

OBTENCIÓN Y APLICACIÓN DE ANTIGENOS DE DERMATOFITOS

Dra. Margarita Oliver*; Dra. María Ibelise de González** Dra.
Mireya Mendoza**; Dra. María C.B. de Albornoza***

Oliver M, Ibelise de González M, Mendoza M, C.B. de Albornoza M: **Obtención y aplicación de antígenos de dermatofitos**. Dermatología Venezolana 30: 179-184, 1992.

RESUMEN

El objeto fue la obtención de antígenos de dermatofitos: *Tricophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y su mezcla así como la evaluación de su actividad biológica estudiando y relacionando en un grupo definido de pacientes, la reactividad cutánea provocada con sus condiciones clínicas.

Se estudiaron 75 individuos, de estos 54 presentaron patología micótica superficial y 21 pertenecieron al grupo control. En el grupo total los resultados de las pruebas intradérmicas fue del 87% de positividad para la tricofitina obtenida a partir del *T. rubrum*, similar al PPD con 84,22%, con la mezcla se obtuvo positividad en el 77,8% y la derivada de *T. mentagrophytes* de 57,4%.

En el estudio del valor diagnóstico y con el propósito de determinar su exactitud y utilidad los resultados de cada prueba fueron comparados con el agente aislando.

	Sensibilidad	Especificidad	Valor Predictivo
<i>T. rubrum</i>	85,18%	7,41%	53,4%
Mezcla	75,76%	19,05%	74,6%
<i>T. mentagrophytes</i>	66,66%	43,75%	20,7%

Conclusiones: En el estudio, la tricofitina elaborada a partir del *T. rubrum* fue indicadora de enfermedad activa, más que la mezcla y la derivada del *T. Mentagrophytes*. Su elaboración resultó sencilla y poco costosa. Los resultados reflejan la importancia de la obtención de antígenos provenientes de cepas autóctonas,

disminuyendo los costos de los antígenos a utilizar en nuestro país. La tricofitina obtenida a partir del *T. rubrum* y la mezcla resultó inferior para estudiar la inmunidad celular al compararlos con el PPD tanto en pacientes como en controles.

SUMMARY

The object was the obtention of antigens from der-matophytes: *Tricophyton rubrum*, *trichophyton mentagrophytes* and their mix. The evaluation of the biologic activity by relating their cutaneous reactivity on this defines group of patients with their clinical conditions.

75 individuals were tested, of those 54 had superficial micotid pathology and 21 were the control group. On the whole group the results of cutaneous test were tricofitina by *T. rubrum* had a positive reaction of 87% similar to PPD of 85,22% the mix had 77,8% of positive reaction and *T. mentagrophytes* of 57,4%.

In the study of the diagnostic value and in order to determine their accuracy and utility, the results of each test was then compared with the isolated agent.

	Sensitivity	Specificity	Predictive value
<i>T. rubrum</i>	85,18%	7,41%	53,4%
Mix	75,76%	19,05%	74,6%
<i>T. mentagrophytes</i>	66,66%	43,75%	20,7%

In conclusions: In our study the tricofitina obtained from *T. rubrum* indicated active disease more than obtained from their mix and *T. mentagrophytes*. Their elaboration was easy and cheaper. The results have shown the importance of obtaining antigens from autoctonus fungus. The tricofitina obtained from *T. rubrum* and their mix resulted less elective for evaluate the cellular immunity than the PPD in patients and controls.

* Residente de postgrado de Dermatología, Instituto de Biomedicina, Universidad Central de Venezuela.

** Adjuntos del Servicio de Micología, Instituto de Biomedicina.

*** Jefe del Servicio de Micología, Instituto de Biomedicina.

INTRODUCCIÓN

El estudio de la inmunidad en dermatofitosis comenzó en 1902, con la tricofitina, como una ayuda en la demostración de la infección y como antígeno para detectar hipersensibilidad retardada. Desde entonces numerosas preparaciones de variada calidad han sido usadas.^{1,2,3}

La porción antigénica de la tricofitina es un glicopéptido donde la fracción glucídica despierta respuestas de hipersensibilidad inmediata y la fracción peptídica se relaciona con la hipersensibilidad retardada.^{2,3,4}

Su utilidad en el estudio de las dermatofitosis es discutida ya que reportes anteriores encuentran un alto porcentaje de reacciones negativas en pacientes clínicamente enfermos (60 - 70%),³ sin embargo es bien conocido su uso en la evaluación de la inmunidad celular de estos individuos.

OBJETIVOS

El objeto del presente trabajo fue la obtención de antígenos de dermatofitos de aislados autóctonos de *Tricophyton rubrum*, *Tricophyton mentagrophytes* y su mezcla y la evaluación de su actividad biológica a través de la aplicación intradérmica en pacientes con dermatofitosis, correlacionando la reactividad cutánea en este grupo definido de pacientes, con las condiciones clínicas correspondientes y con un grupo control.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron como fuente antigénica aislados jóvenes de *T. rubrum* y *T. mentagrophytes* variedad *mentagrophytes* obtenidos de pacientes estudiados en el laboratorio de micología del Instituto de Biomedicina, Caracas, Venezuela. La elección de estos agentes se basó en que son unos de los más frecuentes productores de lesiones clínicas en nuestro país y comparten fracciones antigénicas con miembros de género *Microsporum* y *Epidermophyton*. Ellos

se usaron separadamente y en conjunto, para valorar la utilidad de la tricofitina así obtenida.

La preparación del antígeno se realizó mediante una modificación de la técnica de exoantígeno de Standard y Kaufman,^{5,6} cuyo procedimiento se describe a continuación:

- 1.- Sembrar los aislados en medio Sabouraud líquido glucosado al 2% en botellas de Roux, con 150 cc de medio cada una.
- 2.- Incubar por 15 días a 28 grados centígrados.
- 3.- Adicionar a los cultivos solución de merthiolate-borato de sodio a una concentración de 1/10000.
- 4.- Mantener en estufa a 28°C por 24 horas.
- 5.- Separar el micelio.
- 6.- Lavar 4 veces con agua destilada para eliminar restos de medio de cultivo.
- 7.- Homogenizar el micelio mediante trituración en mortero.
- 8.- Resuspender en 30 cc. de agua destilada.
- 9.- Mantener por 1 semana a 28°C.
- 10.- Centrifugar y liofilizar el líquido sobranadante.
- 11.- Rehidratar el liofilizado hasta un volumen 10 veces inferior al inicial.
- 12.- Diluir el antígeno en solución fisiológica fenolada al 3%, 1/100.

Se prepararon un total de tres antígenos a saber: *T. rubrum*, *T. Mentagrophytes* v. *mentagrophytes* y la mezcla de ambos (*T. rubrum* y *T. mentagrophytes*).

Se estudiaron los pacientes con dermatofitosis comprobadas por examen directo referidos desde la consulta de dermatología general a la consulta de micología del Instituto de Biomedicina, Caracas, Venezuela, año 1990, tabulándose la edad, sexo, antecedentes de enfermedades asociadas o dermatofitosis anteriores, localización, tiempo de evolución, forma clínica de las lesiones y existencia o no de dermatofitides.

Pacientes menores de 16 años y/o con alteraciones inmunológicas, medicación inmunosupresora o condiciones atópicas de base fueron excluidos del estudio.

A todos los pacientes se les tomó muestras de las lesiones y se les efectuó un examen micológico directo con Clorazol black-E⁶ y cultivo micológico en medio agar Sabouraud a temperatura ambiente para identificar el hongo causal de la patología. Luego se les aplicó 0,1 cc por vía intradérmica de los antígenos preparados (*T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y la mezcla de ambos) y se usó como control 0,1 cc del vehículo de la preparación aplicado también por vía intradérmica y PPD. Dichas pruebas fueron leídas a las 48 horas y se consideraron positivas cuando ocurre induración igual o mayor a 5 mm.

El grupo control lo constituyeron pacientes provenientes de la consulta externa de Dermatología sin patología micótica superficial actual.

Los resultados así obtenidos fueron tabulados y analizados a través de la prueba del Chi-cuadrado, para determinar su significancia; igualmente se realizó la determinación de la sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo para cada una de las pruebas.

RESULTADOS

Se estudiaron 75 individuos divididos en dos grupos, 64 con dermatofitosis y 21 controles (sin micosis superficial actual). El grupo de pacientes estuvo integrado por 24 (44,4%) del sexo masculino y 30 (55,6%) del sexo femenino, con un rango de edad de 16 a 75 años (JC = 39 años).

En el grupo control, se ubicaron 5 (23,8%) hombres y 16 (76,2%) mujeres con edades comprendidas entre 17 y 64 años (X" = 35 años).

En el 59,3% de los pacientes la enfermedad tuvo un tiempo de evolución mayor de 3 meses. Antecedentes de dermatofitosis previa fueron obtenidas en el 35,2%

del grupo de pacientes, y en el 28,6% del grupo control.

El tipo clínico de dermatofitosis más frecuente encontrado en el grupo de pacientes fue la tinea unguium (42,6%), seguido de *T. corporis*, *T. pedis*, *T. cruris* y *T. mannum* (ver Gráfico N° 1).

El 78,8% de los casos (42 pacientes) se afectó una sola zona del cuerpo pero hubo pacientes con dos (18,5% de los casos), y 3 (3,7% de los casos).

El *Tricophyllum rubrum* fue el hongo más frecuentemente aislado de los pacientes estudiados (51%); es de hacer notar que en uno de los pacientes con dermatofitosis de dos zonas corporales fueron aislados dos agentes y en el 33,3% de los casos no fue posible aislar el agente por contaminación o esterilidad de los cultivos luego de 15 días de la siembra (ver Gráfico N° 2).

Sólo en 5 pacientes (9,3%) las lesiones clínicas fueron de tipo inflamatorio obteniéndose en el cultivo *T. rubrum*; el resto de los pacien-

tes presentó cuadros no inflamatorios.

Fueron diagnosticadas "dermatofitides" vesiculodescamativa al momento de examen clínico en el 11,1% de los casos (6 pacientes) los cuales presentaban tinea pedis (4 pacientes), tinea unguium (1 paciente) y tinea corporis (1 paciente).

En el grupo de pacientes los resultados de las pruebas cutáneas fueron los siguientes: la tricofitina por *T. rubrum* tuvo un porcentaje de positividad del 87% similar al del PPD de 85,2%; con la mezcla de *T. rubrum* y *T. mentagrophytes* un 57,4% (ver Gráfico N° 3).

Los controles muestran menores porcentajes de positividad para todas las pruebas, incluyendo el PPD.

No se presentaron pruebas positivas con el uso del buffer en ningún caso, ni en pacientes ni en controles.

Relacionando los resultados obtenidos con el antígeno del *T. rubrum*

en pacientes y en controles, observamos que en los pacientes el porcentaje de positividad para la prueba fue de 87%, mientras que en los controles fue del 42,9% diferencia esta estadísticamente significativa (P 0,05).

Parecidos resultados se observaron con la mezcla, donde el porcentaje de positividad en pacientes fue de 77,7% y en controles de 38,1%, diferencia también con significancia estadística (p 0,01) (ver Gráfico N° 3).

Para el caso de la prueba cutánea del *T. mentagrophytes* el porcentaje de positividad en pacientes fue de 27,4% y en los controles de 33,3%, estos valores no mostraron diferencias estadísticamente significativas.

Relacionando la positividad de la prueba con la localización de la infección no se encontró diferencia estadísticamente significativa al utilizar el antígeno de *T. rubrum* (ver Gráfico N° 4).

GRÁFICO N° 1
TIPO CLÍNICO DE DERMATOFITOSIS EN
LOS PACIENTES ESTUDIADOS EN LA CONSULTA
DE MICOLOGIA DEL INSTITUTO DE BIOMEDICINA

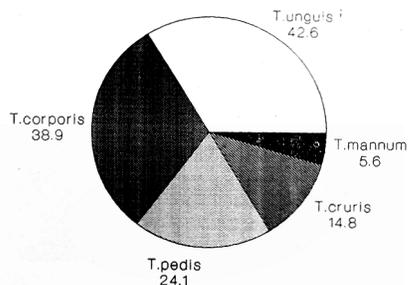


GRÁFICO N° 2
DERMATOFITOS AISLADOS DE PACIENTES
ESTUDIADOS EN LA CONSULTA DE MICOLOGIA
DEL INSTITUTO DE BIOMEDICINA, CARACAS

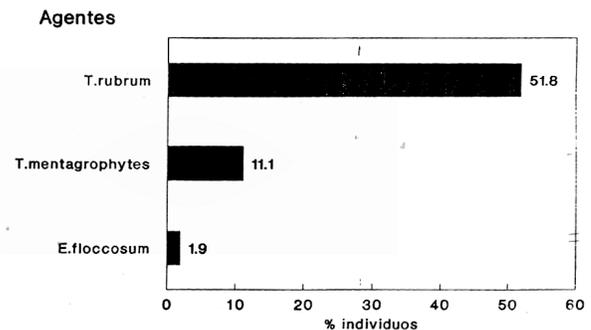


GRÁFICO N° 3
POSITIVIDAD DE LAS PRUEBAS CUTÁNEAS EN LOS INDIVIDUOS ESTUDIADOS EN LA CONSULTA DE MICOLOGIA DEL INSTITUTO DE BIOMEDICINA

Pruebas cutáneas positivas

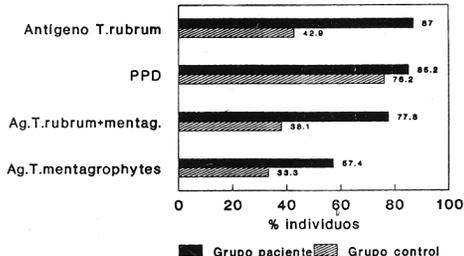
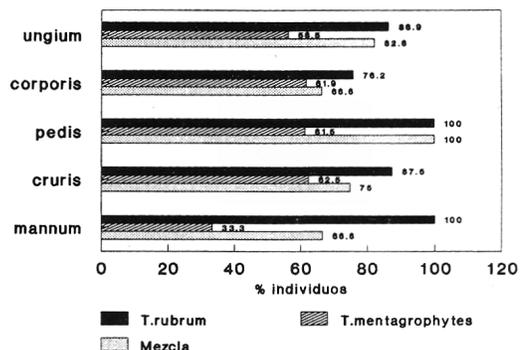


GRÁFICO N° 4
LOCALIZACION DE LA INFECCION EN LOS PACIENTES QUE RESULTARON POSITIVOS A LAS PRUEBAS CUTÁNEAS INSTITUTO DE BIOMEDICINA



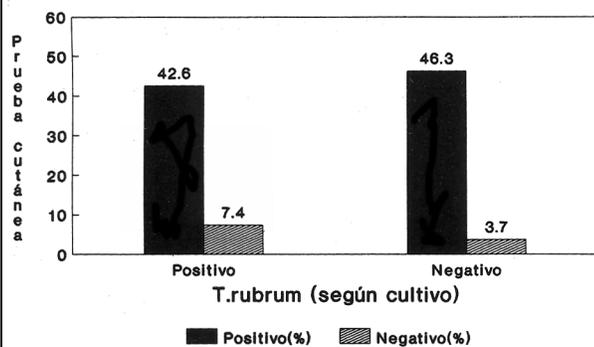
En el estudio del valor diagnóstico de las pruebas, y para determinar su exactitud y utilidad se procedió a comparar el resultado de cada prueba cutánea con el agente aislado: así para la tricofitina obtenida a partir del *T. rubrum* se obtuvo una sensibilidad (probabilidad de que la prueba resulte positiva en un paciente con enfermedad) del 85,18%; la especificidad

(probabilidad de que la prueba resulte positiva en pacientes sin enfermedad) fue de 7,41% lo que llevó a un valor predictivo positivo (probabilidad de enfermedad en pacientes con prueba positiva) de 53,4% y un valor predictivo negativo (probabilidad de que no exista enfermedad en un paciente con prueba negativa) de 44,5%. Para la mezcla la sensibilidad

fue de 75,76%, la especificidad de 19,05% mientras que el valor predictivo positivo fue de 74,3% y el valor predictivo negativo de 20,7%. Para la tricofitina del *T. mentagrophytes* la sensibilidad es de 66,6%, especificidad de 43,75%, valor predictivo positivo de 20,7% y negativo de 85,6% (ver Gráficos N° 5, 6 y 7).

GRÁFICO N° 5

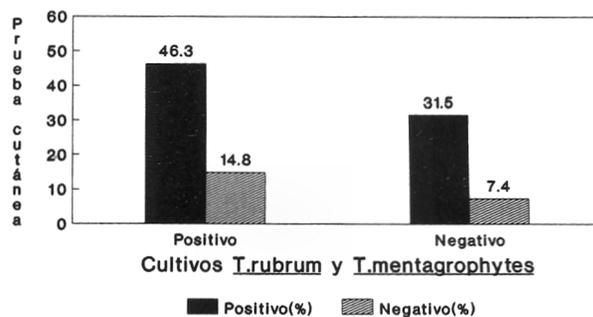
RESPUESTA DE LA TRICOFITINA POR T. RUBRUM EN LOS PACIENTES INFECTADOS POR T. RUBRUM



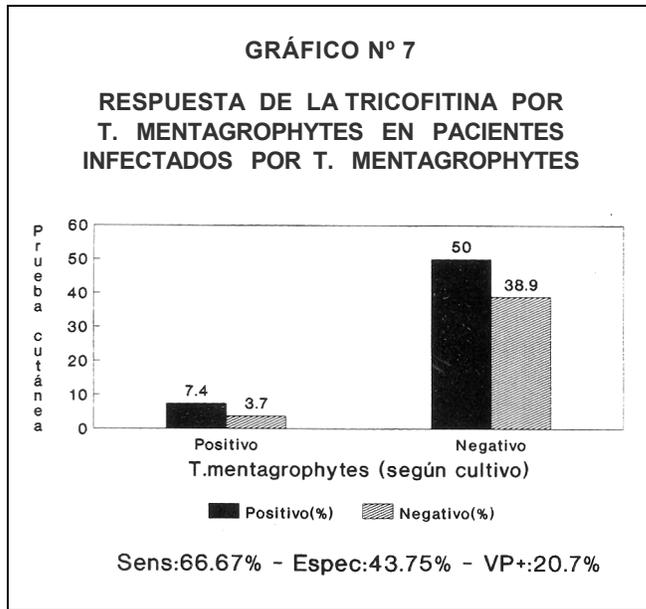
Sens: 85.18% - Espec: 7.41% - VP+: 53.4%

GRÁFICO N° 6

RESPUESTA DE LA MEZCLA DE TRICOFITINA EN LOS PACIENTES INFECTADOS POR T. RUBRUM O T. MENTAGROPHYTES



Sens:75.76% - Espec:19.05% - VP+:74.3%



DISCUSIÓN

La tricofitina ha sido considerada como un antígeno específico indicador de dermatofitosis presentes o anteriores a pesar de que la sensibilidad del antígeno varía según los diversos estudios.⁸

Igualmente es señalado por algunos autores^{4,8,9} que las reacciones retardadas podrían reflejar un cierto estado de inmunidad a las dermatofitosis, probablemente parcial, de limitada duración que sugiere que la reacción retardada no implica por ella misma resistencia contra la infección dermatofítica.

En general las variaciones a la sensibilidad del antígeno en los diferentes estudios ha sido atribuida por algunos autores a la carencia de tricofitina tanto pura como estandarizada^{1,4,8} pudiendo también influenciar el hecho de que sea preparada con cepas autóctonas del lugar donde se realiza el estudio.

En nuestro estudio donde la tricofitina fue preparada a partir de aislados autóctonos se obtuvieron altos valores de sensibilidad tanto con la obtenida a partir de *T. rubrum*, como con la mezcla; esto sustenta la

idea de que los antígenos preparados a partir de hongos de la localidad son muy útiles en el estudio de nuestros pacientes y constituyen una excelente alternativa para nosotros, considerando sobre todo los elevados costos de los antígenos foráneos. La sensibilidad obtenida con el *T. mentagrophytes* fue menor debido a que es conocido, que los dermatofitos difieren en su habilidad de inducir reacciones retardadas.

La positividad obtenida con la tricofitina preparada a partir de *T. rubrum* en el grupo control fue alta (48,9%) y aunque en este grupo la positividad al PPD fue mayor (76,2%) podemos sugerir que puede ser utilizado para la evaluación de la inmunidad celular en los individuos.

El buffer que se utilizó en la preparación de la tricofitina no provocó respuesta en ningún paciente ni en los controles, lo que indica que no es responsable de la positividad de la prueba.

Se ha sugerido que la localización de la infección puede tener importancia en la reactividad, varios artículos^{4,9} señalan por ejemplo que la tina pedis raramente reacciona

con hipersensibilidad retardada, sin embargo todos nuestros pacientes con esta localización fueron positivos para la prueba.

El estudio estadístico de los datos muestra diferencias en los resultados de la prueba entre los pacientes y los controles, lo que indica que la prueba puede ser usada en enfermos como un dato más de su estado inmunológico frente al agente infectante.

CONCLUSIONES

- 1.- En nuestro estudio la tricofitina elaborada a partir de *T. rubrum* fue indicadora de enfermedad activa, más que la mezcla y la derivada del *T. mentagrophytes*.
- 2.- Su elaboración resultó sencilla y poco costosa.
- 3.- Los resultados reflejan la importancia de la obtención de antígenos provenientes de cepas autóctonas, disminuyendo los costos de los antígenos a utilizar en nuestro país.
- 4.- La tricofitina obtenida a partir del *T. rubrum* y la mezcla resultó inferior para estudiar la inmunidad celular al compararla con el PPD en nuestros pacientes y controles.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Kaaman T: An evaluation of delayed hypersensitivity in guinea pigs to various trichophylin preparations. *Acta Dermatovener (Stockholm)* 56: 283-287; 1976.
- 2.- Wasserman T, et al: Purified trichophylin induced suppression reactivity in vitro an trichophylin induced suppression. *Acta Dermatovener (Stockholm)* 64(2): 123-127; 1987.
- 3.- Cruickshank CN, Trotter M, Wood SR: Studies on trichophylin sensitivity. *J Invest Dermatol* 35: 219-223; 1960.
- 4.- Kaaman T: The clinical significance of cutaneous reactions to trichophylin in dermatophytosis. *Acta Dermatovener (Stockholm)* 58: 139-143; 1978.

-
- 5.- Kaufman L, Standard PG; Immunological procedure for therapid and specific identification of Coccidioides immitis cultures. J Clin Microbiol 5: 149-153; 1977.
- 6.- Arechavala AI: Estudio de un antígeno de dermatofitos. RevArg Micol 10: 26-31; 1987.
- 7.- Cannon HG: A new biological stain for genera purposes. Nature 139: 549; 1937.
- 8.- Burke WA, Jones BE: A simple stain for rapid office diagnosis of fungus infections of the skin. Arch Dermatol 120: 1519-1520; 1984.
- 9.- Henifin JM, et al: Immunological reactivity in dermatophytosis. Br J Dermatol 90: 1; 1974.
- 10.- Sorensen GW, Jones HE: Immediate and delayed hypersensitivity in chronic dermatophytosis 112: 40-42; 1976.
-

viene de la página 171

JULIO 10:	CURSO CANCER DE PIEL COORDINADOR: DR. LUIS FELIPE SOUCRE MERIDA	SEPTIEMBRE 25:	REUNION MENSUAL HOSPITAL DE NIÑOS J.M. DE LOS RÍOS COORDINADORES: DRA. ESTHER DE SCHMIDMAJER Y DR. LEOPOLDO DIAZ LANDAETA
JULIO 17:	REUNION MENSUAL COORDINADOR: DR. RAUL FACHIN VISO VALENCIA	OCTUBRE 23:	SIMPOSIUM SCHERING
JULIO 37:	REUNION MENSUAL COORDINADORA: DRA. LENYA LOPEZ HOSPITAL DOMINGO LUCIANI	NOVIEMBRE 10 AL 14:	XXIX REUNION ANUAL DE LA S.V.D. COORDINADORES: JUNTA DIRECTIVA CARACAS
SEPTIEMBRE 10 Y 11:	REUNION MENSUAL CURSO ETS/SIDA COORDINADORES: DR. HOMEZ CHACIN Y DR. CESAR BARROSO TOBILA MARACAIBO	INFORMACION:	-SOCIEDAD VENEZOLANA DE DERMATOLOGÍA TELEFAX: 979.88.53 -EVENICON: LILIAN JIMENEZ C. TELEFAX: 285.84.15 FAX: 985.67.28