

Influência do tamanho do frasco de tuberculina nos resultados da prova tuberculínica*

Influence of vial size on the results of the tuberculin test

ANTONIO RUFFINO-NETTO, AFRANIO LINEU KRITSKI, ELENY GUIMARÃES TEIXEIRA, CARLA CONCEIÇÃO DOS SANTOS LOREDO, DANIELLE NOVELO DE SOUZA, ANETE TRAJMAN

Introdução: A solução de tuberculina é armazenada em frascos de diferentes tamanhos. Sua adsorção ao frasco pode influenciar o resultado da prova tuberculínica.

Objetivo: Avaliar o efeito do tamanho do frasco de armazenamento da tuberculina nos resultados obtidos na prova tuberculínica.

Método: Sessenta e três pacientes internados com diagnóstico de tuberculose ativa foram submetidos a duas provas tuberculínicas simultâneas, em ambos os antebraços. A técnica usada foi a de Mantoux e consistiu na aplicação de 0,1 ml de tuberculina armazenada em frascos de 5 ml ou de 1,5 ml, no antebraço direito e no antebraço esquerdo, de forma aleatória. A leitura da induração foi efetuada de forma cega por um único leitor treinado previamente. As leituras com diferenças de até 2 mm foram consideradas resultados concordantes.

Resultados: Vinte e um pacientes não tiveram induração e foram excluídos da análise. Entre os 42 pacientes restantes, a média dos diâmetros das indurações obtidas nas provas com tuberculina armazenada nos frascos grandes foi maior do que as obtidas com a armazenada em frascos pequenos. A concordância entre as leituras foi obtida em 40,5% delas (17/42), e a diferença foi negativa (frasco grande menor que frasco pequeno) em 16,7% (7/42) e positiva em 42,9% delas (18/42).

Conclusão: O tamanho do frasco de armazenamento da tuberculina pode influenciar o resultado da prova tuberculínica. A adsorção da tuberculina à parede do frasco pode explicar o fenômeno. Os autores alertam para o impacto dessas variações nos estudos epidemiológicos e operacionais.

Background: Tuberculin purified protein derivative is stored in vials of various sizes. Its adsorption to the vial can influence the results of tuberculin tests.

Objective: To evaluate the effect of vial size on the results obtained in tuberculin tests.

Methods: Sixty-four inpatients with active tuberculosis were submitted to two simultaneous tuberculin tests using the Mantoux technique. Patients were randomly allocated to receive two 0.1-ml injections, either one in the right forearm from a 1.5-ml vial and one in the left forearm from a 5-ml vial or vice versa. Induration was determined in a blinded fashion by a single, previously trained observer. Right arm-left arm differences of 2 mm or less were considered concordant results.

Results: Twenty-one patients presented no induration and were excluded from analysis. Among the 42 remaining patients, mean induration diameters obtained in tuberculin tests using the larger vials were greater than those obtained in tests using the smaller vials. Concordance was achieved in 40.5% (17/42). The difference was negative (large-vial indurations smaller than small-vial indurations) in 16.7% (7/42) and positive in 42.9% (18/42).

Conclusions: The size of the vial may influence tuberculin test results. Adsorption to the sides of the vial may explain this phenomenon. The authors caution others to be aware of the impact of these variations in epidemiological and operational studies.

J Bras Pneumol 2005; 31(2): 144-8.

Descritores: Prova tuberculínica. Tuberculina. Frasco. Adsorção. PPD. Mantoux.

Key words: Tuberculin Skin Test. Tuberculin. Adsorption. PPD. Mantoux.

*Trabalho realizado na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP. Este estudo recebeu financiamento do Ministério da Ciência e Tecnologia do Brasil (Institutos do Milênio), NIH/ICIDR com bolsa de nº 1 U19 AI45432 e da *Fogarty Foundation* da Universidade Johns Hopkins. ABC Training Grant for Rio de Janeiro (ICIDR) Program, Fogarty International Center, NIH, (D43TW05574-04). Endereço para correspondência: Antônio Ruffino-Neto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Av. Bandeirantes, 3900. CEP: 14049-900. Ribeirão Preto - SP. E-mail: aruffino@fmrp.usp.br Recebido para publicação, em 22/3/04. Aprovado, após revisão em 10/12/04.

INTRODUÇÃO

A solução de tuberculina pode ser armazenada em frascos de diferentes tamanhos. A literatura tem registrado que mesmo frascos siliconizados podem adsorver o princípio ativo da solução⁽¹⁻³⁾. Esse fenômeno pode levar à diminuição da potência da tuberculina e, conseqüentemente, interferir nos resultados da prova tuberculínica (PT). Em artigo publicado em 1958, Waller *et al.* demonstraram que a intensidade da adsorção depende do tamanho do frasco, da potência da solução, e da temperatura na qual ela é armazenada, bem como da duração e da extensão do contato entre a solução e a superfície interior do frasco⁽⁴⁾. Com o objetivo de diminuir a adsorção da tuberculina ao frasco, a Organização Mundial da Saúde (OMS) utiliza, desde 1958, um diluente estabilizante denominado *Tween 80*.

A tuberculina utilizada no Brasil é o derivado proteico purificado Rt-23 (PPD-Rt 23), que possui equivalência biológica ao derivado proteico purificado *standard* (PPD-S). O PPD Rt-23 é produzido pelo *Statens Serum Institut (SSI)*, Copenhagem, Dinamarca, e até 1996 era distribuído gratuitamente pela OMS, após a reconstituição da solução. No Brasil, a solução era então diluída por laboratório da rede pública com *Tween 80* e armazenada em frascos de 5,0 ml. Nessa ocasião, cessou a parceria que existia entre a OMS, a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) e o *Statens Serum Institut* que garantia a gratuidade da distribuição dessa tuberculina aos países membros da Organização Pan-Americana de Saúde. A partir de então, a tuberculina (da mesma fonte de produção) passou a ser vendida para diversos países, com intermediação de laboratórios particulares (intermediação apenas para venda e sem envolvimento na produção ou armazenamento da mesma) e a ser disponibilizada em frascos de tamanhos distintos: de maior volume, com 5 ml, e de menor volume, com 1,5 ml, com cerca de 50 e 15 doses, respectivamente.

A PT tem sido amplamente utilizada em estudos longitudinais que avaliam o risco de infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis* e como teste diagnóstico de infecção em situações de risco, como é o caso do acompanhamento de profissionais de saúde. Nesses estudos, os resultados de testes seriados são freqüentemente comparados, e sua técnica de execução deve ser

padronizada. Há muitas publicações que destacam a ocorrência de erros na interpretação da PT por diferenças nas técnicas de aplicação e de leitura^(5,6).

Motivados pela preocupação de padronizar as ações dos profissionais de saúde envolvidos nos projetos operacionais desenvolvidos no Rio de Janeiro, diversos treinamentos foram conduzidos pelo Programa Acadêmico de Tuberculose do Instituto de Doenças do Tórax da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IDT/UFRJ). O presente estudo foi desenvolvido durante um desses treinamentos e teve como objetivo comparar os resultados das PT efetuadas com a mesma tuberculina, o PPD Rt-23, armazenada em frascos de tamanhos diferentes.

MÉTODO

Em junho de 2002, realizou-se um treinamento para capacitação de profissionais de saúde de diferentes instituições do Estado do Rio de Janeiro. O objetivo desse treinamento foi o de padronizar as ações desses profissionais para a aplicação e a leitura da PT, bem como o de avaliar e comparar os resultados de leituras obtidas com tuberculina armazenada em frascos de diferentes tamanhos. Nessa ocasião, 63 pacientes internados no Hospital Estadual Santa Maria, Rio de Janeiro (RJ), com diagnóstico de tuberculose (TB) ativa, foram submetidos à PT nos dois antebraços, direito e esquerdo. A PT foi realizada no mesmo instante e após consentimento informado.

A técnica utilizada foi a de Mantoux, com a aplicação de 0,1 ml (2UT) do PPD Rt-23 no terço médio de cada antebraço, com seringas (BD Plastipak, 1 ml, 13 x 3,8) e agulhas descartáveis (27,5G 1/2 PrecisionGild). A tuberculina havia sido conservada em refrigerador com temperatura que variou de 2 a 8 °C, protegida da luz solar, em frascos de dois tamanhos: de 5 ml com cerca de 50 doses, e de 1,5 ml com aproximadamente 15 doses.

As aplicações foram randomizadas aos pares, isto é, o primeiro paciente de um par recebeu a tuberculina de frasco grande no antebraço direito, o segundo recebeu a tuberculina de frasco pequeno no antebraço esquerdo, e assim sucessivamente até se esgotarem os pares casualizados.

A leitura foi realizada 72 horas após a aplicação, com o método de palpação do máximo diâmetro transversal da induração de cada um dos antebraços. Régua milimetrada própria para este fim foram

utilizadas, e o resultado registrado em milímetros. Um único leitor efetuou as leituras nos antebraços, de forma cega, isto é, desconhecendo o tamanho do frasco utilizado para o armazenamento da tuberculina aplicada. Cabe destacar que este leitor havia sido treinado previamente e apresentava concordância intra-observador de 97%.

O resultado foi considerado concordante quando havia uma diferença de até 2 mm entre as duas leituras. A média dos resultados de ambas as leituras foi comparada, bem como a proporção de casos concordantes e discordantes. Os resultados também foram classificados em positivos, definidos como induração ≥ 10 mm e negativos, com induração < 10 mm, e a concordância entre resultados positivos e negativos calculada. Os pacientes sem induração em ambas as provas foram excluídos da análise final. A frequência dos resultados concordantes e discordantes, positivos e negativos, foi analisada.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, da Universidade Federal do Rio de

Janeiro (HUCFF/UFRJ), como parte do projeto de pesquisa “Risco de infecção pelo *M. tuberculosis* entre estudantes de medicina no Estado do Rio de Janeiro”.

RESULTADOS

Vinte e um pacientes não apresentaram induração nas leituras de ambos os antebraços, e por esse motivo, foram excluídos da análise. Os 84 resultados das PT dos 42 pacientes restantes e as respectivas diferenças estão dispostos na Tabela 1.

Na Figura 1 é apresentada a distribuição dos resultados das PT de acordo com o frasco. Ao se utilizar como critério para resultados concordantes uma diferença de até 2 mm nas leituras dos antebraços direito e esquerdo (células cinzas), observa-se que apenas 40,5% (17/42) foram concordantes, 16,7% (7/42) tinham uma diferença negativa (frasco pequeno maior que frasco grande) e 42,9% (18/42) uma diferença positiva (frasco grande maior que frasco pequeno). Dentre os 25 discordantes, 72% foram diferenças positivas (18/25) e 28% negativas (7/25).

DISCUSSÃO

A PT, descrita no século XIX, é ainda hoje o melhor instrumento diagnóstico da infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis*⁽⁷⁾. Ela está indicada em pessoas que estão sob risco de infecção e de progressão desta para a doença, e que se beneficiariam do tratamento. Dessa forma, inquéritos tuberculínicos têm sido recomendados em profissionais de saúde, em indivíduos imunossuprimidos e em contatos de pacientes com TB ativa⁽⁸⁾. Apesar da existência de resultados falso-positivos e falso-negativos, esse é o método disponível e adequado para o diagnóstico da infecção latente por TB, uma das três estratégias do controle da TB, e é adotado tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento^(9,10).

Vários são os fatores que podem interferir no resultado da PT. As condições de transporte e de armazenamento, a técnica de aplicação e de leitura e os fatores biológicos são causas de erros. Ademais, a imunodepressão pode gerar resultados falso-negativos, e a elevada prevalência de micobacterioses não-tuberculosas e a vacinação BCG, resultados falso-positivos⁽¹¹⁾.

Neste estudo, identificou-se que a tuberculina armazenada em frascos grandes tende a produzir

TABELA 1

Distribuição das frequências da diferença da induração da prova tuberculínica realizadas com frascos grandes e pequenos em 42 pacientes com tuberculose ativa

Diferença dos resultados (grandes-pequenos)mm	Frequências	Porcentagem
-5	2	7
-4	3	
-3	2	
-2	2	17
-1	3	
0	1	
1	3	
2	8	
3	5	18
4	3	
5	4	
6	2	
7	2	
8	1	
9	1	
TOTAL	42*	42*
		100%

*21 pares foram excluídos já que ambos os resultados foram iguais a zero.

indurações maiores do que aquela armazenada em frascos pequenos. A Figura 1 e a Tabela 1 mostram que a maior parte das diferenças (72%) foram positivas (frasco grande maior que frasco pequeno). Cabe destacar que neste estudo, as seringas, as agulhas, a técnica de aplicação e de leitura, o leitor, os pacientes e a tuberculina foram os mesmos. A única diferença foi o tamanho dos frascos. Variações biológicas superiores a 6 mm têm sido aceitas quando provas seriadas são realizadas com o objetivo de detectar infecção recente por TB⁽¹²⁾. Variações biológicas podem explicar parte da diferença encontrada entre as indurações, mas nenhuma tendência para diferenças positivas seria esperada neste caso.

Uma das possíveis razões para o presente achado é a de que a relação volume de tuberculina por superfície interna do frasco oferecida para adsorção é menor nos frascos grandes, interferindo, desta forma, menos na potência da tuberculina⁽⁴⁾.

Recomenda-se que em estudos transversais de prevalência de infecção pelo *M. tuberculosis* e estudos longitudinais de conversão da prova

tuberculínica se utilizem frascos de tuberculina do mesmo tamanho para que os resultados possam ser comparados. Waller *et al.* mostraram que a potência da tuberculina declina com o passar do tempo por causa da adsorção da solução nas paredes do frasco⁽⁴⁾. Estes resultados reforçam os achados deste estudo. Distintas relações superfície interna e volume em frascos de diferentes tamanhos podem explicar este fenômeno. Por outro lado, entretanto, observa-se que a discordância entre resultados positivos e negativos não foi influenciada pelo tamanho do frasco, o que sugere que para uma única PT, qualquer um dos frascos pode ser usado. A amostra foi pequena e estudos subsequentes devem ser realizados para confirmar os achados.

Por fim, destaca-se que dentre os 63 pacientes com TB ativa estudados, 21 (33%) apresentaram provas negativas com ambas as tuberculinas, e 7 tiveram resultado negativo, mesmo com tuberculina de frasco grande. Como se sabe, a PT pode ter resultado falso-negativo em indivíduos sabidamente acometidos pela TB. A presença de co-morbidades,

Frascos Pequenos (mm)	Frascos Grandes (mm)																							
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
0	21																							
1																								
2									1															
3											1													
4						1		1																
5										1	1													
6						1						1												
7																								
8											1	1												
9						1																		
10								1	1	1			1				1		1					
11														1	1	1	1					1		
12									1						2		1							
13									1			1											1	
14															1		1	1						
15												2					1	1						
16												1						1					1	
17																	1					1		
18																						1		

Figura 1. Distribuição de resultados de prova tuberculínica entre pacientes com tuberculose ativa, de acordo com o tamanho do frasco

a desnutrição proteico-calórica, a ocorrência de febre no período de realização da PT e a gravidade da TB estão relacionadas às variações dos resultados^[13]. Outro fato recentemente descrito por Tristão *et al.* refere-se à associação entre imunomodulação induzida por infecções helmínticas e tuberculose^[14].

Em conclusão, os resultados deste estudo devem ser um alerta para os pesquisadores que venham a avaliar o risco de infecção tuberculosa em estudos longitudinais, assim como para os que pretendam estabelecer comparações entre prevalências em estudos transversais. Alterações nos tamanhos das indurações antes de significarem infecção pelo *M. tuberculosis* poderão apenas indicar erros de leitura e/ou de interpretação devido à utilização de tuberculinas com potências diferentes, por causa da variação de adsorção em frascos de diferentes tamanhos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Dra Hedi Melo, Diretora do Hospital Estadual Santa Maria, a todos os profissionais do Programa de Controle da Tuberculose Hospitalar, Instituto de Doenças do Tórax da Universidade Federal do Rio de Janeiro que possibilitaram a realização desta pesquisa operacional e a Susan Dorman da Universidade Johns Hopkins, pela revisão do texto.

REFERÊNCIAS

1. Carneiro J. Contribuições ao estudo da alergia tuberculínica. Revista do Serviço Nacional de Tuberculose 1964, 8: 31-86.
2. Magnus K. Instability of the potency of tuberculin dilutions. A second report. Amer Rev Tuberc 1956,74: 297.
3. Ruffino-Netto A. Prova tuberculínica. Revista da Associação Médica Brasileira, 1979,25:257-9.
4. Waaler H, Guld J, Magnus K. Adsorption of tuberculin to glass. Bull WHO 1958, 19: 783-98
5. Ruffino-Netto A, Terual JR, Duarte GG. Método de avaliação do treinamento de Pessoal Para-Médico para Efetuar a Prova Tuberculínica. Rev. Nac. Tub.1968, 12: 355- 66.
6. Menzies D. Interpretation of Repeated Tuberculin Tests. Boosting, Conversion and Reversion. Am J Respir Crit Care Med 1999;159:15-21.
7. American Thoracic Society, Centers for Disease Control and Prevention. Targeted Tuberculin Testing and Treatment of Latent Tuberculosis Infection. Am J Respir Crit Care Med 2000;161: 221-47.
8. Small PM, Fujiwara PI. Management of Tuberculosis in the United States. N Engl J Med 2001;345:189-200.
9. Kuemmerer J, Comstock G. Sociologic Concomitants of Tuberculin Sensitivity. Amer Rev Respir Dis 1967;96:885-92.
10. Chaisson RE. New Developments in the Treatment of Latent Tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 2000;4: 176-81.
11. Committee of the Scientific Assembly on Tuberculosis. American Thoracic Society. The Tuberculin Skin Test. ATS Statement. 1981;356-63.
12. Menzies D. Interpretation of Repeated Tuberculin Tests: Boosting, Conversion and Reversion. Am J Respir Crit Care Med 1999;159:15-21.
13. American Thoracic Society. Centers for Disease Control and Prevention. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. Am J Respir Crit Care Med 2000;161: 1376-95.
14. Tristão R, Pereira FEL, Rodrigues RR, Dietze R. Tuberculose e estrogiloidiase: uma possível associação. I Workshop Rede-TB. Rede Brasileira de Pesquisa em Tuberculose (TB Brazilian Network). Rio de Janeiro 15-18 de setembro de 2002. CE 01, p. 20.