

UN NUEVO METODO PARA EL DIAGNOSTICO DE LA ALERGIA A LA PENICILINA*

DR. FERNANDO MARTÍNEZ CORTÉS

DR. UBALDO NAVA HERNÁNDEZ

EL PROBLEMA de la alergia a la penicilina sigue interesando al médico pues al lado del empleo, aún importante, de las penicilinas que podríamos llamar clásicas, se empieza a difundir el uso de otros tipos de penicilina que tienen el enorme interés práctico de poseer espectros de acción diferentes a los del antibiótico original. Podemos suponer con firme base experimental¹ que estos preparados, en tanto contengan como núcleo el ácido 6-amino penicilánico, serán muy semejantes antigénicamente a la penicilina clásica, hecho que por lo demás, ya ha sido comprobado por otros autores y también por nosotros, como lo señalaremos en el curso de esta comunicación.

Por una encuesta llevada a cabo por Campos Salas y Comesaña, entre 3,000 médicos de todo el país² se supo que cada uno de los médicos interrogados había atendido a poco más de tres reacciones graves de alergia a la penicilina, entre las cuales quedaron incluidas 421 mortales. El 72.6% de los médicos consideró que la alergia a la penicilina va en aumento y el 66.6% aceptó que actualmente ya no prescribe la penicilina con la frecuencia con que lo hacía anteriormente, entre otras cosas, por temor a las reacciones alérgicas serias.

Este temor sólo se disiparía si contáramos con un medio diagnóstico seguro, no sólo en lo que toca a su exactitud diagnóstica sino en lo que concierne a su inocuidad para el paciente.

Dentro de la alergología existen diversos procedimientos de laboratorio que están orientados a saber si el sujeto posee anticuerpos característicos frente a determinados antígenos. Con este objeto se recurre habitualmente al procedimiento de aplicar en la piel del individuo problema, las sustancias cuyos anticuerpos se desea descubrir. Dichas pruebas sólo tienen amplia justificación en el caso de las alergias llamadas atópicas, en las que existen anticuerpos con carac-

* Trabajo de Sección (Inmunología y Alergología) leído por su autor en la sesión del 1° de agosto de 1962.

teres especiales, como son, entre otros, el de sensibilizar la piel humana y de ser termolábiles, destruyéndose cuando el suero se calienta a 56° C durante dos horas.

Sin embargo, las pruebas cutáneas —este nombre reciben las que acabamos de señalar— tienen diversas limitaciones de cuya naturaleza no es el momento de ocuparnos. Bástenos decir que en el caso de la penicilina, pueden ser peligrosas y que sus resultados no siempre están de acuerdo con la clínica. Por estas razones y en vista de lo frecuente que es la alergia a la penicilina, existe la preocupación por encontrar un mejor procedimiento diagnóstico.

Al respecto, los doctores Salazar Mallén y Ortiz³ han desarrollado una prueba en la que se emplean eritrocitos humanos a los que se les ha unido penicilina por medio de la bencidina bidiazotada. Estos glóbulos rojos se ponen en contacto con el suero problema y posteriormente con el de Coombs. Su aglutinación indica la presencia de anticuerpos para la penicilina. En su primera comunicación los autores informaban de los resultados en 27 casos de alergia a la penicilina. En todos, menos en seis donde la respuesta tuvo los caracteres del choque anafiláctico, la prueba fue positiva.

Poco tiempo después de que Salazar Mallén y Ortiz dieron a conocer su método, Ley y colaboradores informaron haber observado que la penicilina puede unirse a los eritrocitos humanos y que éstos se aglutinan por sueros de individuos con reacciones alérgicas a este antibiótico.⁴ Este hecho fue confirmado por diversos autores y aprovechando para el diagnóstico de la alergia a la penicilina.^{5, 6, 7 y 8}

Nosotros, inspirados en los fenómenos de la anafilaxia cutánea pasiva (ACP) y en el de Arthus inverso, hemos ideado el procedimiento que relatamos en este trabajo. Los resultados han sido tan satisfactorios que decidimos presentarlos en esta Academia.

MATERIAL Y MÉTODO

Inyectamos 0.10 ml. de suero de individuos alérgicos a la penicilina y de personas sanas, en dos sitios de la piel del abdomen de conejos blancos, a la cual se le corta el pelo previamente con tijeras, para no traumatizarla en absoluto. Inmediatamente después por vía intravenosa se aplican 100,000 unidades de penicilina G sódica cristalina, recién disuelta en 1 cc. de suero fisiológico y 1/2 cc. de solución de azul de Evans al 1%.

Pasadas dos horas, sacrificamos al animal, desprendemos la piel del abdomen y por su cara interna leemos las reacciones, basándonos en la presencia del color azul motivado por la extravasación de colorante que inyectamos en la vena. Aceptamos que la unión del antígeno con el anticuerpo aplicado intradérmicamente, produciría modificaciones en la permeabilidad de los capilares de ese

sitio, con la consiguiente salida del colorante al espacio extravascular. Tanto la intensidad del color como su extensión, sirven para calificar el grado de positividad de la reacción. Una ligerísima coloración azul suele observarse con los sueros testigos.

RESULTADOS

La prueba se llevó a cabo con 35 sueros que habían sido sometidos a la prueba de Salazar Mallén. Sólo en tres casos hubo discordancia en los resultados, consistiendo en que, mientras que con la prueba de Salazar Mallén el resultado fue negativo, con la nuestra fue positivo. Entre estos 35 sueros, en 32 fue positiva nuestra reacción; los tres negativos también lo fueron con la prueba de Salazar Mallén.

El procedimiento que aquí describimos ha sido empleado en otros 8 sujetos de la clientela privada, tres con alergia a la penicilina del tipo enfermedad del suero y 5 con urticaria. En todos, el resultado fue positivo. Con uno de estos sueros efectuamos la prueba tanto con penicilina G cristalina sódica como con uno de los nuevos preparados sintéticos (metil-fenil-isoxazolil-penicilina),* resultando positiva en ambos casos, hecho que confirma lo expuesto al principio de este trabajo. En total, hasta la fecha hemos practicado el procedimiento con 43 sueros de individuos con datos clínicos muy sugestivos de alergia a la penicilina. En 40 el resultado fue positivo, contrastando con la negatividad observada con 19 sueros de individuos no alérgicos, que se usaron como testigos.

El método se sometió a diversas pruebas:

1. Se ensayó un suero positivo + + + + con cantidades diversas de penicilina que fluctuaron entre 5,000 y 100,000 unidades. Una vez obtenida la reacción positiva + + + + con 100,000 unidades del antibiótico en experimentos sucesivos se emplearon concentraciones de 50,000, 25,000, 10,000 y 5,000. Puede decirse que la intensidad y la extensión de la mancha fueron disminuyendo calificándose la reacción como negativa cuando se inyectaron 5,000 unidades de penicilina, o sea la vigésima parte de la dosis inicial.

2. En otro experimento, este mismo suero se diluyó al 1:10, 1:100, 1:1,000. Desde la dilución al 1:10 la reacción disminuyó +, conservándose así hasta con la dilución más alta: 1:1,000.

3. Se prolongó el período al cabo del cual se sacrificó al animal hasta 8 horas. No hubo cambio en la reacción.

4. Se empleó únicamente el azul de Evans en el mismo volumen de 0.5 ml., pero sin penicilina. El resultado fue negativo.

5. Se calentó un suero positivo a 56°C durante dos horas; al repetirse el experimento, el resultado fue negativo.

* Prostaflina.

DISCUSIÓN

La anafilaxia cutánea pasiva se ha observado en el cobayo con anticuerpos del conejo y también con humanos^{9, 10, 11}. Respecto a estos últimos, se acepta que las reagentes atópicas no producen el fenómeno que nos ocupa, pero que es frecuentemente positivo en la enfermedad del suero.¹² Parece que sólo los anticuerpos de la variedad "ligera" -7S- son los únicos capaces de engendrar el fenómeno de la ACP.¹¹ Por lo demás, tanto los anticuerpos precipitantes como los no precipitantes pueden producirla.⁹

Nosotros no hemos podido producir la ACP con tres sueros de individuos con urticaria por penicilina, ni tampoco con los de dos asmáticos, uno por alergia al polvo casero y otro por sensibilidad al polen de grama (*Capriola dactylon*). Por el contrario, muy recientemente¹¹ Josephson, Franklin y Ovary señalan haber provocado la reacción con tres sueros de otros tantos sujetos que habían padecido recientemente enfermedad del suero por penicilina. Es importante aclarar que el antígeno empleado por los autores no fue penicilina sola, sino una combinación del antibiótico con la fracción II de Cohn (gama globulina humana) de la proteína del suero humano.

El estudio de los caracteres físicos y biológicos de los anticuerpos para la penicilina¹³ demuestra que éstos son tanto de la variedad ligera -7S- como de la pesada: 19S. Por tanto, es verosímil que existiendo los primeros, que según ya hemos dicho son capaces de fijarse a la piel, haya sido posible la reacción de la ACP. Casi seguramente nosotros fallamos por emplear penicilina sola en vez del complejo penicilina-proteína. En lo que toca a los anticuerpos atópicos en general, éstos son principalmente de la variedad pesada, lo que tal vez explica por qué no hemos podido producir el fenómeno con los sueros de pacientes alérgicos al polvo y a pólenes.

En 1903, Arthus descubrió el fenómeno que lleva su nombre.¹⁴ Donde mejor se observa es en el conejo y consiste en la formación de una zona de necrosis en el lugar donde se ha inyectado el antígeno, si existe en la circulación un buen título de anticuerpo precipitante. Se han establecido tres características fundamentales de este fenómeno: la indispensable presencia de vasos en el tejido de choque; la existencia de anticuerpo precipitante y la posibilidad de que la reacción se efectúe sin que medie un período de espera entre la aplicación del antígeno y la del anticuerpo, requisito indispensable para que se produzca la ACP.

Se puede invertir el proceso de producción del fenómeno de Arthus. En lugar de inyectar el antígeno localmente, puede aplicarse el antisuero y al mismo tiempo, introducirse a la circulación el antígeno.^{12a} Esto es lo que hemos hecho en el experimento que ahora relatamos y la extravasación del colorante indica que hay algún daño vascular en el lugar donde inyectamos el suero posiblemente poseedor de anticuerpos para la penicilina. Sin embargo, el estudio histológico

de las piezas no demostró necrosis, por lo que no podemos hablar de un verdadero fenómeno de Arthus. Además, según las ideas clásicas, los anticuerpos de la alergia no son precipitantes, hecho que constituye un escollo más para catalogar a lo que hemos visto con el nombre del fenómeno de Arthus inverso.

Actualmente hay la tendencia a no aceptar la división de los anticuerpos en precipitantes, aglutinantes, etc., sino que se piensa que todos los anticuerpos son capaces de producir todo tipo de uniones o de reacciones con el antígeno, si bien con diferente eficiencia y distinto umbral.¹⁵ Por el contrario, conservan todo su valor, sus características químicas y físicas, de tal modo que el hecho de que nuestro experimento se haya vuelto negativo al calentar un suero positivo a 56°C durante dos horas, nos debe hacer pensar que son las reagentes atópicas los anticuerpos que intervienen en la reacción que estudiamos.

En vista de las consideraciones anteriores, podemos aceptar, por lo menos por ahora, que lo que nosotros observamos es semejante a un fenómeno de Arthus inverso, con la particularidad de que es producido por un anticuerpo que tiene algunas características que lo identifican con las reagentes atópicas y de que puede desencadenarse con la inyección de penicilina sola, sin que esto quiera decir que el antibiótico no pueda unirse con alguna otra sustancia propia del animal o del suero humano, antes de que se produzca la reacción.

Como no pudimos reproducir los resultados con el suero de un paciente muy alérgico al polen de grama (*Capriola dactylon*) concluimos, también provisionalmente, que los anticuerpos de la penicilina tienen ciertas características, que los otros no poseen, en virtud de las cuales puede producirse en el conejo un fenómeno parecido al de Arthus inverso. También cabe la hipótesis de que este fenómeno no sea debido a caracteres especiales del anticuerpo, sino que dependa de las propiedades del antígeno o de la unión de ambos.

Finalmente, desde el punto de vista práctico, parece que su utilidad en el diagnóstico de la alergia a la penicilina es manifiesta, ya que hasta ahora sólo se han encontrado tres reacciones negativas en individuos etiquetados como alérgicos a la penicilina. Además, la prueba es positiva también en el caso de choque anafiláctico, según se ha observado en tres casos de los 35 estudiados en primer término.

Por medio de este procedimiento hemos podido comprobar la similitud antigénica entre la penicilina G y la metil-fenil-isoxazolil-penicilina, hecho que no por esperado deja de ser interesante, en vista de la idea existente en muchos médicos de que estos nuevos preparados sintéticos pueden ser bien tolerados por los sujetos que han presentado alergia a las penicilinas clásicas.

RESUMEN

Se describe un método biológico para el diagnóstico de la alergia a la penicilina. De 43 sueros de personas con datos clínicos de alergia a este antibiótico, 40 resultaron positivos. En cambio, 19 sueros de personas no alérgicas, empleados como testigos, dieron respuesta negativa.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chisholm, D. R., English, A. R., y MacLean, N. A.: *Immunologic response of rabbits to 6-aminopenicillanic acid*. J. Allergy, 32: 333, 1961.
2. Campos Salas, A y Comesaña Rendo, F.: *Encuesta sobre las reacciones provocadas por penicilina observadas por médicos*. Alergia, Rev. Iberoam. Alergol., 9: 113, 1962.
3. Salazar Mallén, M.: *Panorama de la Alergia*. Trabajo presentado en la Reunión anual de la Sociedad Mexicana de Alergistas. México, 1958.
4. Ley, B. A., Harris, P. J., Brinkley, M., Liles, B., Jack, A. J. y Cahan, A.: *Circulating antibody directed against penicillin*. Science, 127: 1118, 1958.
5. Watson, K. C., Joubert, S. M. y Bennett, M. A.: *The occurrence of hemagglutinating antibody to penicillin*. Immunol, 3: 1, 1960
6. Epp, M.: *Serological procedure for the detection of antibodies to penicillin*. Science 130: 1472, 1959.
7. Bird, B. W.: *Penicillin antibody*. J. Clin. Path. 13: 51, 1960.
8. Heggie, A. D.: *Incidence of circulating antibody to penicillin in penicillin hypersensitivity reactions* New England J. Med. 262: 1160, 1960.
9. Ovary, Z. y Biozzi, G.: *Passive sensitization of the skin of the guinea pig with human antibody*. Int. Arch. Allergy, 5: 241, 1954.
10. Deicher, H., Holman, H., Kunkel, H. y Ovary, Z.: *Passive cutaneous anaphylaxis reactions with a systemic lupus erythematosus serum factor and isolated DNA* The J. Immunol., 84: 106, 1960
11. Josephson, S. A., Franklin, C. E. y Ovary, Z.: *The characterization of antibodies to penicillin*. J. Clin. Invest., 41: 588, 1962.
12. Raffel, S.: *Immunity*. Appleton Century. New York. 1961. p. 305.
- 12a. *Ibid*, p. 284.
13. Fudenberg, H. H. y German, J. L.: *Certain physical and biological characteristics of penicillin antibody*. Blood, 15: 683, 1960.
14. Arthus, M.: *De l'anaphylaxie a l'immunité*. Masson. París. 1921. p. 21 a 57.
15. Chase, W. M.: *Qualitative differences in antibodies*. En *Mechanisms of hypersensitivity*. Symposium del Hospital Henry Ford. Little, Brown y Cia. Boston, 1959. p. 4.

COMENTARIO AL TRABAJO "UN NUEVO
METODO PARA DIAGNOSTICO DE LA
ALERGIA A LA PENICILINA*

DR. JULIO CUEVA V.

O VARY y BROSSI en 1954 sensibilizaron la piel de cobayos con antisueros humanos, lo cual demostraron al introducir por vía intracardiaca una mezcla del antígeno con azul de Evans y la reacción positiva se manifestó por la tinción del sitio sensibilizado con color azul. Los autores señalaban que esta prueba podría substituir a la de transferencia pasiva o de Praunitz Kustner.

Prochazka y colaboradores en 1956 hicieron los mismos experimentos con anticuerpos de personas con reacciones urticarianas espontáneas (reaginas) e inducidas (anafilácticos) con objeto de ver la posibilidad de provocar anafilaxia cutánea pasiva A.C.P.

En ninguno de los casos espontáneos (pólenes, sueros de caballo y epitelio) pudieron producir la sensibilización en el cobayo a pesar de haber logrado una reacción positiva e intensa Praunitz Kustner.

Josephson y colaboradores en 1962 hicieron el experimento con cobayos empleando una combinación de penicilina con una fracción de gama globulina de suero humano, obteniendo resultados positivos con la inyección del antígeno por vía venosa mezclada con azul de Evans.

Seguramente éstas fueron las bases del actual trabajo de investigación que nos presenta el Dr. Martínez Cortés, el cual ha hecho algunas modificaciones personales.

Comparando los resultados por él obtenidos encontramos que en 43 enfermos a los cuales les fue practicada la reacción, en 40 de ellos fue positiva o sea en el 93%.

En un reciente estudio presentado por Vilches y Venegas se analizaron pruebas directas o indirectas.

En 10 casos de alergia clínica a la penicilina los resultados fueron negativos

* Léido en la sesión del 1° de agosto de 1962.

(empleando 1 U \times ml) con la transferencia pasiva o de Praunitz Kustner.

En 14 casos la prueba de escarificación sólo fue positiva en 3 de ellos.

En 11 casos la prueba intradérmica sólo fue positiva en 7 casos.

En 19 casos la prueba de unción sólo fue positiva en 5 con una solución de 10 U \times ml.

La prueba de Salazar Mallén en un nuevo grupo estudiado de 27 pacientes fue positiva en 25 o sea el 92%.

Por lo tanto la prueba que nos presenta el Dr. Martínez Cortés y su colaborador, nos da resultados comparables a este último estudio y muy superior a las pruebas de unción, escarificación e intradérmica. La ventaja sin embargo es sobre todo que no expone al paciente a una reacción semejante a la cual consulta.

Por otra parte creo que la técnica que presenta es sencilla, aunque un poco laboriosa y sólo al alcance de medios hospitalarios y con facilidades para la investigación con animales de laboratorio.

La presentación del trabajo del Dr. Martínez Cortés y su colaborador ha sido revisando cada caso cuidadosamente, lo mismo que cada experimento, ensayando la dosis adecuada y el tiempo máximo del fenómeno observado, así como el tiempo mínimo. La presentación de los resultados es sencilla y clara y sin malabarismos nos enseña los resultados precisos que obtuvieron los autores.

Por último en la discusión nos señala la posible causa de la negatividad en tres de sus casos. Me parece que en forma breve y concisa se ha presentado una investigación amplia y minuciosa de una nueva técnica para determinar la alergia a la penicilina.

Posiblemente en el futuro esta técnica pueda ser aplicada en la alergia a otras drogas o medicamentos.

Felicito a los autores por este interesante trabajo en la investigación de un problema que se presenta con tanta frecuencia en todo el mundo (3 a 15% de las personas que se aplican este antibiótico) y que en su manifestación va desde una simple urticaria pasajera hasta un choque, que mal controlado puede llegar a ser fatal.