⁾.

No entanto, em populações aonde a prevalência de TB infecção é baixa, um outro "ponto de corte" será mais apropriado⁽⁵⁾. Desta forma, em grupos populacionais assintomáticos e sem suspeita clínico-radiológica de TB, que ignorem contato recente com paciente portador de TB pulmonar, sobretudo em áreas aonde as reações cruzadas superam aquelas decorrentes da infecção pelo Mtb, considerar uma reação significativa $\geq 5\text{mm}$ poderá resultar em um grande número de casos falso-positivos para a infecção pelo Mtb. Portanto, neste grupo de indivíduos, seria mais apropriado adotar um critério de induração maior (p.ex., $\geq 10\text{mm}$) para reação significativa⁽⁵⁾.

Confirmando essa impressão, Marmorstein e Scheinhorn (1975) testaram 138 pacientes com TB e 74 pacientes com micobactérias atípicas e observaram que uma reação $\geq 10\text{mm}$ ao PPD-S apresentava uma sensibilidade de 91% para o diagnóstico de TB⁽⁴⁰⁾. As infecções por micobactérias atípicas geralmente resultam em reações cutâneas entre 5 e 10mm, menores do que as infecções por MTb⁵. Nos Estados Unidos, onde as infecções por micobactérias atípicas são comuns, somente 5% das crianças com reação fraca à PT têm infecção tuberculosa. Entretanto, quando se trata de contatos próximos de casos de TB pulmonar, essa mesma reação corresponde à infecção tuberculosa em 50% das crianças^(41, 42).

Huebner e cols. (1993) assinalam que a utilidade da PT depende da prevalência da infecção pelo MTb e da prevalência relativa de reações cruzadas por micobactérias atípicas⁽⁷⁾. A tabela 1 mostra a influência da prevalência da infecção no valor preditivo positivo da PT.

Em uma população que apresente uma distribuição unimodal das reações tuberculínicas (figura 1), a PT pode assumir uma especificidade de aproximadamente 99%. No entanto, em uma população que apresente um padrão de distribuição diferente, a especificidade dessa prova pode ser menor ou igual a 95%, com o valor exato dependente do critério adotado para definir uma reação positiva. Com especificidade de 95%, o valor preditivo de uma PT positiva é baixo se a prevalência de infecção pelo Mtb for menor ou igual a 10%.

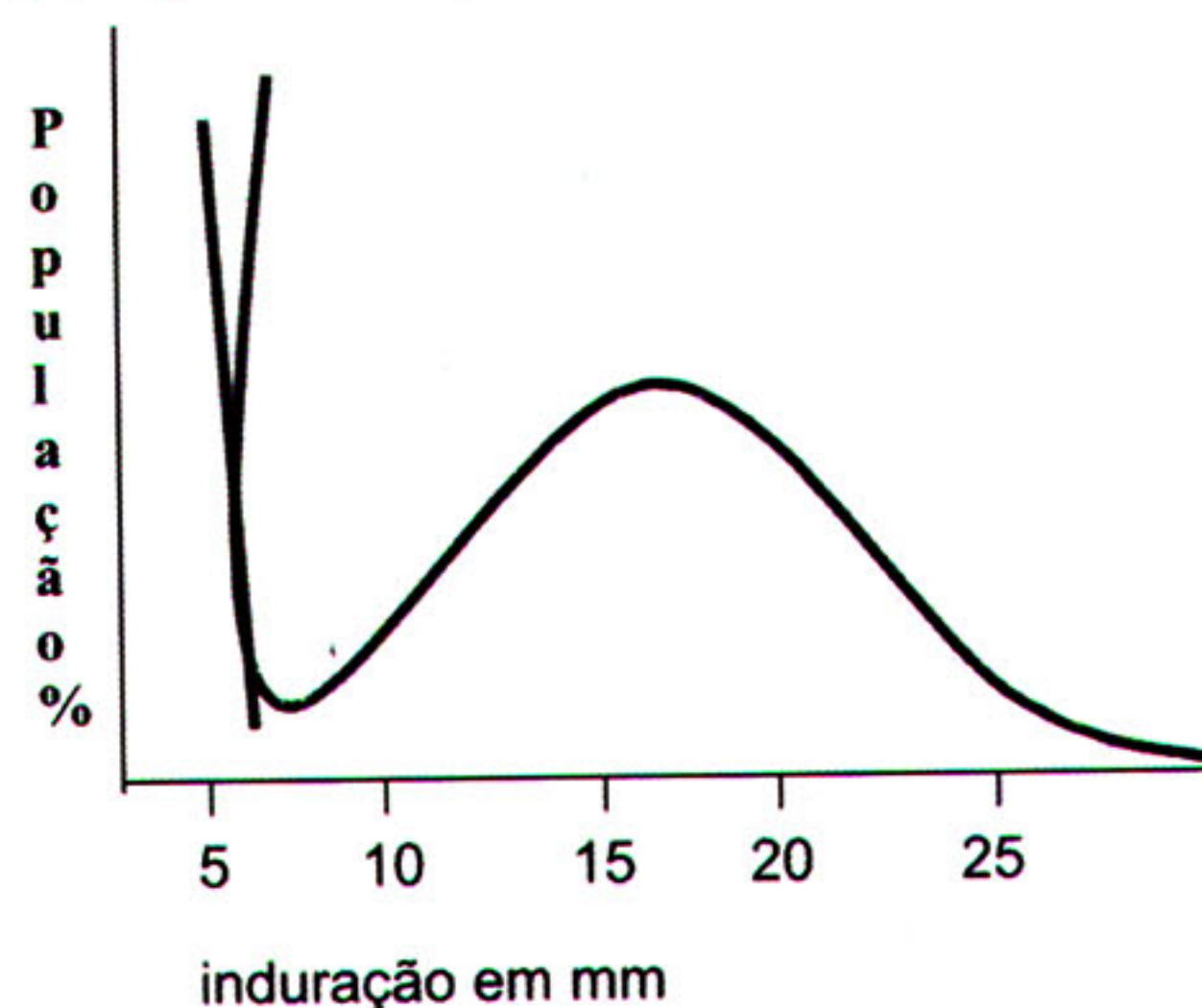
Tabela 1 – Impacto da prevalência da infecção pelo MTb no valor preditivo de uma PT positiva

	Prevalência	Valor preditivo
	0,95	0,99
90	0,99	0,99
50	0,95	0,99
25	0,86	0,97
10	0,67	0,91
5	0,50	0,83
1	0,16	0,49
0,1	0,03	0,10
0,01	0,002	0,09

* Para esses cálculos foi considerada uma sensibilidade de 100% para a PT; esp=especificidade.

FONTE: Huebner R E; Schein M F; Bass J B. The Tuberculin Skin Test. Clin Infet Dis 1993; 17: 971

Figura 1 - Distribuição das reações tuberculínicas em uma população com baixo percentual de reações cruzadas.



FONTE: Huebner R E; Schein M F; Bass J B. The Tuberculin Skin Test. Clin Infet Dis 1993; 17: 971

Edwards e Edwards (1960) já chamavam à atenção para análise dos padrões de distribuição das reações tuberculínicas. Através da distribuição dos diâmetros dessas reações obtidas em uma população e dispostas na forma de histograma de freqüências relativas, é possível obter diversas informações⁽⁹⁾. Um primeiro enfoque permite estudar a qualidade técnica com a qual os testes foram interpretados⁽⁴³⁾. No entanto, o mais importante é a possibilidade de se analisar o comportamento biológico da população face as infecções por micobactérias⁽⁴⁴⁾.

Os padrões observados variam de região para região em decorrência da maior ou menor prevalência de reações fracas. Quando a prevalência destas é baixa,

o aspecto do histograma é bimodal e bipartido, tal como podemos observar na figura I, adaptada de Edwards & Edwards⁽⁹⁾, o componente da esquerda tem uma moda em torno de 0 a 2 mm caindo logo para a direita, e o componente da direita tem a forma de uma distribuição normal com uma moda ao redor de 18 a 20 mm; há um mínimo de superposição entre os dois componentes. Os histogramas que exibem esse aspecto são expressivos de populações "puras", isto é, infectadas apenas pelo Mtb⁽⁴⁵⁾. Quando a prevalência de reações fracas é alta, o intervalo entre as duas modas é preenchido por um terceiro componente, e o histograma deixa de ser bipartido, podendo ocorrer uma série de padrões intermediários entre esses dois extremos. A experiência acumulada durante muitos anos permite atribuir essas reações fracas à ocorrência de reações cruzadas devidas a infecções por micobactérias atípicas⁽⁴⁴⁾. Os histogramas que exibem esse aspecto são interpretados como expressão de populações "impuras", isto é, infectadas pelo Mtb e outras micobactérias⁽⁴⁵⁾.

De um modo geral, o padrão correspondente a populações "puras" tem sido encontrado nas regiões temperadas e subtropicais e o de populações "impuras" nas regiões tropicais onde o "poder discriminador" da PT seria menor⁽⁴³⁾.

Arantes e cols. (1976) ao estudarem a sensibilidade tuberculínica em 35.680 pessoas residentes no município de Ribeirão Preto, São Paulo, região Sudeste do Brasil, encontraram o aspecto dos histogramas representativos da sensibilidade tuberculínica sugerindo a existência de infecções por micobactérias atípicas nessa área, ao contrário do padrão esperado, que seria aquele correspondente a populações infectadas apenas pelo Mtb⁴⁴.

Conde e cols. (1999) ao estudarem o valor preditivo positivo da pesquisa de B.A.A.R para detecção do Mtb em espécimes respiratórios de pacientes atendidos em um hospital geral, referência para AIDS (do inglês *Acquired Immunodeficiency Syndrome*) localizado na cidade do Rio de Janeiro, Brasil, demonstraram um alto valor preditivo positivo desse exame para detecção do Mtb, porém uma baixa prevalência de micobactérias atípicas. No entanto, os estudos em torno da incidência e prevalência de micobactérias atípicas ainda são escassos não permitindo avaliar com precisão seu impacto na sensibilidade tuberculínica^(46, 47, 48).

Deve-se lembrar também que a vacinação com o Bacilo de Calmette Guèrin (BCG) também leva ao desenvolvimento da sensibilidade tuberculínica⁽²¹⁾. A interpretação dos resultados da PT em pessoas previamente vacinadas é um dilema freqüente para os

profissionais da área da saúde, envolvidos com o controle e tratamento da tuberculose⁽⁴⁹⁾. A sensibilidade tuberculínica decorrente da vacinação pelo BCG é muito variável, sendo influenciada por vários fatores como a cepa e dose infectante de BCG utilizada⁽⁵⁰⁾, a via de administração⁽⁵¹⁾, o fabricante da vacina⁽⁵²⁾, a idade em que ocorreu a vacinação e o intervalo entre a vacinação e a realização da PT^(53, 54, 55, 56).

A vacinação com BCG oral, administrada no Brasil desde 1927, foi sendo paulatinamente substituída pela via intradérmica a partir de 1973⁽⁵⁷⁾. O Laboratório do Instituto Viscondessa de Moraes da Fundação Atauilho de Paiva vem produzindo BCG desde 1927. Amostras da vacina são enviadas ao *Statens Serum Institut*, de Copenhague, credenciado pela OMS, onde são submetidas a testes relativos à esterilidade, número de partículas viáveis, índice de germinação, homogeneidade e opacidade. Estudos em 1969 demonstraram que a cepa brasileira era a mais ativa quando comparada com outras 8 cepas, entre as quais a de Paris e Londres 58, 59.

Lima e cols.⁽⁵⁹⁾, no Rio de Janeiro, compararam a alergia tuberculínica ao PPD RT-23 (2UT) induzida pela vacina BCG Moreau-Rio líquida oral, BCG Moreau-Rio líquida intradérmica (Fundação Atauilho de Paiva-FAP) e BCG liofilizada intradérmica (Glaxo) em 4.341 indivíduos de 1 a 18 anos inicialmente não reatores, internados na FUNABEM. Para a vacina Glaxo, o percentual de reatores fortes foi de 80% no grupo vacinado e de 5% no grupo controle; para a vacina FAP intradérmica, foi de 92% e 8% respectivamente; e para a vacina FAP oral, foi de 35% e 8% respectivamente. A alergia induzida pela vacina FAP intradérmica foi um pouco mais forte do que a vacina Glaxo, e muito mais forte do que a vacina FAP oral, provavelmente devido à maior concentração de unidades viáveis por ml da vacina FAP intradérmica. O tamanho médio da reação tuberculínica foi de 13 ± 6 para a vacina Glaxo, de 16 ± 5 para a vacina FAP intradérmica, de 7 ± 6 para a vacina oral e de 2 ± 4 para o placebo.

No Brasil tem-se estudado a alergia tuberculínica após a vacinação com BCG intradérmico, ou seja, na 10ª semana, e o percentual de reatores fortes tem variado de 60 a 80% entre os escolares⁽⁶⁰⁾. Lima e cols. (1972) encontraram no Rio de Janeiro uma percentagem de 73,9% de reatores fortes no grupo vacinado⁽⁵⁹⁾. Em João Pessoa, região Nordeste do Brasil, Braga e Santos (1973) encontraram 68,7%. No município de São Paulo, Brólio e cols. encontraram em 10% dos 40.980 escolares uma percentagem de 69,3% de reatores fortes e 16,4% de reatores fracos no grupo vacinado⁽⁶⁰⁾.

Tabela 2 - Reação tuberculínica considerada positiva de acordo com os grupos de risco

≥ 5mm	Reações tuberculínicas consideradas positivas	
	≥ 10mm	≥ 15mm
Contactantes de bacilíferos	Estrangeiros de países com alta prevalência (Ásia, África e América Latina)	Ausência de fatores de risco
Radiografia de tórax anormal Pacientes infectados com HIV e outros imunodeprimidos	Institucionalizados Algumas populações de baixa renda Usuários de drogas Portadores de doenças consideradas como risco para progressão da TB infecção para TB doença (diabetes <i>mellitus</i> , nefropatias, silicose, neoplasia, portadores de gastrectomia e <i>bypass</i> jejunoileal). Trabalhadores da área de saúde em locais de risco de TB Crianças contatos de adultos com alto risco de TB	

Fonte: American Thoracic Society (1990).

O quadro abaixo apresenta a recomendação do Ministério da Saúde do Brasil para a interpretação do

resultado da PT baseado no tamanho da induração observada.

Tabela 3 - Interpretação do resultado da PT

Induração	Classificação	Interpretação
< 5 mm	Não reator	Não infectados, anérgicos
5 a 9 mm	Reator fraco	Infectados por Mtb, micobactérias atípicas ou vacinados com BCG
≥ 10mm	Reator forte	Infectados, doentes ou não, vacinados com BCG

Fonte: Brasil. Ministério da Saúde (2002).

Ruffino-Neto e cols. (1976) realizaram um estudo longitudinal avaliando a alergia tuberculínica pós-vacinação com BCG intradérmico e após infecção natural em 2.240 escolares (de 14 escolas) de Ribeirão Preto. Os autores concluíram que: é grande a percentagem de não reatores à PT entre os vacinados dois anos após a vacinação; é grande o risco de infecção entre os escolares de Ribeirão Preto e não há correlação entre o tamanho da induração da PT e o tamanho da cicatriz pós-vacinal com BCG, dois anos após a vacinação. Os autores assinalam que o fator "pertencer a uma determinada escola" interferiu na distribuição dos reatores, além de ter sido encontrada uma grande variabilidade do risco de infecção entre as diferentes escolas. Prova-velmente essa diferença de percentagem de reatores à PT após vacinação com BCG estaria ligada a diferentes riscos de infecção natural pelo Mtb (e,

portanto, aos níveis sócio-econômicos) e não propriamente à vacinação⁽⁶⁰⁾.

A reação provocada pela vacinação com BCG diminuí após os primeiros 5 anos de vacinação e é incomum persistir por mais de 10 anos^(53, 51, 55). No entanto existem poucos dados disponíveis a respeito da reação tuberculínica entre adultos vacinados na infância, o que é um problema clínico freqüente⁽⁴⁹⁾.

Os resultados de um inquérito tuberculínico em uma comunidade de Quebec, Canadá, mostrou que a prevalência de PT com reações (IC) maiores ou iguais a 10 mm em adultos e adolescentes foi similar entre o grupo de vacinados com BCG na infância e os não vacinados. Apesar da prevalência de resultados iguais ou maiores de 10 mm ter sido maior no grupo vacinado após a infância do que naqueles nunca vacinados, o tamanho da reação não foi capaz de distinguir as

reações causadas pela vacinação com BCG daquelas causadas pela infecção pelo Mtb⁽⁴⁹⁾.

Já em um estudo realizado na Dinamarca, de 1949 a 1952, em 3000 escolares, a alergia tuberculínica induzida pelo BCG foi observada até dois anos após a vacinação, verificando que não houve perda na alergia produzida e permanecendo as reações em torno de 15 mm de induração⁽⁶¹⁾. Baily e cols. (1980) demonstraram que se uma pessoa vacinada com BCG intradérmico realizar uma PT após a exposição ao Mtb, e o resultado dessa prova for > 15mm em relação à PT realizada antes da exposição, então esse aumento estará provavelmente relacionado à uma infecção recente pelo Mtb⁽⁶²⁾.

Já foram descritos vários métodos capazes de distinguir a reação tuberculínica provocada pela vacinação com BCG daquela decorrente da infecção pelo Mtb^(66, 67). O consenso geral tem sido considerar que grandes reações em pessoas vacinadas pelo BCG indicam infecção pelo Mtb. O "ponto de corte" para considerar uma reação significativa nessas pessoas pode variar, dependendo da potência da vacina utilizada, o período em que ocorreu a vacinação e a prevalência da TB no local. No entanto, com grande frequência essas informações não estão disponíveis e por isso têm sido considerados como "pontos de corte" valores de induração de 10 ou 15 mm⁽⁵⁾.

Snider assinala ainda que existem diversas razões para não assumir que todas as reações consideradas significativas nos vacinados com BCG sejam devidas à vacinação: 1) a taxa de conversões após vacinação com BCG pode ser bem menor do que 100%; 2) a reação após a vacinação com frequência apresenta um pequeno diâmetro; 3) a sensibilidade tuberculínica diminui ao longo dos anos após a vacinação.

A Divisão para Eliminação da Tuberculose do CDC (*Division of Tuberculosis Elimination – Centers for Disease Control and Prevention, USA*) assinala que a PT está contraindicada em pessoas que tenham sido vacinadas com BCG e que os resultados da PT nessas pessoas devem ser considerados para confirmar ou excluir o diagnóstico de infecção pelo Mtb. Ressalta ainda que o diagnóstico de infecção tuberculosa e o uso de terapia preventiva devem ser considerados em qualquer pessoa vacinada, que apresente a PT com induração \geq 10mm especialmente se uma das seguintes situações estiver presente: a) a pessoa é contato de paciente com TB; b) tenha nascido ou resida em país aonde a prevalência da TB é alta; c) estar continuamente exposta a populações com alta prevalência da TB⁽⁶³⁾.

Em Nova Iorque todos os contatos de pacientes com TB pulmonar (exceto aqueles sem confirmação

bacteriológica e sem doença cavitária) e de pacientes com TB laríngea são submetidos à PT, sendo prevista a repetição dessa prova após um período de 12 semanas para aqueles contatos inicialmente negativos (IC < 5mm)⁽⁶⁴⁾.

A *American Thoracic Society* tem recomendado diferentes "pontos de corte" para os diferentes grupos, independente do estado vacinal com BCG – tabela 2. Esta é uma forma de alterar a sensibilidade e especificidade do teste tornando-o mais acurado em grupos de muito alto, alto e baixo risco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Koch R.. Fortsetzung der Mitteilungen über ein Heilmittel gegen Tuberculose. *Dtsch Med Wochenschr* 1891; 17:101(translated in *Lancet* 1891; 1:168).
2. Koch R. 1890. Über bacteriologische forschung *Dtsch Med Wochenschr* 16:756 (translated in *Lancet* 1890:2;673).
3. Carneiro JF. Contribuições ao estudo da alergia tuberculínica. *Revista do Serv Nac Tuberculose* 1964; 8:31-41.
4. Marshall CJ. Progress in Controlling Bovine Tuberculosis. *J Am Rev Med Assoc* 1932; 80:625.
5. Snider DE. The tuberculin Test. *Am Rev Respir Dis* 1982; 125 (3): 108-18.
6. Pearson L. Tuberculin as a Diagnostic Agent. *Med News* 1892; 60:358-9.
7. Huebner RE, Schein MF, Bass Jr JB. The Tuberculin Skin Test. *Clin Infect Dis* 1993; 17:968-75.
8. Masucci P, McAlpine KL. Biochemical of Human Tubercule Bacillus Protein MA – 100 *Proc Soc Exp Biol Med* 1930; 27:661-3.
9. Edwards PQ, Edwards LB. Story of the Tuberculin Test from an Epidemiological Viewpoint. *Am Rev Respir Dis* 1960; 81:1-47.
10. Seibert RB, Glenn JT. Tuberculin Purified Derivative: Preparation and Analyses of a Large Quantity for Standard. *Am Rev Tuberc* 1941; 44:9-25.
11. Palmer CE. Nontuberculous Pulmonary Calcification and Sensitivity to Histoplasmin. *Public Health Rep* 1945; 60:513-20.
12. Edwards LB, Acquaviva FA, Livesay VT, Cross FW, Palmer CE. An Atlas of Sensitivity to Tuberculin, PPD-B and Histoplasmin in the United States. *Am Rev Respir Dis* 1969; 99:1-132.
13. WHO Tuberculosis Research Office. Further Studies of Geographic Variation in Naturally Acquired Tuberculin Sensitivity. *Bull World Health Organ* 1955;12:63-83.
14. Magnusson M, Bentzon WM. Preparation of Purified

- Tuberculin RT 23. Bull World Health Org 1958;19:829-43.
15. Guld J, Bentzon MW, Bleiker MA, Griep WA, Magnusson M, Waaler H. Standardization of a New Batch of Purified Tuberculin (PPD) Intended for International Use. Bull World Health Org 1958; 19:845-951.
 16. Comissão Técnica da Campanha Nacional Contra Tuberculose (CNCT) Ministério da Saúde, Brasília, 1961.
 17. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Celular and Molecular Immunology. W.B. Saunders Company. Philadelphia, EUA1991; P.245.
 18. American Thoracic Society. The Tuberculin Test. Am Rev Respir Dis 198; 1124:356-63.
 19. Lauchmann PJ, Strangeways L, Vyakarnam A, Evan G.. Raising Antibodies by Coupling Peptides to PPD and Immunizing BCG – sensitized animals. Synthetic Peptides as Antigens. Wild Chichester, Ciba Foundation Symp 1986; 119:25-57.
 20. Badarov SS, Kriakov J, Karakashyan A, Sivakova TD, Marko K. Characterization of PPD Protein Antigen in Whole Cell lysado of *Mycobacterium bovis* BCG. FEMS Microbiologist Lett 1990; 7:89-94.
 21. Ruffino-Netto A. Prova tuberculínica. Rev Ass Med Brasil 1979; 25 (7):257-59.
 22. Moussu G, Mantoux C.. Sur l'intradermo-reaction à la tuberculine chez les animaux. C.R. Acad. Science 1908; 149:502.
 23. Comissão Técnica da Campanha Nacional Contra Tuberculose (CNCT): Ação antituberculose a nível periférico. Ministério da Saúde, Brasília, 1974.
 24. Ruffino-Netto A, Teruef JR, Duarte GG. Análise de erros nas literaturas de provas tuberculínicas I. Revista do Serv. Nac. Tuberculose Vol II1967; 43: 350-64.
 25. Ruffino-Netto A, Teruef JR, Duarte GG.. Análise de erros nas literaturas de provas tuberculínicas II. Revista do Serv. Nac. Tuberculose Vol II1967; 43:365-376.
 26. Teruel JR, Gardonyi Carvalheiro CD, Ruffino-Netto A, Favero M, Azevedo Marquins PA. Variação nas leituras de provas tuberculínicas. Revista do Serv NAC Tuberculose Vol II 1967; 44:481-486.
 27. London RG, Lawson Jr RA, Brown J. Variation in Tuberculin Test Reading. Am Rev Respir Dis 1963; 37 (6):852-61.
 28. XIII Congresso Nacional de Tuberculose (1ª Tema Oficial) (Bélem-Pará – 1966). Rev. Serv. Nac. Tuberculose 1966; 10 (40): 477-86.
 29. Horwitz O e Bunch-Christensen K. Correlation between tuberculin sensitivity after 2 months and 5 years among BCG vaccinated subjects. Bull World Health Org 1972; 47:49-58.
 30. Meyer SN, Hougen A, Edwards P. Experimental Error in Determination of Tuberculin Sensitivity. Publ Hlth Rep 1951; 6(18):561-69.
 31. I Consenso Brasileiro de Tuberculose -1997. J. Pneumol 1997; 23 (6): 336-38.
 32. Ruffino-Netto A. Dupla leitura das reações na prova tuberculínica. Rev Serv Nac Tuberculose 1970; 18 (69):33-37.
 33. WHO Tuberculosis Research Office. Tuberculin Reaction Size on Five Consecutive Days. Bull. World Health Org 1955; 12:189.
 34. Duboczy BO, Brown BT. Multiple readings and determination of maximal intensity of tuberculin reaction. Am Rev Resp Dis 1960; 82:60-7.
 35. Comissão Técnica da Campanha Nacional Contra Tuberculose (CNCT). Ministério da Saúde, Brasília, 1968.
 36. Hyde L. Clinical Significance of the Tuberculin Skin Test. Am Rev Respir Dis 1972; 105:453-4.
 37. American Thoracic Society. Previne Therapy of Tuberculosis Infection. Am Rev Respir Dis 1974; 110:371-4.
 38. Palmer CE, Edwards LB. The Tuberculin Test In Retrospect and Prospect. Arch Environ Health 1967; 15:792-808.
 39. Weg JG. Clinical Forms of the Mycobacterial Disease. Jn. Fisherman AP. Pulmonary Diseases and Disorders. 2nd Philadelphia, McGraw-Hill 1988; p. 1843-62.
 40. Marmostein BL, Scheinhorn DJ. The Role of Nontuberculous Mycobacterial Skin Test Antigens in the Diagnosis of Mycobacterial Infections. Chest 1975; 67 (3):320-24.
 41. Jacobs RF, Eisenach KD. Childhood Tuberculosis Adv Pediatr Infect Dis 1993; 8:23-51.
 42. American Academy of Pediatrics. Screening for Tuberculosis in Infants and Children Pediatrics 1994; 93 (1):131-4.
 43. Nyboe J. The Efficacy of the Tuberculin Test. Bull Wld. Hlth Org 1960; 81:1-47.
 44. Arantes RG, Ruffino-Netto A, Nassar J. Interpretação da sensibilidade tuberculínica em população do interior do Estado de São Paulo. Rev Saúde Públ S. Paulo 1976; 10:219-26.
 45. Palmer CE. Experimental and Epidemiologic Basis for the Interpretation of Tuberculin Sensitivity. J. Pediat 1959; 55:413-29.
 46. Barreto JA, Palaci M, Ferrazoli L, Martins MC, Suleiman L, Lorenzo R, Ferreira Jr OC, Riley LW, Johnson Jr WD, Galvão PA. Isolation of *Mycobacterium avium* complex from bone marrow aspirates of AIDS patients in Brazil. J Infect Dis 1993; 68:777-79.
 47. Raviglione MC, Spencer DE, Kochi A. Global

- Epidemiology of Tuberculosis Morbidity and Mortality of a Worldwide Epidemic. *JAMA* 1995; 273:220-26.
48. Shafer RW, Edlin BR. Tuberculosis in Patients infected with human immunodeficiency virus: perspective on the past decade. *Clin Infect Dis* 1996; 22:683-709.
 49. Menzies R, Vissandjee B. Effect of Bacille Calmette-Guerin vaccination on tuberculin reactivity. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:621-25.
 50. Ashley MJ, Siebenmann CD. Tuberculin Skin Sensitivity following BCG vaccination with vaccines of high and low viable counts. *Can Med Assoc J* 1967; 97: 1335-8.
 51. Landis S, Ashley MJ, Grzybowski S. Tuberculin Sensitivity following the intradermal and multiple puncture methods of BCG vaccination. *Can Med Assoc J* 1967; 97:222-5.
 52. Horwitz O e Bunch-Christensen K. Correlation between tuberculin sensitivity after 2 months and 5 years among BCG vaccinated subjects. *Bull World Health Org* 1972; 47:49-58.
 53. Litschitz, M. The value of the tuberculin skin test as a screening test for tuberculosis among BCG-vaccinated children. *Pediatrics* 1965; 36:624-7.
 54. Margus JH, Khassis Y. The Tuberculin sensitivity in BCG vaccinated infants and children in Israel. *Acta Tuberc Pneumonol Scand* 1965; 46:113-22.
 55. Joncas JH, Robitaille R, Gauthier T. Interpretation of the PPD Skin test in BCG-vaccinated children. *Can Med Assoc J* 1975; 113:127-8.
 56. Magnus K, Edwards LB. The effect of repeated tuberculin testing on post-vaccination allergy. *Lancet* 1955; 643-4.
 57. Lee VK, Revisão bibliográfica do teste tuberculínico nos dias de hoje. *Bol Pneum Sanit* 1998; 6(1):58-80.
 58. Lima LL, Geerhardt Filho G, Castro LB, Mesquita JF. Comparação da alergia tuberculínica induzida por três tipos de vacina Ver Div Nac Tuberc 1976; 20:177-215.
 59. Lima LL, Geerhardt Filho G, Castro LB. Ação programada de vacinação BCG intradérmica. Ver Serv Nac Tub 1972; 26:18.
 60. Ruffino-Neto A, Puntel de Almeida MC, Gomio DLS. Alergia tuberculínica pós-vacinação com BCG intradérmico e pós-infecção natural. Ver Div Nac Tub 1976; 20(77):19-27.
 61. Brólio R, Roseburg CP, Saloman G, Bellvomini M, Oshira JH, Nardy SM, Alves HA. Programa desenvolvido na pesquisa da sensibilidade tuberculínica e vacinação pelo BCG intradérmico, em escolares do 1º ano da rede municipal de ensino de São Paulo, durante o ano de 1971. *Rev Serv Nac Tub* 1974; 18:46.
 62. Divisão Nacional de Tuberculose. Vacinação pelo BCG. Bureau de Pesquisa da OMS. Rio de Janeiro (mimeografado) 1970.
 - 63 - Baily GVJ, Narain R, Mayunnath S, Vallishayee RS, Guld J. Trial of BCG vaccines in South India for Tuberculosis prevention; tuberculosis prevention trial. *Madras Indian J Med Res* 1980; 72(5):1-74.
 64. Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis. Division of Tuberculosis Elimination. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA. The Role of the BCG vaccine in the prevention and control of tuberculosis in the United States. A Joint Statement by the advisory Council for the Elimination of Tuberculosis and the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR* 1996; 45(RR-4):1-18.
 65. New York City Bureau of Tuberculosis Control. Clinical policies and protocols. 2ed. New York City Department of Health.
 66. Ruffino-Netto A, Lima Filho EC e Puntel de Almeida MC. Estudo da relação eritema- induração na prova tuberculínica-I. *Revista Medicina do CARL e da FMRP-USP* 1973; 6:11-122
 67. Camacho LAB e Klein CH. Risco de infecção tuberculosa entre escolares com alta cobertura pelo BCG. *Bol Of Sanit Panam* 1990; 108(2):100- 1.
 68. Oliveira HMV e Sant'Anna CC. Prova tuberculínica no diagnóstico da tuberculose em crianças: análise dos aspectos quantitativo e qualitativo. *Jornal de Pediatria* 2000;76(2):115-8. ■