

## IMUNIDADE CELULAR E HUMORAL NA TUBERCULOSE PULMONAR ATIVA

I — Estudo em reatores a 2 unidades de PPD

M. F. MAGARÃO, A. OLIVEIRA-LIMA, Daniel Sétte CAMARA, H. K. MASSUDA e G. G. Rocha FERREIRA

### RESUMO

Foram estudados 46 pacientes tuberculosos, com baciloscopia positiva, divididos em dois grupos, 20 reatores a 2U de PPD — RT 23 e 26 não-reatores. Neste último grupo, os valores obtidos sugerem a existência de certa deficiência da imunidade celular, considerados os números absolutos de linfócitos, de linfócitos T e de linfócitos T-ativos do sangue circulante. Nos reatores a 2U apenas os teores absolutos de linfócitos T-ativos tinham significado quando comparados aos valores médios encontrados na população normal. Os resultados da prova de inibição da migração dos leucócitos não tem significado estatístico quando da comparação dos dois grupos entre si (reatores e não-reatores), pois têm valores similares nos dois grupos.

### INTRODUÇÃO

Os indivíduos infectados com o *M. tuberculosis*, em geral desenvolvem, simultaneamente, um estado de resistência (resistência adquirida) à invasão dos bacilos e o de hipersensibilidade retardada às suas frações antigênicas, ambos na dependência de vários fatores, tais como o número, a virulência e a via de penetração dos bacilos, o estado funcional do sistema linforeticular e das condições genéticas do hospedeiro. A razão pela qual certo percentual de indivíduos, variável entre os diferentes pesquisadores 12, 13, 15, 19, 23, adquire tuberculose pulmonar ativa e não desenvolve simultaneamente o estado de hipersensibilidade cutânea retardada às tuberculoproteínas, apesar de não apresentar nenhuma das condições anergizantes conhecidas, continua objeto de especulação. Dentre as hipóteses formuladas para explicar a ausência dessa reatividade cutânea na tuberculose pulmonar ativa, figura a de que esses doentes sejam portadores de certo estado de deficiência da imunidade celular.

Com a finalidade de obter informações que possibilitassem análise dessa hipótese,

vários planos de pesquisa foram programados no Centro de Pesquisas "Arlindo de Assis" e na Divisão de Imunopatologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, onde alguns ainda se acham em andamento. Nesta publicação apresentamos os primeiros resultados obtidos em dois grupos de pacientes com tuberculose pulmonar ativa: um reator e outro não-reator a 2U de PPD.

### MATERIAL E MÉTODOS

**Seleção de doentes** — Os doentes com tuberculose pulmonar comprovada (presença de bacilos no escarro) admitidos ao Hospital Estadual Clemente Ferreira e logo submetidos aos testes intradérmicos com 2U de PPD (Rt-23, Statens Seruminstitut Copenhagen), eram classificados em reatores e não-reatores a esta substância. As reações cutâneas eram consideradas positivas quando apresentavam, ao fim de 72 horas, induração local com diâmetro a partir de 5 mm. Os testes eram praticados injetando-se 0,1 ml da solução de PPD por

Trabalho realizado com auxílio do CNPq

Centro de Pesquisas ARLINDO DE ASSIS, da Fundação Ataulpho de Paiva e Divisão de Imunopatologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil

via intradérmica na face anterior de um dos antebraços.

Os bacilos álcool-ácido resistentes cultivados a partir do escarro de todos os doentes foram submetidos à tipagem e aos testes de sensibilidade a drogas tuberculostáticas (INH, SM e PAS).

Foram selecionados para estudo 46 doentes com tuberculose pulmonar, 20 reatores e 26 não-reatores a 2U de PPD (40 ng de proteína), todos do sexo masculino, com idade entre 16 e 59 anos.

**Plano de estudos** — Após seleção e classificação dos doentes, com tuberculose pulmonar comprovada, em reatores e não-reatores, todos foram submetidos às provas visando esclarecer o estado da atividade dos seus linfócitos T (imunidade celular) e B (imunidade humoral). De cada paciente, em jejum, foram colhidos 20 ml de sangue venoso contendo 500 unidades de heparina. Após a separação dos leucócitos pela mistura Ficoll-Hypaque, o plasma era conservado a -20°C até o momento da execução das provas sorológicas. Feita a colheita do sangue, os pacientes se submetiam aos testes intradérmicos com fito-hemaglutinina.

**Dosagem das imunoglobulinas no soro** — Realizada pela imunodifusão radial utilizando-se de placas fornecidas por Behringwerke.

**Pesquisa de anticorpos precipitantes ao PPD** — Realizada segundo a técnica de difusão dupla em gel e agarose, usando-se PPD em diferentes concentrações. Leitura das placas em 24 e 48 horas depois de incubação em câmara úmida, à temperatura ambiente.

**Pesquisa de anticorpos hemaglutinantes ao PPD** — Realizada pela hemaglutinação passiva com PPD conjugado a hemácias ORH-negativo pelo cloreto crômico<sup>28</sup>.

**Contagem global e diferencial dos linfócitos do sangue periférico** — Determinação em sangue em jejum.

**DETERMINAÇÃO DOS LINFÓCITOS T**, segundo a técnica de LAY & col.<sup>18</sup> e dos **Linfócitos T-ativos**, segundo WYBRAN & col.<sup>37</sup>. Os linfócitos para estas provas eram lavados 3 vezes em solução de Hanks. Para a determinação dos linfócitos T-ativos 0,05 da suspen-

são contendo  $1 \times 10^7$  células eram incubadas com 0,05 ml de soro-albumina humana a 37°C durante 1 hora.

**DETERMINAÇÃO DOS LINFÓCITOS B** — Segundo a técnica de LAY & NUSSENZWEIG<sup>17</sup>, usando-se complemento humano para a preparação de hemácias sensibilizadas na forma EAC.

**Teste de inibição da migração dos macrófagos** — Segundo a técnica de SOBORG & BENDIXEN com modificações feitas por ROSEMBERG & col.<sup>31</sup>. O índice de migração foi calculado pela fórmula:

$$IM = \frac{\text{área de migração na presença do estímulo}}{\text{área de migração na ausência do estímulo}}$$

Valores do índice de migração inferiores a 0,8 eram considerados como significativos de inibição de migração. O PPD foi empregado na concentração de 50 µg/ml.

**Teste intradérmico com fito-hemaglutinina** — Injeção intradérmica de 0,1 ml de uma solução contendo 5 µg por 0,1 ml de FHA e leitura das reações ao fim de 24-48 horas, nos moldes estabelecidos por BLAESE & col.<sup>1</sup>.

\* \* \* \* \*

Os dados experimentais (n) foram representados sob sua forma estatística de média e desvio padrão. Na comparação das médias dos dois grupos (reatores e não-reatores a 2U de PPD), utilizamos o teste t de Student para pequeno número de amostras; o t experimental obtido foi expresso pela sua probabilidade P em correspondência com o grau de liberdade.

## RESULTADOS

A Tabela I condensa os resultados das dosagens de globulinas e de anticorpos contra PPD nos dois grupos de pacientes com tuberculose pulmonar ativa, reatores e não-reatores a 2 U de PPD. Como se poderá ver, nenhum dos pacientes apresentava anticorpos precipitantes reveláveis pela prova da difusão dupla em gel e agarose, usando-se soros não diluídos contra diferentes concentrações de PPD (15, 30, 63, 125, 250 e 500 µg/ml). Anticorpos hemaglutinantes contra hemácias ORH-negativas conjugadas com PPD pelo clo-

reto crônico, foram encontrados em 7 (27%)  
 pacientes não-reatores e 5 (23% + reatores).  
 Os títulos hemaglutinantes oscilaram entre 1:4  
 e 1:128 nos pacientes não-reatores e 1:4 e 1:8  
 nos reatores. Os teores de imunoglobulina do  
 soro determinados por imunodifusão ra-

dial oscilaram entre os seguintes valores mé-  
 dios com os respectivos desvios padrões: não-  
 reatores: IgG 2409 ± 930 mg%; IgM 174 ± 130  
 mg%; IgA 611 ± 368 mg%; reatores (a 2U de  
 PPD) IgG 3132 ± 1288 mg%; IgM 146 ± 71 mg%  
 e IgA 326 ± 76,9 mg%.

TABELA I

Pacientes com tuberculose pulmonar ativa

Teor sérico de globulinas e de anticorpos contra PPD em reatores e não-reatores a 2U de PPD

( $\bar{x} \pm S$ )

Grupos	Anticorpos Anti - PPD				Globulinas (mg%)		
	Precipitinas		Hemaglutininas		IgG	IgM	IgA
	Positivas	Negativas	Positivas	Negativas			
Não-reatores a 2 U de PPD	0	26	7 (27%)	19 (73%)	2409 ± 930,5 (n=23)	174 ± 130,9 (n=23)	611 ± 368,9 (n=23)
Reatores a 2 U de PPD	0	20	3 (23%)	17 (77%)	3132 ± 1288,6 (n=18)	146 ± 71,8 (n=18)	326 ± 76,8 (n=18)
Teste t probabilidade P	—	—	—	—	P < 0,025	Insignificantes	Insignificantes

Teores normais de imunoglobulinas séricas: IgG = 1200 ± 600 mg% — IgM = 80 ± 30 mg% — IgA = 228 ± 121 mg%

Conforme se poderá ver na Tabela I, os  
 reatores a 2U de PPD acusaram valores de  
 IgG mais elevados do que os do grupo não-  
 reator (P < 0,025). Esse fenômeno não foi  
 observado com as globulinas IgA e IgM.

As dosagens de globulinas (IgG, IgA,  
 IgM) nos dois grupos de pacientes apresenta-  
 ram-se superiores aos valores encontrados na  
 população normal, com significado estatísti-  
 co (Tabela II).

TABELA II

Pacientes com tuberculose pulmonar ativa

Comparação das concentrações séricas em imunoglobulinas dos grupos reatores e não-reatores com as respectivas  
 paramétricas de indivíduos normais

Grupo	Concentração em imunoglobulinas (mg%) ( $\bar{X} \pm S$ )	Teste t Probabilidade P	Indivíduos normais (mg%) ( $\mu \pm \sigma$ )
Não- reatores a 2 U PPD	2409	P < 0,0005	1200
	IgG ± 930		± 600
	174	P < 0,0025	80
	IgM ± 130		± 30
Reatores a 2 U PPD	611	P < 0,0005	228
	IgA ± 368		± 121
	3132	P < 0,0005	1200
	IgG ± 1288		± 600
Reatores a 2 U PPD	146	P < 0,0005	80
	IgM ± 71,8		± 30
	326	P < 0,0005	228
	IgA ± 76,9		± 121

Na Tabela III estão condensados os resultados das contagens absoluta e relativa dos linfócitos, linfócitos T, T-ativo e dos linfócitos B do sangue periférico nos dois grupos de doentes com tuberculose pulmonar ativa. Como se poderá verificar, os números absolutos dos linfócitos do sangue periférico dos pacientes não-reatores foi de  $1781 \pm 583/\text{mm}^3$  e dos reatores de  $2465 \pm 872/\text{mm}^3$ , o que revela entre eles uma diferença significativa ( $P < 0,005$ ). O percentual de linfócitos nesses

dois grupos de doentes (não-reatores:  $25 \pm 9\%$ ; reatores  $33 \pm 3\%$ ), mostrou-se também significativo ( $P < 0,025$ ). Chama a atenção o fato de ter havido diferenças significativas nos teores de linfócitos T (não-reatores:  $737 \pm 262/\text{mm}^3$ ; reatores:  $1107 \pm 319/\text{mm}^3$ ) com  $P < 0,0005$ , e dos linfócitos T-ativos (não-reatores:  $237 \pm 170/\text{mm}^3$ ; reatores:  $361 \pm 182/\text{mm}^3$ , com  $P > 0,025$ . Não houve diferença significativa, no entanto, nos percentuais dos linfócitos T e T-ativos.

TABELA III

Pacientes com tuberculose pulmonar ativa

Valores relativos e absolutos dos linfócitos do sangue periférico nos grupos reatores e não-reatores a 2U de PPD

Comparação das médias respectivas

( $\bar{x} \pm S$ )

Grupos	Linfócitos		Linfócitos T		Linfócitos T ativos		Linfócitos B	
	Contagem global $n^\circ/\text{mm}^3$	Percentual 0/0	Valores absolutos $n^\circ/\text{mm}^3$	Percentual 0/0	Valores absolutos $n^\circ/\text{mm}^3$	Percentual 0/0	Valores absolutos $n^\circ/\text{mm}^3$	Percentual 0/0
Não reatores a 2 U PPD	$1781 \pm 583,6$ (n = 21)	$24,8 \pm 9,4$ (n = 20)	$737 \pm 262,3$ (n = 21)	$42,2 \pm 7,3$ (n = 25)	$237, \pm 170,4$ (n = 20)	$13, \pm 6,1$ (n = 24)	$799, \pm 187,7$ (n = 20)	$22,4 \pm 7,5$ (n = 24)
Reatores a 2 U PPD	$2465 \pm 871,7$ (n = 17)	$33,3 \pm 13,3$ (n = 16)	$1107 \pm 319,2$ (n = 17)	$45,4 \pm 5,7$ (n = 20)	$361,6 \pm 182$ (n = 17)	$13,3 \pm 4,6$ (n = 20)	$531 \pm 191,1$ (n = 17)	$22,5 \pm 6,67$ (n = 20)
Teste t Probabilidade P	$P < 0,005$	$P < 0,025$	$P < 0,0005$	$P > 0,05$ (*)	$P > 0,01$ (*)	$P > 0,4$ (*)	$P < 0,0005$	$P > 0,47$ (*)

(\*) insignificante

Também os valores absolutos dos linfócitos B do sangue periférico (não-reatores:  $799 \pm 187/\text{mm}^3$ ; reatores:  $531 \pm 191/\text{mm}^3$ ) se encontraram significativamente elevados nos doentes não-reatores ( $P < 0,0005$ ). Já os percentuais desses linfócitos não acusaram diferenças com significado estatístico ( $P > 0,4$ ).

Na Tabela IV encontramos os valores absolutos da contagem global de linfócitos, linfócitos T, B e T-ativos comparados com os valores encontrados na população normal. Os títulos dos linfócitos T e B dos doentes reatores a 2U de PPD não tiveram significado estatístico em relação à população normal enquanto que os valores do grupo não-reator

foram altamente significativos ( $P < 0,0005$  para LT e LB). Todavia, a comparação das médias dos linfócitos T-ativos nos dois grupos foi a de  $P < 0,01$ .

Os resultados dos testes de inibição da migração dos leucócitos do sangue periférico (Tabela V), usando como antígeno PPD ( $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ ), não mostraram diferenças significativas ( $P > 0,3$ ) nos índices achados nos dois grupos de doentes (não-reatores:  $0,64 \pm 0,24$ ; reatores:  $0,61 \pm 0,2$ ). Resultados semelhantes foram obtidos usando a fito-hemaglutinina como agente blastogênico ( $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ ); não-reatores:  $0,29 \pm 0,21$ ; reatores:  $0,26 \pm 0,11$  ( $P > 0,45$ ).

TABELA IV

Pacientes com tuberculose pulmonar ativa

Comparação dos valores absolutos dos linfócitos, linfócitos-T, T-ativas, B dos grupos reatores e não-reatores com os respectivos valores normais paramétricos

Grupos	Concentração em linfócitos/mm <sup>3</sup> ( $\bar{X} \pm S$ )	Teste t Probabilidade P	Indivíduos normais ( $\mu \pm \sigma$ )
Não-reatores a 2 U PPD	Linfócitos totais $\pm$ 586 1781 737	P < 0,0025	2250 $\pm$ 750 1260
	Linfócitos-T $\pm$ 262 237	P < 0,0005	$\pm$ 139 472
	Linfócitos-T ativos $\pm$ 170 799	P < 0,0005	$\pm$ 99 585
	Linfócitos-B $\pm$ 187	P < 0,0005	$\pm$ 139
Reatores a 2 U PPD	Linfócitos totais $\pm$ 871 2465 1107	Insignificante	2250 $\pm$ 750 1260
	Linfócitos-T $\pm$ 319 361	Insignificante	$\pm$ 139 472
	Linfócitos-T ativos $\pm$ 182 531	P < 0,0125	$\pm$ 99 585
	Linfócitos-B $\pm$ 191	Insignificante	$\pm$ 139

TABELA V

Pacientes com tuberculose pulmonar ativa

Inibição da migração de leucócitos em presença de PPD e de fito-hemaglutinina (FHA), nos grupos reatores e não-reatores

( $\bar{x} \pm S$ )

Grupos	Índice de inibição da migração de leucócitos	
	PPD (50 $\mu$ g/ml)	FHA (5 $\mu$ g/ml)
Não-reatores a 2 U PPD	0,64 $\pm$ 0,24 (n = 25)	0,29 $\pm$ 0,21 (n = 25)
Reatores a 2 U PPD	0,61 $\pm$ 0,20 (n = 20)	0,26 $\pm$ 0,11 (n = 19)
Teste t Probabilidade P	Insignificante	Insignificante

Na Tabela VI estão os resultados dos testes intradérmicos utilizando 5  $\mu$ g de fito-hemaglutinina em 0,1 ml e leitura em 24-48 horas (registro do eritema e da induração). Os

pacientes reatores revelaram maior sensibilidade cutânea ( $7,9 \pm 2,98$  mm) do que os não-reatores ( $6,1 \pm 2,59$ ) com  $P > 0,0125$  e  $< 0,025$ .

TABELA VI

Pacientes com tuberculose pulmonar ativa

Testes intradérmicos com fito-hemaglutinina (FHA), nos grupos reatores e não-reatores

( $\bar{x} \pm S$ )

Grupos	Leitura em mm 24-48 horas após injeção da FHA (5 $\mu$ g/0,1 ml)
Não-reatores	$6,1 \pm 2,59$
Reatores	$7,9 \pm 2,98$
Teste t Probabilidade P	$0,0125 < P < 0,025$

## DISCUSSÃO

Os resultados de nossos estudos em 46 pacientes com tuberculose pulmonar ativa, 20 reatores e 26 não-reatores a 2U de PPD, sugerem a existência nestes, de certo grau de deficiência da imunidade celular. O grupo não-reator apresentou baixa significativa, em face de controles normais da mesma faixa etária, nos números absolutos da contagem global de linfócitos, linfócitos T e T-ativos (Tabela III). O mesmo não ocorreu com o grupo de pacientes reatores a 2U de PPD em que apenas os teores absolutos de linfócitos T-ativos tinham significado quando comparados aos valores médios encontrados na população normal. Falam em sentido contrário, no entanto, os resultados das provas com a inibição de migração dos leucócitos, onde os índices oscilaram em torno de 0,62 com 50  $\mu$ g de PPD e de 0,26 com 5  $\mu$ g de FHA, sem significado estatístico quando da comparação dos dois grupos entre si (reatores e não-reatores).

A existência de um estado de deficiência funcional dos linfócitos T e T-ativos na tuberculose pulmonar poderia explicar porque certos doentes não reagem nos testes com 2U de PPD. Existiria, nestes doentes, maior grau de deficiência da imunidade celular, o que

explicaria a sua hiporeatividade a doses muito pequenas do antígeno. Comparando-se os resultados das pesquisas nos doentes não-reatores com as do grupo controle, estes também com tuberculose pulmonar ativa, mas reatores a 2U de PPD, vê-se que os pacientes não-reatores apresentam, em números estatisticamente significativos, além de maior redução nas taxas absolutas e percentuais dos linfócitos circulantes, maior redução nas taxas absoluta dos linfócitos T e T-ativos e menor reatividade nos testes intradérmicos com 5  $\mu$ g de FHA. Estes resultados poderiam ser interpretados com reveladores de maior grau de deficiência da atividade biológica dos linfócitos timo-dependentes dos doentes não-reatores. O fato de não haver ocorrido, nos dois grupos de doentes, diferenças significativas no percentual dos linfócitos T e T-ativos circulantes, e o de não terem sido de valor estatístico as diferenças encontradas no índice de inibição de migração dos leucócitos estimulados com PPD e FHA, recomenda certa cautela nas conclusões definitivas sobre o assunto.

A julgar pelos teores de imunoglobulinas do soro (aumento de IgG nos doentes reatores ao PPD) e pelo comportamento dos linfócitos B (aumento do número absoluto nos pacientes não-reatores), a imunidade humoral

na tuberculose pulmonar ativa também poderá sofrer alterações, as quais estariam na dependência das variações que ocorressem na capacidade funcional dos linfócitos timo-dependentes.

Nossos resultados suscitam comentários sobre alguns tópicos de maior interesse sobre a imunidade celular e a hipersensibilidade cutânea retardada na tuberculose pulmonar.

A relação entre hipersensibilidade cutânea retardada ao PPD e a imunidade celular ainda não está satisfatoriamente esclarecida. A estreita associação entre os dois fenômenos tem levado alguns pesquisadores<sup>20,21</sup> a admitir que essa hipersensibilidade cutânea ao PPD seja o responsável direta pelo aumento da resistência nas infecções por bacilos virulentos. As evidências de que os dois fenômenos possam estar dissociados<sup>29,30</sup> são severamente criticados por MACKANESS<sup>21</sup>.

Tem sido encontrada excelente correlação entre a hipersensibilidade cutânea retardada ao PPD e a transformação blástica dos linfócitos, *in vitro*, mostrando que essa prova reflete o estado de sensibilidade específica dos linfócitos ao PPD 2, 4, 7, 25, 34, 35. Nem sempre essa correlação se verifica. SENYK & HADLEY<sup>34</sup>, por exemplo, encontraram 6 pacientes com anergia cutânea nos quais achava-se normal a estimulação blástica com PPD. Para alguns Autores<sup>33</sup> a capacidade dos linfócitos sensibilizados de reagir ao antígeno, *in vitro*, constitui medida mais sensível da hipersensibilidade do que a reatividade cutânea. Segundo NILSSON<sup>26</sup>, mesmo os linfócitos de indivíduos com fraca reatividade cutânea ao PPD sofrem transformação blástica quando cultivados em presença de maior concentração de PPD. Na opinião de OPPENHEIM<sup>27</sup>, a transformação blástica dos linfócitos de indivíduos previamente vacinados com BCG, pode ocorrer antes da reatividade cutânea a pequenas doses de PPD, e que essa transformação requer menor número de linfócitos sensibilizados do que o necessário para que a reação cutânea se positive. Outros Autores<sup>35</sup> também observaram tal ocorrência.

Muitos dos pacientes com tuberculose pulmonar ativa e não-reatores a 5U de PPD, estudados por SMITH & REICHMAN<sup>35</sup> apresentavam linfopenia por ocasião dos testes cutâ-

neos, embora acusassem transformação blástica dos linfócitos. A queda dos linfócitos foi insuficiente para uma reação positiva com pequenas doses de PPD, mas bastante para sua transformação blástica. A linfopenia na tuberculose pulmonar ativa poderia ser facilmente explicada pelo sequestro dos linfócitos comprometidos para o foco infeccioso do pulmão. MCFARLAND & HEILMAN<sup>24</sup>, são de opinião que toda condição capaz de provocar linfopenia pode levar a um teste cutâneo negativo com pequenas doses de PPD.

MILLER & JONES<sup>25</sup> são de opinião que a inibição da migração de macrófagos é mais específica do que a transformação blástica dos linfócitos e está mais estreitamente correlacionada à hipersensibilidade cutânea retardada. ROSEMBERG & col.<sup>31</sup>, usando como antígeno 100 µg de PPD, confirmaram essa correlação. A possibilidade de haver inibição da migração dos macrófagos por complexos antígeno-anticorpo deve ser sempre lembrada quando os leucócitos são cultivados em presença de soro autólogo.

Posto que os testes cutâneos com 2 e 5U de PPD sejam geralmente considerados de grande valor diagnóstico na tuberculose pulmonar, há doentes que não reagem a essas doses<sup>12,13,15,19,23</sup>. Os estados de anergia cutânea tem sido descritos em inúmeras condições, específicas e inespecíficas<sup>12,15</sup>. Nas estatísticas de HOLDEN<sup>12</sup>, 19% dos pacientes com tuberculose pulmonar ativa não reagiam a 5U de PPD estabilizado com Tween.

Os parâmetros de maior importância no estudo da reatividade cutânea ao PPD, e que foram rigorosamente observados em nossos estudos, incluem o emprego de PPD estabilizado com Tween, execução correta dos testes intradérmicos e interpretação segura das reações obtidas. DUBOCZY<sup>6</sup> é de opinião que as reações classificadas como duvidosas a 1U de PPD podem ser específicas e que somente as dimensões da área de reação não deveriam ser utilizadas para classificar o doente como não-reator.

Embora se admita que anticorpos específicos possam bloquear a reação cutânea a doses pequenas de PPD, essa ocorrência não parece ter interferido em nossos doentes.

A presença de anticorpos linfocitotóxicos no sangue de pacientes com tuberculose pulmonar poderia explicar certos achados contraditórios de alguns pesquisadores<sup>38</sup>. Essa possibilidade deverá ser considerada na interpretação as reações cutâneas retardadas ao PPD, bem como na avaliação das provas de transformação blástica dos linfócitos e na inibição de migração de macrófagos.

A hipótese formulada por VAN EPPS & col.<sup>36</sup> de que a inibição da reação cutânea com 5U de PPD em pacientes com tuberculose pulmonar ativa poderia depender da presença de um fator inibidor da quimiotaxia, não pôde ser estudada em nossos doentes.

#### S U M M A R Y

**Cellular and humoral immunity in active pulmonary tuberculosis. A study in patients reacting to two units of PPD.**

Forty-six patients with tuberculosis, with positive smears, were studied. They were divided in two groups: one composed of 20 reactors to 2U of PPD RT 23; the other 26 were non-reactors. In this last group, the data obtained suggest the existence of some degree of cellular deficiency, considering the absolute values of lymphocytes, of T lymphocytes and of active-T lymphocytes.

In the group which reacted to 2 U, only the absolute values of T lymphocytes had any significance when compared to the average values found in the normal population.

The results of the leukocytes inhibition migration tests showed no statistical significance when the two groups (reactors and non-reactors) were compared, since the results were similar in both groups.

#### A G R A D E C I M E N T O S

Os Autores agradecem ao Dr. ANIBAL FERREIRA DA CUNHA, Diretor do Hospital Estadual Clemente Ferreira e à Enfermeira FERNANDA W. PASSOS, pela ajuda que deram à realização deste trabalho.

A análise estatística dos resultados foi realizada pelo Dr. LOUIS BARRUCAND, a quem agradecemos.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BLAESE, R. M.; WEIDEN, S.; OPPENHEIM, J. J. & WALDMANN, T. A. — Phytohemagglutinin as a skin test for the evaluation of cellular immune competence in man. *J. Lab. Clin. Med.* 81:538-547, 1973.
2. CHAPARAS, S. D.; SHEAGREN, J. N.; DEMEO, A. & HEDRICK, S. — Correlation of human skin reactivity with lymphocyte transformation induced by Mycobacterial antigens and histoplasmin. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 101:67-73, 1970.
3. COMSTOCH, G. N.; FURCOLOW, M. L. & ED ARDS, P. Q. — The tuberculin skin test. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 104:769-775, 1971.
4. DANIEL, T. M. & HINZ, C.F. — Reactivity of purified proteins and polysaccharides from *Mycobacterium tuberculosis* in delayed skin test and cultured lymphocyte mitogenesis assays. *Infect. Immunity* 9:44-47, 1974.
5. DIENA, B. B. — Problems in the serodiagnosis of tuberculosis. *Ann. Int. Med.* 75:132-133, 1971.
6. DUBOCZY, B. — Pratical significance of booster effect of delayed type of skin test. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 163:719-721, 1971.
7. EDWARDS, P. Q. — Significance of the tuberculin skin test today. *Nat. Tuberc. Bull.* 3:1-3, 1970.
8. EDWARDS, P. Q. — Tuberculin Negative? *N. Engl. J. Med.* 286:373-374, 1972.
9. GREENBERG, R. A. & JEKEL, J. F. — Some problems in the determination of the false positive and false negative rates of tuberculin tests. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 100:645-650, 1969.
10. GUMP, D. W.; FEKETY, F. R.; URBANETTI, J. & NOSENZO, C. — Studies of human leukocyte culture as an *in vitro* test of delayed hypersensitivity. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 95:470-476, 1967.
11. HALLIBURTON, B. L. & BLAZTOVEC, A. A. — Delayed hypersensitivity and acquired cellular resistance in guinea-pigs infected with *Listeria monocytogenes*. *Infect. Immunity* 11:1-7, 1975.
12. HOLDEN, M.; DUBIN, M. R. & DIAMOND, P.H. — Frequency of negative intermediate strength tuberculin sensitivity in patients with active tuberculosis. *N. Engl. J. Med.* 285:1506-1509, 1971.
13. HOWARD, W. L.; KLOPFENSTEIN, M. D.; STEININGER, W. J. & WOODRUFF, C. E. — The loss of tuberculin sensitivity in certain patients with active pulmonary tuberculosis. *Chest* 57:530-534, 1970.
14. KALTREIDER, E.; SOGHOR, D.; TAYLOR, B. J. & DECKER, J. L. — Capillary tube migration for detection of human delayed hypersensitivity difficulties encountered with «buffy coat» cells and tuberculin antigen. *J. Immunol.* 103:179-184, 1969.

15. KENT, D. C. & SCHWARTZ, R. — Active pulmonary tuberculosis with negative tuberculin skin reaction. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 93:411-418, 1967.
16. KERBY, G. F. — Correlation of tuberculin skin reaction with *in vitro* lymphocyte transformation. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 97:904-908, 1968.
17. LAY, W. H. & NUSSENZWEIG, V. — Receptors for complement on leukocytes. *J. Exp. Med.* 128:991, 1968.
18. LAY, W. H.; MENDES, N. F.; BIANCO, C. & NUSSENZWEIG, V. — Binding of sheep red blood cells to a large population of human lymphocytes. *Nature (London)* 230:531-532, 1971.
19. LESTER, C. F. & ATWELL, R. J. — The tuberculin skin reaction in active pulmonary tuberculosis. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 78:399-411, 1958.
20. MACKANESS, G. B. — The immunological basis of acquired cellular resistance. *J. Exp. Med.* 120:105-120, 1964.
21. MACKANESS, G. B. — The relationship of delayed hypersensitivity to acquired cellular resistance. *Brit. Med. Bull.* 23:52-54, 1967.
22. MACKANESS, G. B. — The immunology of anti-tuberculous immunity. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 97:337-344, 1968.
23. MASCHER, W. — Tuberculin negative tuberculosis. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 63:501-525, 1951.
24. MCFARLAND, W. & HEILMAN, D. H. — Comparison of lymphocyte transformation and intradermal reaction to tuberculosis. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 93:742-748, 1966.
25. MILLER, S. D. & JONES, H. E. — Correlation of lymphocyte transformation with tuberculin skin test sensitivity. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 107:530-535, 1973.
26. NILSSON, B. S. — The response of lymphocytes from tuberculin positive or negative humans to various doses of PPD *in vitro* cell. *Immunology* 3: 493-500, 1972.
27. OPPENHEIM, J. J. — Relationship of *in vitro* lymphocyte transformation to delayed hypersensitivity in man and guinea-pigs. *Fed. Proc.* 27:21-23, 1968.
28. PERUCCA, P. J.; PAGE, F. W. & FUDENBERG, H. H. — Passive immune lysis with chromic chloride treated erythrocyte. *J. Immunol.* 102:812, 1969.
29. RAFFEL, S. — The components of the tubercle bacillus responsible for the delayed type of «infectious» allergy. *J. Infect. Dis.* 82:267-293, 1948.
30. RICH, A. R. — *The Pathogenesis of Tuberculosis*. Springfield, CHARLES C. THOMAS, 1944.
31. ROSEMBERG, J. W.; GRAY, J.A.C. & DAVID, J. R. — Inhibition of leukocyte migration: an evaluation of this *in vitro* assay of delayed hypersensitivity in man to a soluble antigen. *J. Immunol.* 105:1447-1452, 1970.
32. SARKANY, I. & HALES, H. — Lymphocyte transformation following BCG vaccination. *Brit. J. Dermat.* 80:20-34, 1968.
33. SCHLOSSMAN, S. F.; LEVIN, H. A.; ROCKLIN, R. E. & DAVID, J. R. — The compartmentalization of antigen reactive lymphocytes in desensitized guinea pigs. *J. Exp. Med.* 134:741-750, 1971.
34. SENYK, G. & HADLEY, W. K. — *In vitro* correlates of delayed hypersensitivity in man: ambiguity of polymorphonuclear neutrophils as indicator cells in leukocyte migration test. *Infect. Immunity* 8:370-380, 1973.
35. SMITH, J. A. & REICHMAN, L. B. — Lymphocyte transformation. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 106:194-200, 1972.
36. VAN EPPS, D. E.; FRIERSON, J. A. & WILLIAMS, R. C. — Studies of anergic patients. *Infect. Immunity* 10:1003-1009, 1974.
37. WYBRAN, J.; CARR, M. C. & FUDENBERG, H. H. — The human rosette forming cell as a marker of a population of thymus derived cells. *J. Clin. Invest.* 51:2537-2543, 1972.
38. ZEITZ, S. J.; OSTRO, J. H. & ARSDEL, P. P. — Humoral and cellular immunity in the anergic tuberculosis patient. *J. Allergy Clin. Immunol.* 53:20-26, 1974.

Recebido para publicação em 17/7/1975.