BIOMEDICA
Vol. 2 No. 4 – 1982

LAS PRUEBAS INTRADERMICAS DE EVALUACION DE COMPETENCIA CELULAR

ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE ANTIGENOS CLASICOS Y OTROS ANTIGENOS

MIGUEL GUZMAN,* ALVARO VILLANUEVA,** MAYE BERNAL.***

Se presenta un estudio comparativo en la respuesta de hipersensibilidad demorada frente a 4 antígenos universalmente recomendados. Tuberculina (TU), Candidina (CA), Streptokinasa/ Streptodornasa (SK/SD) y virus de Parotiditis (PA) con otros antígenos de uso menos común tal como Antígeno-Respiratorio-Mixto (ARM) y lisado de *Staphylococcus aureus* 80/81 (LS). De igual manera se estudió la respuesta al Dinitroclorobenceno (DNCB). La población probada fue de 49 personas normales con edades entre 18-23 años. Los resultados mostraron que la reactividad para ARM es de 91,8%, para LS 91,8%, para Candidina 75%, para TU (10U) 24,4%, para SK/SD de solo 6,8% y para Parotiditis 6,1%. Los estudios con DNCB permiten aconsejar su uso solo en casos muy especiales. El trabajo presentado sugiere una normalización en la lectura y el uso de 4 antígenos con la más alta frecuencia de positividad dentro del grupo probado así: ARM, LS, CA, y TU.

Las pruebas intradérmicas que evocan una respuesta de hipersensibilidad retardada han sido utilizadas desde hace muchos años como recurso diagnóstico y en estudios epidemiológicos (1). A medida que los mecanismos inmunológicos implicados en esta respuesta se han comprendido mejor, algunas de estas se han introducido como procedimientos de valoración de la respuesta inmunológica en su componente celular, concretamente la respuesta mediada por celulas T. (1, 2). Para evaluar si un huésped tiene una competencia en su respuesta celular se han seleccionado pruebas con antígenos con los cuales la población normal tiene amplias posibilidades de entrar en contacto durante el desenvolvimiento de su vida y por tanto su sistema inmunológico puede montar una respuesta manifestada a través de una reacción de hipersensibilidad retardada cuando el antígeno en cuestión es inoculado en el huésped estudiado. A través de los años, 4 antígenos, que se supone, son de amplia circulación, han venido siendo usados sistemáticamente en este tipo de estudios; ellos son: Tuberculina, Streptokinasa-Streptodornasa, Candidina y Virus de la Parotiditis, (2-5). Sin embargo, observaciones personales nos indican que en nuestro medio no existe una normalización de estas pruebas ni en su aplicación, ni en su interpretación, de igual manera hemos

* Jefe Sección Diagnóstico, Investigación y Referencia, Instituto Nacional de Salud. Profesor Asociado, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia.

** Residente Departamento de Medicina Interna, Hospital Militar. En rotación Grupo de Microbiología e Inmunología, Instituto Nacional de Salud.

*** Instructora de Microbiología. Fundación Escuela Colombiana de Medicina. Bogotá.

observado que la respuesta para algunos de los antígenos recomendados es muy baja en núcleos de población sin alteraciones que pudieran explicar dicha no respuesta. Estas consideraciones nos han llevado a realizar el presente trabajo con el objeto de normalizar la interpretación de estas pruebas en el estudio de valoración de la competencia inmunológica y comparar la respuesta de un universo de personas supuestamente sanas a los 4 antígenos universalmente utilizados frente a otros antígenos de uso no frecuente, pero a los cuales, evidentemente existe una más amplia oportunidad de diaria exposición y así poder derivar recomendaciones a nivel de nuestra población colombiana.

MATERIALES Y METODOS

La población seleccionada para realizar el estudio quedó conformada por 49 personas con edades comprendidas entre los 18 y 23 años con distribución por sexos así: 31 hombres y 18 mujeres. A cada una de estas personas se les hizo una historia clínica detallada para descartar todo proceso que pudiera interferir con la respuesta, bien deprimiéndola o exaltándola. Los antígenos seleccionados fueron Tuberculina PPD, RT-23 de Concentración 10U), Streptokinasa-Streptodornasa, (varidasa Lederle) 40U/ 10U), Candidina (INS dilución 1:100) y virus de la parotiditis (E. Lilly). Los antígenos nuevos introducidos fueron un antígeno respiratorio-mixto (Bronas-Berna dilución 1:5) y un lisado de *Staphilococcus aureus* fagotipo 80/81, preparado por el INS y titulado para estas pruebas a dilución 1:40. Igualmente se utilizó *DNCB* (Baker, dilución 2000 mcg-50-100-200 mcg/0.1 ml.).

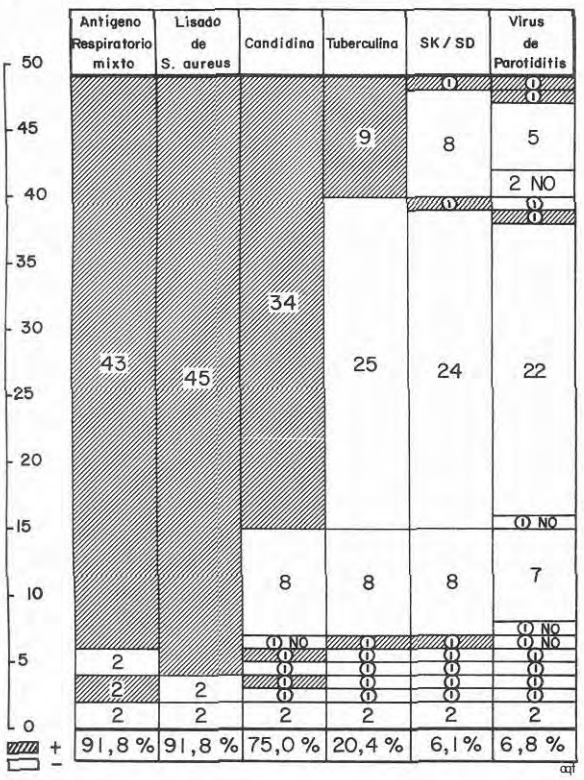
Las personas seleccionadas fueron instruidas del tipo de estudio a realizar y concentradas en días específicos para aplicación y lectura de las pruebas. A cada uno de ellos se les aplicó con jeringa plástica desechable de tuberculina y aguja 27,0.1 ml de cada una de las preparaciones en cuestión así: brazo derecho TU, CA, SK/SD, brazo izquierdo ARM, LS y PA. Se seleccionó la región externa del antibrazo, la cual luego de limpieza con alcohol etílico 70%, se inoculó con los antígenos respectivos dejando entre antígeno y antígeno una distancia de 5 cms. Para la prueba de sensibilización con DNCB se utilizó una preparación que contenía 2000 mcg en 0.1 ml. disuelta en acetona y se colocó en la parte anterior del antebrazo utilizando un anillo metálico de 20 mm de diámetro. Con jeringa de tuberculina se colocó en el centro del área seleccionada 0.1 de la solución de DNCB y con espátula de vidrio se distribuyó suavemente sobre toda el área hasta que la acetona se evaporó; posteriormente se cubrió el área con gasa estéril. Las lecturas se efectuaron a las 24, 48 y 72 horas siguiendo una guía de interpretación según las recomendaciones de Bates y col. (6), se leyó tanto la aparición de eritema en mm como la aparición de una franca pápula — 5 mm. La lectura del DNCB se hizo para determinar irritación y luego 21 días después se colocó una prueba de provocación de 50-100 y 200 mcg en 0.1 ml, leyéndose igualmente a las 24-48 y 72 horas.

RESULTADOS

Debido a que la dispersión del universo estudiado en cuanto a edad y sexo es muy disarmónica, no fue posible hacer un análisis de resultados por edad y sexo; sin embargo, la comparación de resultados para cada uno de los antígenos probados por edad y por sexo no mostró ninguna diferencia estadísticamente significativa, lo cual permite establecer que para el fenómeno materia del estudio las modalidades de edad y sexo no tienen influencia en el universo seleccionado.

Como puede verse en el cuadro No. 1 los resultados de cada uno de los antígenos probados pueden compararse entre sí tomando como base el ARM, uno de los dos antígenos introducidos para el cual la población en estudio presentó la más alta frecuencia de respuesta positiva. Por algunos problemas operativos de las 49 personas finalmente estudiadas 4 no recibieron virus de parotiditis y una no recibió ni paratiditis ni candidina y aunque élla hubiese respondido positivamente a los dos antígenos su resultado no modificaría en nada los resultados mostrados en dicho cuadro. Lo anterior demuestra que los antígenos introducidos alcanzaron, en la

CUADRO Nº I. Resultados de las Pruebas Intradérmicas Aplicadas en cuarenta y nueve Personas, por los Antígenos empleados y según su comparación entre ellos. Porcentaje de Positividad por Antígeno.



población probada un 91,8% de respuestas positivas, coincidiendo en positividad en un 87,8% de los pacientes y en negatividad en 4,1%; los dos antígenos dan pues un 95,9% de positividad. El antígeno de Candidina dió un 75% de positividad, coincidiendo en el 70,8% de su positividad con los dos anteriores y en negatividad en 4,2% con uno cualquiera de ARM o LS. La coincidencia en los casos negativos totales fue de 4,1%, es decir que la prueba no fue positiva para el 21,7% de los casos positivos para LS, ARM o ambos.

El resultado de TU es bastante desalentador habiéndo sido positiva solo en un 20,4% de la población estudiada. Coincidió en positividad en 21,3% con uno cualquiera de los antígenos anteriores y coincidió también en negatividad en los dos casos negativos a los tres antígenos. Para los antígenos SK/SD y PA la positividad fue muy baja apenas de 6,8% para SK/SD y de 6,1% para PA.

En el cuadro No. 2 se muestra la distribución de la positividad de la población estudiada para cada uno de los antígenos. Como puede verse solo en 2 casos no se presentó reacción positiva para alguno de los antígenos, una sola persona presentó respuesta positiva a los 6 antígenos estudiados, 48,9% presentaron positividad a 3 antígenos y 24,5% tuvo positividad a cuatro o más antígenos.

La prueba con DNCB presentó reacción de irritación en 45 de las personas en estudio (91,8%) a las 24 horas, en 34 casos (69,4%) la reacción fue un eritema con diámetro entre 1,5 y 3,3 cm con valor modal 2,0 cm; 1 caso (2,0%) presentó eritema y borde levantado indurado; 5 casos (10,2%) presentaron eritema e hipercromia y aún talangiectasias y 5 (10,2%) presentaron vesiculación. Estas reacciones desaparecieron gradualmente hasta 21 días en que se hizo la prueba de provocación la cual fue negativa en 100% con dosis de 50 mcg y 100 y positiva con dosis de 200 mcg en un 95%.

En cuanto a la reacción con LS, la pápula vista ocurrió en 86,7% a las 24 horas (cuadro No. 3) a las 48 horas 41,0% era aún positiva y 72 horas solo un 15,4% la presentaba todavía; en cuanto a eritema, aunque este también disminuyó fue evidentemente menos brusco el cambio. En cuanto al ARM conviene anotar que además de que 4

CUADRO Nº 2. Distribución de la Población en Pruebas de Inmunidad, por número de Antígenos a los cuales reaccionó según número de Antígenos probados.

NUMERO DE ANTIGENOS PROBADOS	NUMERO DE ANTIGENOS A LOS CUALES SE REACCIONO							TOTALES
	6	5	4	3	2	1	0	
SEIS	1	3	5	22	9	2	2	44
CINCO		-	2	1	1	-	-	4
CUATRO			1	-	-	-	-	1

personas fueron negativas, a las 24 horas se presentó pápula en el 95,7% de los casos, siendo aún positiva en el 46,6% de los casos (cuadro No. 4), el eritema fue muy constante siendo positivo aún a 72 horas en el 93,3%. Respecto a Candidina cuya respuesta positiva fue de 75% la reactividad no fue armónica (cuadro No. 5) ninguna de las lecturas a 24-48 - 72 horas fue positiva el 100% y disminuyó con el tiempo en proporción y en tamaño. Igual análisis cabe en Tuberculina (cuadro No. 6).

CUADRO Nº 3. Detalles de las Lecturas de las Pruebas Positivas al Antígeno de Lisado de Staphylococcus aureus 80 / 81.

MOMENTO DE LECTURA	PAPULA				ERITEMA			
	% Positividad	Rango cm.	Media cm.	Modo cm.	% Positividad	Rango cm.	Media cm.	Modo cm.
24 horas	86,7	0,3-8,0	4,0	4,0	100,0	0,6-8,0	4,0	4,0
48 horas	41,0	0,2-8,5	0,8	0,6	91,1	0,3-10,0	5,0	5,0
72 horas	15,4	0,3-5,0	0,45	-	53,3	0,1-6,5	3,0	3,0

aqt

CUADRO Nº 4. Detalles de las Lecturas de las Pruebas Positivas al Antígeno Respiratorio Mixto.

MOMENTO DE LECTURA	PAPULA				ERITEMA			
	% Positividad	Rango cm	Media cm	Modo cm	% Positividad	Rango cm	Media cm	Modo cm
24 horas	95,7	0,2-5,0	1,0	0,8	100,0	0,7-5,0	2,4	2,0
48 horas	88,9	0,2-4,5	0,8	0,5	100,0	0,4-5,0	2,5	3,0
72 horas	46,6	0,3-4,0	0,5	0,5	93,3	0,3-5,0	0,8	0,7

aqt

CUADRO Nº 5. Detalles de las Lecturas de las Pruebas Positivas al Antígeno de Candidina.

MOMENTO DE LECTURA	PAPULA				ERITEMA			
	% Positividad	Rango cm	Media cm.	Modo cm	% Positividad	Rango cm	Media cm.	Modo cm
24 horas	81,1	0,2-5,5	0,7	0,8	94,6	0,2-6,5	1,3	0,5
48 horas	78,4	0,3-3,0	0,8	1,0	91,9	0,1-8,5	1,0	1,0
72 horas	54,1	0,2-2,5	0,8	1,0	83,8	0,2-2,5	0,9	0,9

aqt

CUADRO Nº 6. Detalles de las Lecturas de las Pruebas Positivas al Antígeno de Tuberculina.

MOMENTO DE LECTURA	PAPULA				ERITEMA			
	% Positividad	Rango cm	Media cm.	Modo cm	% Positividad	Rango cm	Media cm.	Modo cm
24 horas	60,0	0,4-3,0	0,6	0,6	60,0	0,3-6,0	0,75	0,4
48 horas	60,0	0,4-1,3	0,65	0,4	60,0	0,4-8,5	0,9	0,4
72 horas	80 0	0,4-1,7	0,9	1,0	80,0	0,5-2,3	0,9	1,0

aqt

DISCUSION

Es claro del estudio aquí presentado que el tipo de pruebas que se recomienda en la valoración de la función inmunológica de las células T no tiene una cobertura que ponga margen de seguridad diagnóstica cuando ellas son negativas ya que la no respuesta no indica falla celular sino simplemente no reactividad, quizás porque no ha habido oportunidad de exposición al mencionado antígeno. Es por tanto importante seleccionar 4 antígenos para los cuales exista una elevada frecuencia de reactividad en la población general , el presente trabajo sugiere que podrian ser: Antígeno-Respiratorio-Mixto (ARM), lisado de *Staphylococcus aureus* (LS), Candidina (CA) y Tuberculina (TU) (10U). La lectura e interpretación debe hacerse en forma normalizada y nos parece que a este respecto el esquema propuesto por Bates y col (6) es altamente conveniente, (cuadro No. 7). El estudio con DNCB, por sus inconvenientes de irritación y dificultad técnica de aplicación, debe reservarse para casos muy especiales, (7). Dado el amplio uso que la actualidad tienen estas pruebas cutáneas se hace necesario esta normalización ya que a nivel clínico ellas tienen amplio campo de aplicación y como se desprende de estudios serios correctamente conducidos, son suficientes para la valoración de la competencia celular, (8-13). El estudio aquí presentado quiere llamar la atención sobre esta normalización y sobre el uso de antígenos que nos aseguren una alta frecuencia de positividad en nuestra población general.

CUADRO Nº 7. **Interpretación de las pruebas cutáneas según referencia 6.**

1 +	Eritema 10 mm. Sin Induración o Induración de 1-5 mm.
2 +	Induración de 6 - 10 mm.
3 +	Induración de 11 - 20 mm.
4 +	Induración de más de 20 mm.

SUMMARY

A comparative study in delay hipersensitivity response to four of the most commonlly skin testing antigens: Tuberculina (TU), Candidine (CA), Sterptokinase/ Steptodornase SK/SD) and Mumps virus (MV) with the reponse to others less commonlly used antigens such as mixed-respiratory-antigen MRA) and lysate from *Staphylococcus aureus* (SL) is presented.

The study also analyze the response to Dinitro-Chloro-Bencene (DNCB). The tested population was formed by 49 healthy voluteers 18 to 23 years old. The results showed 91,8% of positive reactions to MRA, 91,8% to SL, 75% to CA 20,4% to TU, only 6,8%, to SK/SD and 6,1% to MV.

The results with DNCB allowed us to recomend this test only for especial cases.

The study herebry presented suggest that as far as colombian population concern it would be necessary for skin testing to use four antegens with the highest frecuency of positive reactions and those would be MRA, SL, CA, and TU.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestros agradecimientos a Constanza Peña, de la Unidad de Inmunología, Piedad de Forero, de la Unidad de Bacteriología General por su colaboración en la preparación y valoración de los antígenos y a los estudiantes de V-semestre de la Fundación Escuela Colombiana de Medicina-1981, por su colaboración al aceptar recibir las pruebas de este estudio. Finalmente, nuestro especial agradecimiento al Dr. Alvaro Aguilera B., por su paciente análisis estadístico.

BIBLIOGRAFIA

1. Sokal JE, Measurement of Delayed Skin Test Responses. N. Engl J. Med 1975; 293: 501.
2. Spitler LE, Delayed Hypersensitivity Skintesting. Chapter 25, ppg: 200-212 in Manual of clinical Immunology Edited by Rose and Friedman, American Society for Microbiology. Washington D.C. 1980.
3. Palmer DL, Reed WP. Delayed Hypersensitivity Skin Testing. I Response Rates in a Hospitalized Population. J. Infec. Dis. 1974; 130: 132.
4. Angle RM. The Use of Mumps Skin Test in Adults. JAMA, 1961; 177: 650.
5. Shannon DC, Johnson G, Rosen FS, Austen KF. Cellular Reactivity To Candida Albicans Antigen. N. Engl. J. Med. 1966; 275: 690.
6. Bates SE, Suen JY, Tranum BL. Immunological Sking Testing and interpretation Cancer 1979; 43: 2306.
7. Catalona WJ, Taylor PT, Rabson AS, Cheretien PB. A method For Dinitrochlorobenzeno Contact Sensitization. znew Eng. J. Med. 1972; 286: 399.
8. Sbarbaro JA. Skin Test Antigens: an evaluation whose time has come. Am. Rev. Respir. Dis. 1978; 118.
9. Johnson MW, Maibach HI, Salmon SE. Skin Reactivity In Patiens with Cancer. Impaired delayed hypersensitivity or faulty inflamatory response? N. Engl. J. Med. 1971; 284: 1255.
10. Dupuy JM, Kourilsky FM, Fradelizzi D, Feingold N, Jacquillat CL, Bernard J, Dausset J. Depression Of Immunologic Reactivity of Patients With Acute Leukemia. Cancer. 1971; 27: 323.
11. International Union of Immunological Societies and The World Health Organization, Use and abuse of eight widely-used diagnostic procedures in clinical Immunology. Bull. World Health Org. 1981; 59: 717.
12. MacLean LLD. Host Resistance in Surgical Patients American College of Surgeons, Eighth Annual Meeting. Toronto 1980.
13. Munster A. Wichurch RA, Keane RM, Shatney CH, Ernst CB, Zuidema GD, A Reliable and Repeatable Assay of Immune Competence in the Surgical Patient. Ann Surg 1981; 194; 345.