

67
251.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



**VALORACION INMUNOLOGICA Y MICROBIOLOGICA
EN LA DERMATITIS ATOPICA**



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

CLAUDIA HUESCA GOMEZ



MEXICO, D. F.

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE.

	pag
OBJETIVOS	
INTRODUCCION.	1
I. DERMATITIS ATOPICA.	
1. Antecedentes historicos.	2
2. Definición.	4
3. Factores asociados.	
3.1. Genéticos.	5
3.2. Inmunológicos.	
3.2.1. Inespecíficos.	6
3.2.1.1. Quimiotaxis.	8
3.2.1.2. Fagocitosis.	10
3.2.2. Específicos.	
3.2.2.1. Inmunidad humoral.	12
3.2.2.2. Inmunidad celular.	18
4. Infecciones asociadas.	20
II. VALORACION INMUNOLOGICA.	
1. Mecanismos de defensa inespecíficos.	22
2. Inmunidad humoral.	24
3. Inmunidad celular.	30
III. VALORACION MICROBIOLOGICA.	
1. Bacteriológica.	32

2. Micológica.	32
IV. PROTOCOLO.	35
RESULTADOS.	37
ANALISIS DE RESULTADOS.	46
CONCLUSIONES	54
ANEXO A.	55
ANEXO B.	61
APENDICE.	64
BIBLIOGRAFIA	66

OBJETIVOS

- Valorar la inmunidad humoral *in vitro*, por medio de la cuantificación de IgE total e IgE específicas séricas e *in vivo* por medio de pruebas cutáneas de tipo inmediato frente a distintos alérgenos en pacientes con dermatitis atópica.
- Valorar la inmunidad celular *in vitro* por medio de la cuantificación de las subpoblaciones de linfocitos T (CD4 / CD8) e *in vivo* por medio de pruebas cutáneas de tipo tardío frente a 5 antígenos en estos pacientes.
- Estudiar los mecanismos de defensa inespecíficos por medio de la fagocitosis y la quimiotaxis.
- Aislar y tipificar los agentes etiológicos (bacterias y hongos) de las infecciones asociadas a este padecimiento.

INTRODUCCION.

La dermatitis atópica es una enfermedad cutánea inflamatoria crónica, eccematosa, pruriginosa, que se encuentra asociada con niveles elevados de IgE sérica; y a menudo con otras manifestaciones alérgicas (asma bronquial extrínseco y/o rinitis alérgica), pero en ocasiones puede presentarse en forma pura.

Su inicio a menudo es en la infancia temprana, raro antes de los dos meses de edad, en la mayoría de los casos antes de los seis meses .

Su patogénesis aun es pobremente conocida, sin embargo se considera que pertenece a un tipo dual al I y IV de la clasificación de Gell y Coombs.

El 70% de los pacientes presentan antecedentes atópicos tanto personales o familiares, y un 80% muestran respuestas cutáneas inmediatas a alérgenos ambientales comunes.

Se ha comprobado la disminución en la respuesta inmune celular, por lo que estos pacientes se infectan secundariamente con relativa frecuencia ya sea por bacterias, hongos o virus, quizá estos procesos ocurren por una disminución en la fagocitosis y la quimiotaxis.

I. DERMATITIS ATOPICA

1. ANTECEDENTES HISTORICOS.

La dermatitis atópica es una enfermedad de la que se hace referencia desde la antigüedad, siendo Aetius de Amidas en el año 534 A.C quien hace mención de la primera condición en la piel, semejante a lo que hoy se conoce como dermatitis atópica. (8).

En la Biblia en el libro de Job, relata que éste padecía de una enfermedad caracterizada por eccema y una infección severa, conociéndose desde tiempos remotos a esta como " Síndrome de Job ".

Durante muchos siglos no se encontraron datos de la enfermedad en la literatura, siendo hasta el año 1472 por Paolo Bagellargo quien hace la primera descripción clínica de ésta en la niñez, junto con datos de su tratamiento, publicándolo en el primer texto de pediatría del mundo occidental llamado " Notas de enfermedades físicas de la niñez ".

En 1884 Von Hebra describe una erupción intensa, pruriginosa con distribución flexural , la cual es una característica específica de la enfermedad.

Trousseau en 1873 habla sobre la asociación del eccema atópico y el asma (45).

En 1892 Besnier señala la aparición de un trastorno cutáneo pruriginoso hereditario iniciado en la infancia, aún en Europa se le conoce como " prurigo de Besnier"(15)

En 1902 otro dermatólogo francés, Brock, usa el término de "dermatitis difusa", sugiriendo que la entidad es causada por una inestabilidad del sistema nervioso, este concepto fue considerado en la primera mitad de este siglo.

En 1923 Coca-Cooke describieron el término de "atopia", del griego *atopos* (no común) aplicándose este al grupo de enfermedades que incluyen rinitis alérgica, asma bronquial extrínseco y dermatitis atópica.

En 1933 Wise y Sulzberger, fueron quienes crearon el término de dermatitis atópica, insistiendo en su asociación con asma y rinitis alérgica (triada alérgica). (15).

En el periodo comprendido entre 1930-1960 , consideran que la dermatitis atópica es de origen psicogénico.

En 1966 Kimishy y Teruko Ishizaka, en la Universidad de Colorado en E.U.A. y Johansson en Suecia en 1967, descubrieron una nueva inmunoglobulina, a la que denominaron IgE. Johansson asocia la presencia de grandes cantidades de IgE en la dermatitis atópica.

Actualmente a esta enfermedad se le clasifica dentro de la hipersensibilidad tipo I (según Gell y Coombs).

2. DEFINICION

La dermatitis atópica es una enfermedad de la piel, con tendencia a la cronicidad, con remisiones y exacerbaciones, que se caracteriza por prurito intenso y lesiones papulovesiculares, eritematosas y la presencia de placas escamosas liquenificadas. Su topografía es variable dependiendo de la edad del paciente. Afecta principalmente a la población pediátrica, en relación mujer hombre 3:2. El 85% de los casos se manifiestan antes de los 5 años de edad. Su etiología es multifactorial interviniendo factores genéticos, inmunológicos, ambientales, infecciosos y psicológicos.

3. FACTORES ASOCIADOS

Actualmente se asocian varios factores que intervienen en la etiopatogenia de la enfermedad.

3.1 GENETICOS .

Aproximadamente el 70% de los pacientes con dermatitis atópica tienen historia familiar de atopia (3, 12, 15, 42), lo que sugiere una herencia autosómica dominante. Se ha reportado la presencia de antígenos del complejo principal de histocompatibilidad en los que se detectan HLA- A9, HLA- A3, HLA- B12 y HLA- BW40 (4, 48).

Del 70 al 80 % de los casos cursan con alergias respiratorias (5, 13, 23), como asma bronquial extrínseco y rinitis alérgica.

Un estudio hecho por Kustner (26), en 188 pacientes con dermatitis atópica y sus familias, reporta una incidencia de 36% de rinitis, 28% asma bronquial extrínseco y 15% en ambas, también demuestran que la dermatitis atópica afecta mas frecuentemente a mujeres que a hombres (en relación 1.5 : 1)

La incidencia respecto a factores genéticos familiares demuestra que cuando ambos progenitores son atópicos existe un 42% , cuando sólo un progenitor es atópico es del 29% y cuando ninguno es atópico es del 10%.

3.2. INMUNOLOGICOS

3.2.1 MECANISMOS DE DEFENSA INESPECIFICOS.

Cuando un microorganismo se pone en contacto con el sistema inmune del hospedero se encuentra con células fagocíticas, derivadas de células primordiales de la médula ósea, que tienen la función de englobarlos fagocitarlos y destruirlos. Para dicho fin están ubicadas en puntos donde se encontrará con el agente agresor. (41)

En el hombre se han desarrollado dos sistemas de células fagocitarias (56, 61). El sistema leucocito polimorfonuclear y el sistema monocito - macrófago, los dos tienen ciertas características semejantes. En su carácter biológico los polimorfonucleares están libres en la circulación, siendo capaces de reconocer partículas extrañas por una gran variedad de mecanismos. El sistema monocito - macrófago desempeña un papel importante en colaboración con el sistema inmune, especialmente en áreas de inmunoregulación y en la presentación del antígeno (62)

SISTEMA LEUCOCITO POLIMORFONUCLEAR.

Suelen designarse como polimorfonucleares (PMN) o neutrófilos, representan aproximadamente el 90% de los granulocitos circulantes, miden de 10 a 20 μ de diámetro. Se producen en la médula ósea, con una vida corta de 2 - 3 días en circulación. Los neutrófilos contienen dos tipos de gránulos :

azurófilos o primarios, éstos miden 1.5 μ m, son densos y voluminosos, aparecen durante la maduración de los neutrófilos, contienen diversas enzimas como hidrolasas ácidas, proteasas, mieloperoxidasas, lisozimas (muraminidasas), proteína catiónica; gránulos específicos o secundarios miden 0.2 μ m son menos densos, contienen lisozima, lactoferrina y fosfatasa alcalina (45).

Los neutrófilos son los primeros en acumularse en la inflamación aguda (43) . En la sangre y espacios extravasculares ejercen efectos antimicrobianos en conjunto con anticuerpos, complemento y factor quimiotáctico(56); llevando a cabo así su principal función " la fagocitosis " .

3.2.11. QUIMIOTAXIS.

Los polimorfonucleares están en circulación en torno a la red vascular. El grado de movilización de éstos depende de un estímulo quimiotáctico, pudiendo ser el producto de una bacteria (péptidos formil - metionina) o también a consecuencia de necrosis de tejido o de actividad del complemento con generación de C5a, (vía alterna del complemento). Después de un proceso inflamatorio existe la liberación de proteasas por activación de polimorfonucleares y macrófagos que dividen a C3a, además de C567, algunas células liberan leucotrienos, factores quimiotácticos potentes que atraen más leucocitos PMN al sitio (17, 56)

La estimulación de la membrana de los polimorfonucleares trae como consecuencia una serie de cambios estructurales y un reacondo de los receptores que facilitan las funciones celulares (19).

Después de recibir un estímulo quimiotáctico, los polimorfonucleares migran al compartimiento extravascular, expresando moléculas con las cuales se adhieren al endotelio vascular atravesando éste por un proceso denominado diapedesis, que es iniciado por la hiperpolarización de la membrana celular debido a una acumulación de Ca^{2+} intracelular, quedando disponible para el proceso de motilidad celular, además hay cambios en el potencial de membrana donde el Na^{+} y K^{+} se translocan,

permitiendo una mayor adherencia del agente extraño con la membrana celular del PMN (19, 61). Este aumento de adherencia está asociado con un aumento de la expresión de adherencia molecular, es decir la molécula CR3 (Mac I) y la molécula LFA (antígeno de función leucocitaria)- 1, que son expresadas por los neutrófilos (61).

OPSONIZACION.

La función de las opsoninas es de reaccionar con microorganismos y volverlos más susceptibles para su ingestión por los fagocitos, disminuyendo la hidrofobidad así como la repulsión de cargas entre el microorganismo y el PMN.

La opsonización se puede llevar a cabo de las siguientes maneras:

1. Opsonización con IgG 1 e IgG 3.
2. IgM o IgG reaccionando con los microorganismos y actuando junto con la vía clásica del complemento .
3. A través de vía alterna del complemento mediante la fracción C3b (opsonización inespecífica).

3.2.12. FAGOCITOSIS.

En la membrana celular del fagocito (19). Una vez reconocida la partícula o agente infeccioso por estructuras complementarias a éste, se inicia la fase de ingestión por el sistema actina - miosina, en el que se extienden pseudópodos alrededor de la partícula, después la membrana plasmática es empujada alrededor de la partícula hasta que es cerrada completamente. (44) Los pseudópodos se fusionan en el polo distal para formar un fagosoma, los gránulos citoplasmáticos del neutrófilo (lisosoma) se fusionan con el fagosoma (fagolisosoma) y vacian su contenido dentro de éste, que contiene al agente agresor siendo sometido a mecanismos microbicidas, a través de azuropileno o contenido granular primario (61). Cuando el microorganismo ha sido opsonizado por el componente C3b y anticuerpos la fagocitosis se ve intensificada.

La fagocitosis es un fenómeno que depende de energía requiriendo de mecanismos intracelulares que incluyen, glucólisis, aumento de la oxidación de glucosa por vía hexosamonofosfato y producción de peróxido de hidrógeno, llamándose a este proceso estallido respiratorio (19, 42, 44, 45, 56, 61). Para ello primero debe de haber contacto entre las partículas y la membrana del polimorfonuclear, después la

activación de las flavoenzimas asociadas a la membrana (NADPH oxidasa utilizada para reducir el oxígeno molecular unido a un único citocromo Cit-245 de la membrana plasmática) produciéndose anión superóxido, peróxido de hidrógeno, oxígeno y radicales oxidrilo, todos ellos potentes agentes microbicidas (19, 43)

Estos mecanismos parecen estar alterados en pacientes con dermatitis atópica (44, 52).

3.2.2 MECANISMOS ESPECIFICOS.

3.2.2.1 INMUNIDAD HUMORAL

La respuesta inmune humoral en pacientes con dermatitis atópica se encuentra alterada, principalmente en la producción de anticuerpos de la clase IgE.

Los anticuerpos IgE e IgG4 están implicadas directamente en la mediación de enfermedades alérgicas (hipersensibilidad de tipo I inmediata - anafiláctica, según Gell y Coombs), como asma bronquial extrínseco, rinitis alérgica, dermatitis atópica y algunos casos de urticaria y angioedema.

- IgE

La IgE es una glicoproteína con carácter de gamma globulina, presenta un coeficiente de sedimentación de 8S y un peso molecular de 188,000 D., contiene aproximadamente 12% de carbohidratos. Está compuesta por dos cadenas ligeras (kappa o lambda) y dos pesadas epsilon (ϵ). La cadena ϵ tiene peso molecular de 72,300 D., es bivalente, termolábil, no atraviesa placenta, tiene la capacidad de fijarse a receptores específicos presentes en mastocitos y basófilos (células cebadas); su concentración en suero es en cantidades mínimas de 0.1 - 0.4 microgramos / ml. Constituyendo el 0.001% del total de inmunoglobulinas séricas. Se producen diariamente 2.3 mcg / kg, (10) su vida media en circulación es de 2.3 días, la IgE unida a

mastocitos de 8 a 12 semanas.

Las cifras más altas se observan entre los diez y quince años.

Los niveles de IgE sérica en humanos están a menudo elevados en enfermedades que se asocian con un defecto en la función de células T. (55), en sujetos atópicos y en sus familiares también se encuentran concentraciones moderadas de IgE total en suero. Los niveles de IgE se expresan en unidades internacionales (una UI es igual a 2.4 nanogramos).

IgE UI / ml.	EDAD.
0.5	Recien nacidos.
2.0	Seis semanas
6.6	Seis meses.
7.3	Doce meses.
9.5	Dos años.
5.5	Tres años.
24.3	Cuatro años.
120.0	Diez años en adelante.

Los niveles de IgE total dependen de factores genéticos y ambientales. Las concentraciones elevadas de esta inmunoglobulina en suero, pueden ser heredadas como una característica recesiva mendeliana, y algunas veces se asocia con ciertos antígenos de histocompatibilidad (55, 48). En caso de aeroalergenos la dosis para iniciar la producción de IgE es muy baja.

Otros factores determinantes en la respuesta de IgE incluye permeabilidad de las mucosas de la piel, así como la edad, sexo y raza. EN la dermatitis atópica existen concentraciones elevadas de IgE total más de 2000 UI / ml (entre el 80 - 90% de los pacientes). Cuando la dermatitis atópica se asocia con enfermedades alérgicas respiratorias como asma bronquial extrínseco y rinitis alérgica, las concentraciones de la IgE total son mucho mayores.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LA IgE.

Las células cebadas están directamente involucradas en la respuesta inmediata. Estas comprenden a los basófilos y mastocitos presentes en tejido conjuntivo y mucosas de intestino medio, pulmón, así como en circulación y piel. Los mastocitos y basófilos presentan receptores de alta afinidad para la fracción Fc de la IgE (kds 10^{10}). En los pacientes atópicos la exposición repetida frente a alérgenos anemófilos, de alimentos o de medicamentos, genera la producción de anticuerpos IgE que se unen a los receptores antes mencionados. En la exposición antigénica subsecuente las moléculas de alérgenos unen a dos IgE adyacentes (unidas a la membrana celular de las células cebadas), por la fracción Fab. Esto conduce a una aumento en la permeabilidad en la membrana de mastocitos permitiendo la liberación por exocitosis de los gránulos intracitoplasmáticos ricos en mediadores químicos.

Estos mediadores presentan acción potente en diversos tejidos, los liberados de inmediato como histamina que tienen efecto de vasodilatación y broncoconstricción así como el FGE-A, FOPMny PAF que inducen quimiotáxis de eosinófilos, neutrófilos y activación de plaquetas, respectivamente. Los mediadores sintetizados de novo como leucotrienos causan broncoconstricción y quimiotáxis, asimismo las prostaglandinas y tromboxanos conllevan a la contracción de músculo liso bronquial, agregación plaquetaria y vasodilatación, responsables de la fase tardía en la respuesta alérgica.

Todas estas moléculas son las inductoras de los síntomas clínicos de la hipersensibilidad tipo I.

- HIPERSENSIBILIDAD A AERIALERGENOS Y ALIMENTOS.

Los alérgenos son antígenos hidrosolubles que producen respuestas alérgicas, sus pesos moleculares son mayores a 10,000 daltones, la mayoría son proteínas, glicoproteínas o polisacáridos. De acuerdo a la vía de exposición se clasifican en inhalables, ingeribles, inyectables y contactantes. Las propiedades físico - químicas de un alérgeno contribuyen a la respuesta inmune mediada por de IgE (48).

Se ha demostrado que los pacientes con dermatitis atópica producen anticuerpos IgE específicos contra ciertos alérgenos de pólenes, hongos, ácaros del polvo casero, *destritus* de animales, y

alimentos (52), e s t o s a l e r g e n o s p u e d e n a u m e n t a r l a s m a n i f e s t a c i o n e s c u t á n e a s t í p i c a s d e e s t a e n f e r m e d a d , p r o d u c i e n d o p r u r i t o y e r i t e m a q u e l l e v a n a l r a s c a d o y a l a s l e s i o n e s e c c e m a t o s a s . (20).

La hipersensibilidad a alimentos ha sido ampliamente estudiada (desde 1931) y se ha establecido que desempeña un papel patógeno en la dermatitis atópica (8, 24), los antígenos más comunes son : huevo, cacahuete, avena, pescado, leche, trigo, nuez, tomate y camarón. Se han encontrado anticuerpos IgG4 contra las proteínas del huevo (lactoalbumina y lactoglobulina), sin haber correlación con los niveles de IgE específica (32, 37).

En un estudio hecho por Sampson con 20 alérgenos en 113 pacientes con dermatitis atópica, demostró un 85% de respuesta en piel, 52% con síntomas gastrointestinales y un 35% con síntomas respiratorios (51) frente al huevo, cacahuete, leche, trigo, soya y pescado.

Esta plenamente demostrado que se producen niveles elevados de IgE específica y últimamente anticuerpos de la clase IgG4 contra los alérgenos de los ácaros *Dermatophagoides pteronyssinus* y *Dermatophagoides farinae* (2, 18). Harving en un estudio llevado a cabo en 24 pacientes con dermatitis atópica, muestra una asociación entre la exposición a los ácaros *Dermatophagoides pteronyssinus* y *Dermatophagoides farinae* y enfermedad alérgica, comprobando que los ácaros del polvo casero

representan un factor etiológico importante en estos pacientes
(18)

- INMUNOGLOBULINAS.

En el 70 - 80% de los pacientes se encuentran cifras altas de IgE, lo cual indica un proceso atópico. Las concentraciones de las otras inmunoglobulinas (IgG, IgA, IgM e IgD) son normales en la mayoría de los pacientes; sin embargo en un número significativo existe una disminución transitoria de IgA (3, 13, 55), ésta disminución se observa principalmente en los seis primeros meses de vida, ya que la alimentación con pecho materno sirve como suministro de IgA que actúa como recubrimiento del tubo digestivo, al no proporcionarse la leche materna no hay suministro de IgA permitiendo que haya una mayor permeabilidad para antígenos alimentarios, lo cual deja al paciente en riesgo de sensibilización.

En algunos pacientes con dermatitis atópica se han observado concentraciones elevadas de IgG, esto puede deberse a que la IgG4 se relaciona en pacientes con dermatitis atópica, los cuales presentan susceptibilidad a alérgenos alimentarios (32, 37), así como a los ácaros del polvo casero (2). También se ha demostrado existencia de anticuerpos IgG contra la IgE producida (38).

3.2.2.2 INMUNIDAD CELULAR.

La hipersensibilidad retardada (tipo IV según Gell y Coombs) relacionada con la inmunidad celular esta mediada por linfocitos T, esto implica, primero en condiciones normales reacciones de protección específica, segundo cuando esta alterada estados de hipersensibilidad.

Las células T sensibilizadas por un antígeno liberan linfocinas al estar en contacto subsecuente con el mismo ; éstas inducen reacciones inflamatorias activando y atrayendo macrófagos (45). La reacción más conocida y típica es la Mantoux. En ésta la tuberculina es inyectada por vía intradérmica en un individuo que previamente montó un estado de inmunidad celular. La reacción se caracteriza por presentar induración y eritema mayor a 5 mm. en un lapso de 48 horas. La presencia del antígeno tiende a favorecer el desarrollo de la respuesta mediada por células T, caracterizada por un infiltrado de células mononucleares seguido de edema.

En los pacientes con dermatitis atópica se pueden presentar dermatitis de contacto, lo cual implica la participación de la hipersensibilidad de tipo IV (9, 17, 48).

Se ha reportado que existe un patrón de inmunidad celular alterada en los pacientes con dermatitis atópica (41, 53),el que se pone de manifiesto al presentar anérgia cutánea a diferentes

antígenos como PPD, varidasa, tricoftina, candidina y toxoide tetánico, (35, 56). Debido a esto hay una mayor susceptibilidad a las infecciones (4, 12, 27, 30, 40).

Por análisis de las subpoblaciones de linfocitos T, se ha demostrado que en los pacientes con dermatitis atópica hay una disminución en la subpoblación CD8 (células T con acción supresora) (28, 54), lo cual explica una regulación anormal en la producción de IgE (56, 34).

4. INFECCIONES ASOCIADAS.

Las infecciones secundarias en la dermatitis atópica se asocian con una disminución en la actividad de la inmunidad celular (5, 27) lo cual implica un decremento en la quimiotaxis de polimorfonucleares y una alteración en el sistema fagocitario (5, 12, 43). Asociado a una baja en el umbral al prurito que conduce al intenso rascado destruyendo la barrera protectora de la piel. Estas infecciones incluyen a bacterias, virus y hongos (60).

INFECCIONES BACTERIANAS.

La complicación más común suele ser producida por *Staphylococcus aureus* que coloniza la piel, causando impetigo y foliculitis (3, 15) en los niños frecuentemente se observa en las zonas flexoras, en adolescentes se presenta como pústulas pruriginosas en las extremidades (58). La colonización crónica estafilocócica en éstos pacientes es un factor etiológico importante asociado a la dermatitis atópica (15, 36). Ocasionalmente se puede presentar infección por *Streptococcus pyogenes*

INFECCIONES VIRICAS.

Las lesiones en forma de vesículas y pústulas en áreas de la

piel predominantes en lugares donde hubo eccema previo, puede ser debido a una infección por herpes simple (conocida como erupción variciliforme de Kaposi). Además de eccema vacunal, por virus de vaccina. Se puede presentar molusco contagioso, el cual consiste en pápulas umbilicadas definidas afectando zonas de dermatitis activa.

INFECCIONES MICOTICAS.

Pueden haber infecciones por hongos levaduriformes y filamentosos como *Candida sp.*, *Pityrosporum ovale* y *Trichophyton rubrum*, en partes húmedas o secas de piel, de pliegues cutáneos y pies. Se ha indicado la participación frecuente de *Pityrosporum ovale* en cara, piel cabelluda y cuello de los pacientes con dermatitis atópica. El prurito causado y el rascado subsecuente transfiere a *Pityrosporum ovale* hacia las lesiones existentes . La digestión por enzimas sobre la pared celular libera alergenos que se encuentran dentro de la levadura, que pueden inducir la producción de IgE específica. (22)

Los dermatofitos suelen causar lesiones a nivel interdigital en los pies.(7).

II. VALORACION INMUNOLOGICA.

1. MECANISMOS DE DEFENSA INESPECIFICOS.

QUIMIOTAXIS

La migración de los fagocitos en respuesta a un estímulo quimiotáctico, generalmente se estudia mediante la cámara de Boyden que consta de dos compartimentos separados por una membrana con poros, los leucocitos polimorfonucleares migran por difusión pasiva al otro lado de la cámara, el movimiento de las células es estimulado al añadir factor quimiotáctico como C5 o tetrapeptido t - met - leu - phe. En éste trabajo se utilizó una técnica modificada de la cámara de Boyden. (39).

Este método está basado en la migración de las células a través de un gel de agarosa, permitiendo la medición de la quimiotaxis y de la migración espontánea, utilizando una cantidad mínima de células para la prueba, siendo rápida, simple y reproducible.

FAGOCITOSIS.

La ingestión de partículas (previamente opsonizadas) se realiza incubandolas con polimorfonucleares, después se determina el número de partículas ingeridas o índice fagocitario :

$$\text{índice fagocitario} = \frac{\text{No. células con partículas ingeridas} \times 100}{\text{No. total de células}}$$

El estallido respiratorio se cuantifica con la generación de superóxido y peróxido de hidrógeno por quimioluminiscencia, reducción de citocromo C o por reducción de azul de tetrazolio (NBT).(14, 61). En este trabajo se utilizó una solución de NBT en estado oxidado (color amarillo) reduciéndose a azul de formazan. Los polimorfonucleares se incubaron con partículas y NBT, siendo ingeridos, después del estallido oxidativo se reduce el NBT. Las células fagocíticas activas presentan citoplasma de color azul.

2. INMUNIDAD HUMORAL.

IN VITRO.

DETERMINACION DE Ige TOTAL.

Existe una gran cantidad de métodos para medir la Ige total en suero. Las técnicas como inmunodifusión y anticuerpos anti-IgE marcados, han sido suplidas por radioinmunoanálisis (RIA utilizando isótopos radiactivos como marcadores de antígeno o anticuerpo). Y más recientemente por inmunoensayo enzimático con enzimas ligadas a un inmunoabsorbente inerte (ELISA).

Los inmunoensayos son utilizados por que son específicos, sensibles y no exponen a radiaciones. Las enzimas utilizadas son peroxidasa o fosfatasa.

En estas técnicas las enzimas son conjugadas o unidas a antígenos o anticuerpos covalentemente, sin que el conjugado resultante pierda su actividad enzimática.

Estas técnicas se dividen en dos variantes :

- a) Sistema homogéneo
- b) Sistema heterogéneo.

a) Sistema homogéneo, el EMIT (Enzyme Multiplied Immuno Assay Technique), se basa en la inhibición de la activación de enzimas por interacción con anticuerpos, utilizando enzimas de bajo peso molecular. Este ensayo es útil para el análisis de

niveles terapéuticos de medicamentos o detección de drogas, requiriendo volúmenes mínimos de muestra (microlitros).

b) Sistema heterogéneo: en 1971 Engvall y Perlman, describieron el radioinmuno- sorbent Assay (RIA). En este las moléculas radiactivas actúan con anticuerpos inmovilizados, sobre un soporte de celulosa o sephadex llevándose a cabo una reacción Ag- Ac, por lavados subsiguientes se eliminan los anticuerpos o antígenos que no intervinieron en la reacción. Como se requiere un medio físico para la eliminación de la unidad, se le clasifica dentro del sistema heterogéneo (48). El análisis conjugando a los antígenos con enzimas, en lugar de radioisótopos, se le denomina ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). Este método es específico y sensible, detecta hasta nanogramos.

En el ELISA, las enzimas deben ser : de alta pureza, tener actividad específica, estabilidad y estar ausentes en los fluidos biológicos en estudio (19).

Las variantes de la técnica inmunoenzimática son :

- a) Método de emparejado.
- b) Método competitivo.
- c) Método indirecto.

a) En el método de emparejado el Ac específico está unido covalentemente a una fase sólida , al ponerse en contacto con la muestra problema que contiene el Ag a determinar, ocurre la reacción Ag - Ac, por lavados subsiguientes se elimina el exceso

de Ag. En una segunda etapa , es agregado un segundo Ac específico marcado con una enzima (conjugado enzimático), después de incubar y lavar para eliminar el exceso de conjugado, se añade el sustrato de la enzima que dá un complejo colorido, finalmente se mide por espectrofotometría. La actividad enzimática es proporcional a la concentración de Ag presente en la muestra.

b) En el método competitivo, el Ac esta unido a la fase sólida. El conjugado enzimático está compuesto de Ag y enzima unidos covalentemente . Se ponen a reaccionar cantidades fijas del conjugado y cantidades variables de Ag libre, el Ag libre inhibe la union del conjugado, haciendo que la actividad de la enzima unida a la fase sólida sea menor cuanto mayor sea la concentración del Ag libre en el medio de reacción.

c) El metodo indirecto para la cuantificación de IgE total es el utilizado en este trabajo. El Ag se encuentra unido a una fase solida al ponerse en contacto con el suero del paciente que contiene los anticuerpos, ocurré la reacción Ag - Ac. Después de incubar y lavar para eliminar el Ac que no reaccionó, se agrega el conjugado (antigamaglobulina humana marcado con una enzima). En una segunda etapa después de incubación y lavado para eliminar el exceso de conjugado se adiciona el sustrato de la enzima. La intensidad del complejo colorido se mide por espectrofotometría.

DETERMINACION DE IgE ESPECIFICA.

En 1967 un radioinmunoanálisis en fase sólida RAST (radioalergosorbent test). fue utilizado para la medición de IgE antígeno específico. Este método indirecto inmunoenzimático fué modificado por Kallestad diagnostics, llamándolo EAST , utiliza enzima en lugar de material radiactivo . Los resultados obtenidos son relacionados con estándares de referencia (5, 12), obteniendo resultados en clases (Allercoat EAST classes 0-4)

Valores	Valores		
Menores que	Mayores que	Clases	Niveles de IgE esp.
	Est. A	0	Indetectable
Est. A.	Est. B	1/0	Muy bajo
Est. B	Est. C	1	Bajo
Est. C	Est. D	2	Moderado
Est. D	Est. E	3	Alto
Est. E		4	Muy alto.

Este método es confiable y reproducible para la detección de anticuerpos IgE específicos *in vitro* a una gran variedad de antígenos (19).

En pacientes con dermatitis atópica se ha observado que el RAST positivo a alérgenos alimentarios disminuye con la edad, mientras que se ve aumentado frente a aeroalérgenos (46).

IN VIVO

La valoración de los anticuerpos IgE específicos in vivo contra alérgenos polínicos, fúngicos, de ácaros y de alimentos, se realiza mediante pruebas cutáneas de tipo inmediato (47).

Existen 4 métodos diferentes de aplicación :

- a. Unción.
- b. Escarificación.
- c. Pinchazo.
- d. Intradermorreacción.

En este trabajo se utilizó la escarificación, la que se lleva a cabo sobre la espalda del paciente con sospecha de enfermedad alérgica, limpiando la zona de aplicación con torundas de algodón con alcohol al 70%, después se escarifica la piel un centímetro de largo, con la punta de una aguja estéril. En cada zona escarificada se aplica 0.05 ml. del extracto alérgico glicerinado 1:20 v / vo extendiendo la gota con un aplicador de madera. La lectura se toma de los 15 - 20 minutos.

Para controlar la reactividad cutánea se aplica 0.05 ml. de cada uno de los siguientes reactivos:

Control positivo: fosfato de histamina 1:1000 v/v.
glicerinada, la que deberá dar una roncha mayor o igual de 10 mm. de diámetro.

Control negativo: Solución amortiguadora de fosfatos (pH = 10), glicerinada. La que no deberá presentar ninguna reacción cutánea.

Dentro del control de calidad en estas pruebas debe evitarse:

a) Falsos - negativos: debido a mala orientación clínica, edad de los pacientes menores de 2 y mayores de 60 años, administración de antihistamínicos, selección errónea de los alérgenos y pérdida de la potencia antigénica de los mismos.

b) Falsos - positivos : por dermatografismo, piel hipersensible, aplicación incorrecta de los alérgenos y valoración errónea de eritemas mínimos.

Ocasionalmente se presenta después de 6 horas de aplicados los alérgenos una reacción local semiretardada, que junto con la de tipo inmediato se conoce como reacciones duales.

Interpretación de pruebas cutáneas.

GRADO	RONCHA	ERITEMA (diámetro en mm)
0	NEGATIVO	< 5
+ / -	5	5 - 10
1+	5 - 10	11 - 20
2+	5 - 10	21 - 30
3+	10 - 15	31 - 40
4+	CON PSEUDOPÓDOS > DE 15 CON PSEUDOPÓDOS	> 40

3. INMUNIDAD CELULAR

IN VIVO

La identificación de las subpoblaciones de linfocitos T se pueden realizar mediante el uso de anticuerpos monoclonales, utilizando OKT4 que identifican linfocitos CD 4 (linfocitos con función cooperadora) , OKT8 que reaccionan con los linfocitos CD 8 (linfocitos con función supresora) y OKT3 común para las dos subpoblaciones. Este trabajo se realizó por la técnica de inmunofluorescencia indirecta IFI, que consta de la incubación de linfocitos humanos, con una alícuota de anticuerpos monoclonales dirigidos a CD3, CD4, CD8 específicamente. Mediante una adición subsiguiente de antigammaglobulina humana conjugada con isotiocianato de fluoresceína, se observa la fluorescencia emitida en un microscopio de epifluorescencia.

IN VIVO.

La determinación de la respuesta inmune celular de tipo tardía se lleva a cabo mediante pruebas cutáneas, aplicando 0.1 ml. de antígeno metabólico por vía intradérmica en el brazo o antebrazo de los pacientes. La lectura se realiza a los 15 minutos, 24 y 48 horas. Una prueba positiva consiste en la presencia de induración y eritema mayor de 5 mm. a las 48 horas. Debido a la presencia del antígeno se encuentran los linfocitos T previamente sensibilizados en las regiones perivasculares, este infiltrado se propaga hacia afuera desintegrando las haces de

colágeno de la dermis, aumentando las células CD 4 y disminuyendo las CD8 en relación 2:1. (45).

ANTIGENOS EMPLEADOS.	CONCENTRACION	VOLUMEN. (ml)
PPD 5 U.T.		0.25
Varidasa	25 U.I.	0.1
Candidina	1:100 p/v.	0.1
Pitirosporina	1 X 10 ⁶ μ os/ml.	0.1
Tricofitina	1:100 p/v.	0.1

Interpretación de las pruebas cutáneas en inmunidad celular in vivo.

GRADO	INDURACION Ø mm.
Negativa	Ø - 4
+	5
++	6 - 10
+++	11 - 15
++++	> de 15

M

Criterios para reportar:

PRUEBAS POSITIVAS	% INMUNOCOMPETENCIA.
4 - 5	100
3 - 4	80
2 - 3	50
1 - 2	50
0 - 1	Anergía

III. VALORACION MICROBIOLOGICA.

1. BACTERIOLOGICA.

Las lesiones enrojecidas con secreción cerosa de la piel, en los pacientes con dermatitis atópica pueden ser signos de infección, a las cuales se les deben de practicar cultivos a fin de establecer el agente causal (25).

Este trabajo se enfoca en investigar la presencia de *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus pyogenes*, así como otras bacterias.

Para este fin primero se tomó una muestra de la secreción de las lesiones por medio de hisopos estériles, después se realizó una tinción de Gram para observar el aumento de flora, y por último se sembró en los medios gelosa sangre, S - 110, agar de Mac Conkey, se incubó de 18 - 24 hrs. a 37 °C. Cuando hubo crecimiento de microorganismos en las cajas se realizó una tinción de Gram, y se les tipificó por métodos bioquímicos.

2. MICOLOGICA.

Las lesiones escamosas o maceradas de los pacientes con dermatitis atópica pueden encontrarse infectadas por hongos. El diagnóstico de estos se realiza mediante exámenes directos, tinciones y cultivos.

La toma de muestra de estas lesiones se hace por raspado con dos portaobjetos, la muestra obtenida se divide en dos partes, una

se usa para exámenes directos, la muestra es tratada con KOH al 20% y ligeramente calentada presionando el cubreobjetos, para eliminar el KOH excedente, se observa con los objetivos 10X y 40X. Cuando se sospecha la participación de *Pityrosporum sp.*, se toma la muestra de las lesiones grasosas se extienden en portaobjetos y son fijadas con ácido acético, posteriormente se tiñe con eosina-azul de metileno durante 3 minutos, posteriormente se observa con objetivos 10X y 40X. La otra parte que se obtuvo se inocula en los medios de Sabouraud agar, Micosel agar, Biggy y Micosel+ 15% de aceite de oliva en condiciones estériles; se incubaba 8 días a temperatura ambiente.

Después de haber incubado se hace el estudio micológico de los cultivos.

a) MICROMORFOLOGIA.

Se toma una muestra de la colonia con un pedazo de cinta adhesiva pegada a la punta de un asa micológica, se monta sobre un portaobjetos que contiene previamente una gota de azul de lactofenol, se reviza a 10X y 40X.

b) MACROMORFOLOGIA.

ANVERSO. Formación de micelio filamentosos, algodonoso, aterciopelado, seca, rugosa, levaduriforme, limitada o ilimitada.

REVERSO. Formación de pigmentos.

Tipificación bioquímica de levaduras.

Esta se realiza mediante el Sistema auxonográfico
" Api-Yeast-20" que tipifica 42 especies de importancia médica.

IV PROTOCOLO.

- SELECCION DE PACIENTE.

Se estudiarán 30 pacientes escogidos al azar con diagnóstico de dermatitis atópica, pura o asociada con rinitis alérgica y/o asma bronquial extrínseco, que acudan por primera vez al Servicio de Alergia e Inmunología Clínica del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos ISSSTE México D.F. Con edades comprendidas entre 2 y 31 años, de cualquier sexo, raza y ocupación.

Se incluirá un grupo control de 15 individuos clínicamente sanos entre con edades comprendidas entre 5 y 31 años.

a) CRITERIOS DE INCLUSION.

- Que clínicamente presenten dermatitis atópica.
- Consentimiento anticipado del paciente o tutor del mismo.

b) CRITERIOS DE EXCLUSION.

- Pacientes menores de 2 años o mayores de 31.
- Pacientes que presenten lesiones de diagnóstico dudoso.
- Pacientes que estén en tratamiento con antihistamínicos, esteroides, antimicóticos y/o antibacterianos tópicos y sistémicos.
- Pacientes femeninos embarazadas.

c) CRITERIOS DE ELIMINACION.

Pacientes que no cooperen en el estudio de la siguiente manera:

- Que no firmen carta de consentimiento.
- Que no cumplan con las citas para la lectura de inmunidad celular in vivo.

RESULTADOS

De los 30 pacientes valorados se obtuvieron los siguientes resultados:

SEXO	GRUPO PROBLEMA	CONTROL
Femenino	15	9
Masculino	15	6
	30	15.

Edad de la población en estudio.

Mínima	2
Máxima	31
Promedio	10.16

I. VALORACION INMUNOLOGICA.

1. HUMORAL

a. *IN VIVO.*

Pruebas cutáneas de tipo inmediato (.TABLA I.)

b. *IN VITRO*

i) General (TABLA II)

ii) IgE específica (TABLA III).

2. CELULAR.

a. *IN VIVO*

Pruebas cutáneas de tipo tardío (TABLA IV).

b. *IN VITRO*.

Subpoblaciones de linfocitos T (TABLA V).

3. INMUNIDAD INESPECIFICA (TABLA VI),

II. VALORACION MICROBIOLOGICA.

Los resultados de la valoración micológica fueron negativos en todos los pacientes.

Los resultados de la valoración bacteriana se aprecian en la tabla VII.

Con respecto al grupo control todos presentan IgE total menor de 100 UI/ml, así como pruebas cutáneas e IgE específica contra aeroalergenos y alimento negativas. Fagocitosis mayor del 70% y una quimiotaxis dentro de los valores normales.

TABLA I. VALORACION HUMORAL IN VIVO.

PACIENTES	DERRAMAZOS		ALIMENTOS	
	++	+++	+++	++++
1		D.far., D.pter.		Cacahuate
2	F.C., A.fun., A.eliat.	D.pter.		
3	C.alb., C.dact.	D.pter.		Leche de vaca.
4	F.jur., N.nig.	D.pter.	Frijol, carne de cerdo, amaran, chocolate.	Caseina
5			Trigo	
6	H.hal., perro.		Chocolate, cacahuate.	
7	D.far., L.vul., F.ten.	D.pter.	Chocolate.	Caseina
8	A.alt., perro, gato C.dact., M.pac.,		Coliflor.	
9	D.pter.		Camaron, caseina, calabacita.	
10	D.far.		Caseina, trigo.	
11	Perro F.cad.,	D.far., D.pter., F.n., L.vul., gato		
12	F.jur., D.pter.		Huevo.	Caseina
13		D.pter.		
14	A.fun.	F.cas., D.pter.	Chocolate, queso.	
15	D.far.			
16	H.annus.		Chocolate.	
17				
18	D.pter.		Frijol, chocolate.	
19		D.far., D.pter.		
20	F.jur., A.fun., A.eliat.	C.albicans.	Caseina, huevo.	Chocolate
21	H.hal., C.dact.		Leche, sardina, camaron, Arroz, caseina.	
22	D.pter.	D.far.	Caseina, calabacita.	Leche
23	M.ann., B.ger., C.dact.	D.pter.		
24	A.lud., A.bract.		Chocolate	
25	B.ger., D.pter.		Caseina.	
26	A.fun., C.alb., H.ann. C.dact., perro.	D.pter.	Frijol, trigo, calabacita.	
27		D.far., D.pter.		
28	D.far.		Frijol.	
29	H.ann., C.bip., F.cas.	D.far.		
30	D.pter.	D.far.	Leche de vaca, calabacita.	

TABLA II
VALORACION INMUNOLOGICA.

PACIENTE	SEXO	EMD	IgE UI/ml	IgG mg/dl	IgA mg/dl	IgM mg/dl
1	M	2	3,724.00	1,714	356	184
2	M	2	771.12	1,646	177	74
3	F	2	31.00	998	258	53.2
4	M	2	93.00	714	318	127
5	M	4	351.10	1,435	346	106
6	F	4	325.00	1,448	239	64
7	M	4	3,212.00	1,428	329	75
8	M	4	131.00	1,456	277	227
9	M	5	4,007.21	997	68	117
10	M	6	1,394.00	1,321	237	198
11	F	7	2,146.81	1,391	193	69
12	F	7	4,495.17	1,062	138	114
13	M	7	3,353.07	1,247	258	146
14	M	8	1,406.27	1,827	52	66
15	F	10	3,105.17	2,103	72	36
16	M	11	4,496.00	1,124	171	118
17	F	11	2,344.00	1,517	128	129
18	F	12	3,075.2	2,761	205	226
19	F	13	4,327.5	2,103	72	36
20	M	13	4,496.31	1,427	67	129
21	M	13	6,931.00	1,227	195	86
22	F	14	4,297.00	1,479	299	221
23	F	14	4,495.17	1,324	299	122
24	F	14	765.00	1,645	315	165
25	F	15	261.71	1,163	104	175
26	F	16	8,122.00	1,325	239	170
27	M	17	107.00	1,403	300	126
28	M	17	4,357	1,000	72	77.6
29	F	20	10,376.00	1,143	230	100
30	F	31	237.00	1,497	85	129

TABLA III. VALORACION HUMORAL IN VITRO.

FACIENTES	ALIMENTOS			ALIMENTOS		
	CLASE 2	CLASE 3	CLASE 4	CLASE 2	CLASE 3	CLASE 4
1	A.ret., C. alb A. ten., L. vul.	C. herb. D. pter.	D. far.	L. de v., trigo centeno.	camaron	Clara de huevo cacahuete
2	S. pest., C. dact. D. pter.	H. ten., L. vul. F. jur., D. far.	_____	L. de v.,	cacahuete.	_____
3	D. pter.	D. far.	_____	C. de h.	Cacahuete.	_____
4	L. vul. F. jur.	D. pter.	_____	_____	_____	_____
5	S. pest., A. ten. L. vul., D. far., D. pter.	_____	_____	centeno, C-LAB, caseina	C. de c., C. de v. L. de h., trigo	_____
6	C. herb.	D. pter.	_____	C. de h. caseina	_____	_____
7	A. ten. F. jur.	_____	D. far. D. pter.	L. de h. C-LAB.	_____	_____
8	L. dest.	B. ger., D. far., D. pter.	_____	Caseina, C-LAB, trigo	_____	_____
9	A. ret., C. herb., L. vul., F. jur.	A. ten., L. dest. B. ger.,	D. far. D. pter.	L. de h.	Bacalao, atun trigo.	_____
10	_____	D. far.	D. pter.	Camaron, trigo, C. de c.	_____	_____
11	T. off., S. pest., C. alb., A. ten., C. dact.	C. herb.	D. far. D. pter.	Atun, Caseina.	_____	_____
12	F. jur., C. herb. A. ten.	A. ret., C. dact. L. per., L. dest.	D. far. D. pter.	Trigo, C. de c., L. de h., C-LAB	Bacalao	_____
13	T. o., S. p., C. d. C. h., A. t., L. d.	C. alb., F. jur. L. vul., D. far.	D. pter.	C. de c., l. de h. atun, cas., C-LAB	_____	_____
14	S. pest. L. per.	_____	D. far. D. pter.	C-LAB., B-LAB.	_____	_____
15	S. pest., H. ten. L. vul.	D. far.	D. pter.	L. de v., cas.	C-LAB	Huevo.
16	C. alb., F. jur.	A. ten., L. dest. D. pter., B. ger.	D. far.	C-LAB., A-LAB, Atun.	Camaron.	_____
17	S. pest., C. herb. L. vul., D. pter.	D. far.	_____	Cacahuete Atu., caseina.	_____	_____
18	T. off. L. dest.	D. far.	D. pter.	C. de h. C-LAB	Caseina.	_____
19	A. ten., L. vul. L. dest., B. ger.	D. far.	_____	C. de c. Caseina	Bacalao C. de v.	_____
20	C. dact. L. per.	T. off.	D. pter. D. far.	L. de v., cacahuete L. de v.	_____	_____
21	C. dact. B. ger.	T. o., S. p., L. p. C. h., A. t., L. v.	D. ter. D. far.	Centeno.	Trigo, tomate, cacahuete.	_____
22	A. ten. L. per.	D. far.	D. pter.	_____	_____	_____
23	A. ten., C. dact. B. ger.	C. alb., D. far. D. pter.	_____	C. de h., C-LAB.	_____	_____
24	_____	D. far. D. pter.	_____	Bac., camaron, C-LAB, atun, C. de c., l. de h.	_____	_____
25	S. pest.,	C. dact. D. far., D. pter.	_____	L. de h. Caseina.	_____	_____
26	C. alb. L. per.	L. dest. D. far.	D. pter.	Caseina.	Bacalao	_____
27	A. ten., L. vul. F. jur., C. dact.	D. pter.	_____	Caseina	_____	_____
28	C. herb., A. ten. L. vul.	_____	D. far. D. pter.	Atun tomate	_____	_____
29	T. o., S. p., C. a. A. f., C. h., A. t.	D. pter.	_____	Trigo, tomate, centeno	Cacahuete	_____
30	A. ten., L. vul. L. per.	B. ger.	_____	Caseina, trigo C-LAB	_____	_____

TABLA IV
INMUNIDAD CELULAR IN VIVO .

PACIENTES	PPD	VARIDASA	CARDINA	PITIRIOSPOINA	TRICOFITINA
1	N	N	N	N	N
2	N	N	N	N	N
3	5x5/3x5 rpm	N	N	N	N
4	N	N	5x5/5x5 rpm	N	N
5	N	N	N	N	N
6	N	N	N	N	N
7	N	N	N	N	N
8	N	N	N	N	N
9	N	N	N	N	N
10	N	N	N	N	N
11	N	N	N	N	N
12	N	N	N	N	N
13	N	N	N	N	N
14	N	N	N	N	N
15	N	N	N	N	N
16	N	N	N	N	N
17	N	N	N	N	N
18	N	N	N	N	N
19	N	2x22/22x22 rpm	N	6x6/6x6 rpm	N
20	N	N	N	N	N
21	N	N	N	N	N
22	N	N	N	N	N
23	N	N	N	N	N
24	N	N	N	N	N
25	N	N	N	N	N
26	N	N	N	N	N
27	12x12/12x12 rpm	N	7x10/7x10 rpm	5x5/5x5 rpm	N
28	5x5/5x5 rpm	N	N	N	N
29	N	N	N	N	N
30	N	N	N	N	N

N = NEGATIVO.

TABLA V
INMUNIDAD CELULAR IN VITRO

PACIENTE	CD3 %	CD4 %	CD8 %	CD4/CD8
1	66	44	25	1.76
2	70	58	25	2.32
3	52	48	27	1.78
4	70	58	29	2.07
5	40	56	12	4.66
6	70	63	27	2.52
7	52	52	25	2.08
8	70	66	23	2.67
9	70	45	24	1.88
10	50	46	23	2.00
11	56	30	24	1.25
12	60	54	15	3.60
13	63	45	24	1.88
14	60	44	26	1.92
15	56	60	24	2.50
16	60	60	19	3.16
17	62	42	22	1.91
18	60	40	21	1.91
19	54	52	18	2.88
20	60	56	16	3.50
21	52	42	15	2.80
22	70	38	23	1.65
23	54	12	17	0.70
24	64	66	26	2.54
25	64	44	30	1.47
26	50	30	26	1.15
27	54	42	20	1.50
28	56	30	22	1.36
29	70	45	10	4.5
30	60	51	26	1.96

VALORES NORMALES: CD3 40-90% CD8 26.6-36.6%
CD4 30-37% CD4/CD8 1.2-2.0

TABLA VI
INMUNIDAD INESPECIFICA

PACIENTES	FAGOCITOSIS %	QUINIOXTAXIS cm.
1	47	0.87
2	49	1.57
3	47	1.11
4	52	1.29
5	35	0.57
6	66	1.66
7	48	1.06
8	56	1.40
9	26	0.35
10	53	1.67
11	39	0.60
12	20	0.51
13	39	0.62
14	57	0.62
15	35	0.63
16	18	0.64
17	53	1.06
18	49	1.25
19	59	0.95
20	37	0.64
21	31	0.47
22	33	0.39
23	58	1.75
24	42	0.63
25	42	1.49
26	40	1.25
27	61	1.39
28	36	1.72
29	36	0.47
30	30	0.59

FAGOCITOSIS NORMAL >70%.

QUINIOXTAXIS NORMAL 0.66 - 1.6 cm.

TABLA VII
VALORACION MICROBIOLOGICA

PACIENTES	BACTERIAS.
1	S.aureus.
2	S.aureus.
3	S.aureus.
4	S.epidermidis
5	S.aureus. S.epidermidis
6	S.epidermidis.
7	S.aureus. S. epidermidis.
8	S.aureus. S.epidermidis.
9	S.aureus. S. epidermidis
10	S.epidermidis.
11	S.epidermidis.
12	S.aureus. S.epidermidis. S.B-hem.
13	S.aureus. S.epidermidis.
14	S.aureus. S.epidermidis.
15	S.epidermidis
16	S.aureus. S.epidermidis. S.B-hem.
17	S.aureus. S.epidermidis.
18	S.aureus. S.epidermidis.
19	S.epidermidis.
20	S.aureus. S.epidermidis.
21	S.aureus. S.epidermidis.
22	S.aureus. S.epidermidis.
23	S.aureus. S.epidermidis.
24	S.aureus. S.epidermidis.
25	S.aureus. S.epidermidis.
26	S.aureus. S.epidermidis.
27	S.epidermidis.
28	S.aureus. S.epidermidis.
29	S.aureus. S.epidermidis.
30	S.aureus. S. epidermidis.

ANALISIS DE RESULTADOS.

Se estudiaron 30 pacientes con dermatitis atópica valorada clínicamente de acuerdo a la clasificación de Hanifin.

La valoración de los mecanismos de defensa inespecíficos muestra en los 30 pacientes una disminución marcada en la fagocitosis (menor del 70%), con una media del 43.3%. En la quimiotáxis 14 de los pacientes presenta disminución.

La inmunidad humoral se encontró aumentada para la IgE total en un 93.3% de los pacientes, con una media de 2, 933.79 UI/ml. Al aumentar la edad del paciente con dermatitis atópica se observa un aumento en la concentración de IgE total (gráfica no. 1):

No. PACIENTES	EDAD (años)	IgE UI/ml (media).
15	2 - 10	1,805.41
13	11 - 17	3,495.00
2	18 - 31	5,306.50

Los valores de IgG se encuentran ligeramente aumentados en un 13.3%, normales para IgM y marcadamente disminuidos para IgA en un 29% de los pacientes.

La IgE en piel fue positiva en 14 paciente (46%) para pólenes siendo los más frecuentes *Helianthus annuus* (girasol) y *Cynodon dactylon* (pata de gallo), 8 pacientes (26.6%) a hongos, 21 (70%) a ácaros del polvo casero y 9 (30%) a otros

inhalables. Es importante destacar que la mayor respuesta se presenta para el ácaro *Dermatophagoides pteronyssinus* en un 60% y 36.6% *Dermatophagoides farinae*, seguido de los pólenes, consideramos que esto es debido a la exposición repetida de estos ácaros que se encuentran dentro del domicilio del paciente. La respuesta cutánea frente a alimentos fue positiva en un 73.3% de los pacientes, en los que destacan como alérgenos principales caseína, chocolate, leche, trigo, camarón, huevo y cacahuete (gráfica no.2).

La IgE específica sérica se encontró elevada, de clase 2 a 4 para todos los alérgenos provados en 26 pacientes (86.7%) para pólenes, 8 para hongos (26.6%) y 22 pacientes a los ácaros (18 para *Dermatophagoides pteronyssinus*, con un 66% con clase 4; 11 para *Dermatophagoides farinae* con 45.5% de clase 4) (gráfica no. 3).

La presencia de IgE específica en la piel y en suero se explica debido a los niveles elevados de IgE total sérica presentes en 28 pacientes.

Con respecto a la correlación entre la prueba cutánea e IgE específica corresponde 41% para *Dermatophagoides pteronyssinus* y 29% par a *Dermatophagoides farinae*. En los hongos y pólenes la correlación es baja. En los alimentos se presenta correlación de 20% para huevo, caseína y cacahuete; considerando estos resultados de importancia en la patogenesis de la dermatitis

atópica (gráfica no.4).

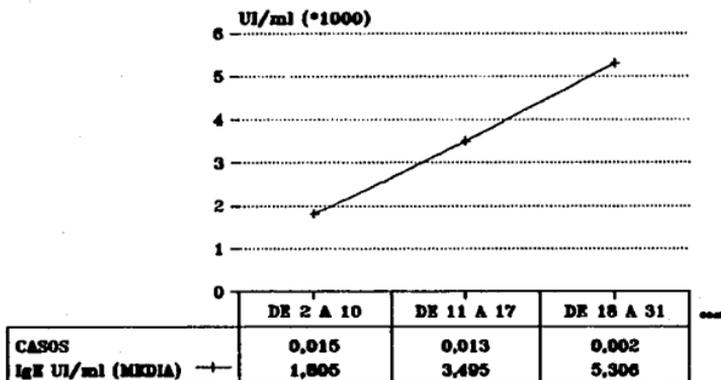
La inmunidad celular *in vivo* en estos pacientes esta disminuida: 25 pacientes (83.3%) presentaron anergia total, 3 tuvieron menos del 25% de inmunocompetencia y 2 más de 50% (gráfica no. 5).

La inmunidad celular *in vitro* se manifestó disminuida, la correlación CD4/CD8 fue mayor en más del 50% de los pacientes, debido a una disminución del 70% en los valores de CD8.

Los 30 pacientes presentaron lesiones liquenificadas con placas exudativas, de éstas el agente patógeno que se aisló con más frecuencia fue el *Staphylococcus aureus*, en 21 pacientes (70%). El *Streptococcus* β - hemolítico estuvo asociado en 2 casos. Sin embargo, en 29 (96.6%) se encontró *Staphylococcus epidermidis*, que fué considerado como flora normal. Es de suma importancia el comportamiento de los mecanismos de defensa inespecíficos y celulares con respecto a la participación del *Staphylococcus aureus* como agente asociado a la DA, a este respecto, los 21 casos con *Staphylococcus aureus* presentaron disminución moderada en la fagocitosis/ CD8, y sólo 12 tuvieron quimiotáxis baja.

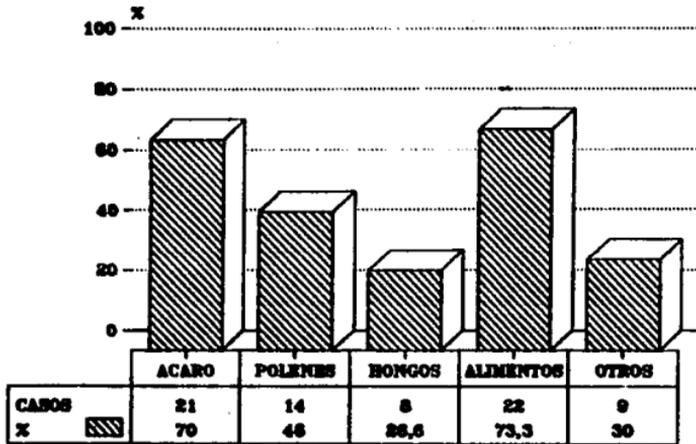
Por otra parte las infecciones micóticas no se presentaron en ningún caso, a pesar de que existió anergia cutánea total en el 83.3%, aunque los valores de la subpoblación CD4 estuvieron dentro de los límites normales en 26 pacientes (86.6%).

CORRELACION IgE TOTAL Y EDAD DE PACIENTES CON DERMATITIS ATOPICA



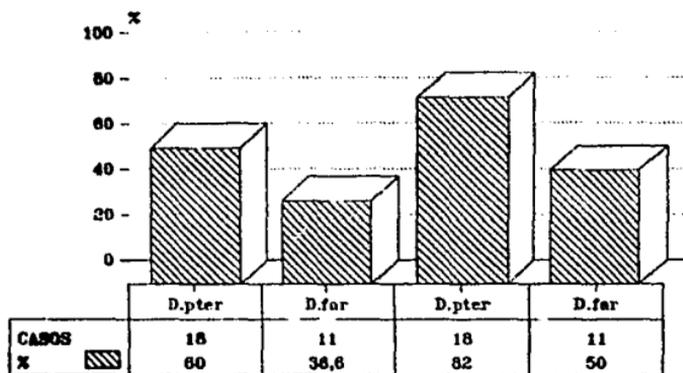
GRAFICA No 1

IgE EN PIEL



GRAFICA No 2

PARTICIPACION DE LOS ACAROS Dermatophagoides pter. y Dermatophagoides far.

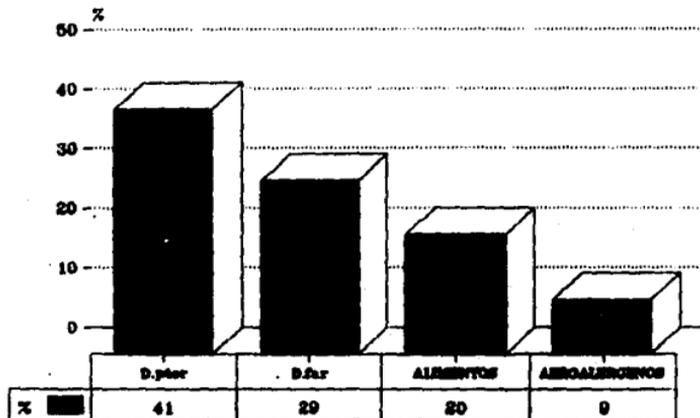


PRUEBA CUTANEA

PRUEBA ESPECIFICA

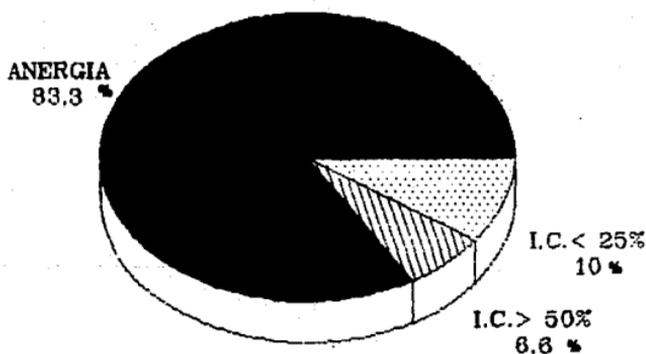
GRAFICA No 3

CORRELACION ENTRE PRUEBA CUTANEA E IgE ESPECIFICA



ALERGENOS
GRAFICA No 4

INMUNIDAD CELULAR "IN VIVO" INMUNOCOMPETENCIA



GRAFICA No 5

CONCLUSIONES.

- Los pacientes con dermatitis atópica en nuestro estudio presentan en un 96.6% Inmunidad humoral *in vivo* e *in vitro* mediada por IgE total elevadas ($p= 0.005$) frente a pólenes, hongos, ácaros y alimentos. Destacando a los ácaros *Dermatophagoides pteronyssinus* y *Dermatophagoides farinae* como los principales alérgenos desencadenantes

- Los pacientes con dermatitis atópica presentan alteraciones en el sistema inmune celular caracterizados por valores *in vitro* de CDB disminuidos en el 70% de los casos e *in vivo* anergia cutánea para antígenos comunes.

- En los mecanismos de defensa inespecíficos se presenta una disminución del 100% ($p=0.005$) en la fagocitosis y del 40% en la quimiotaxis.

- 70% de los pacientes con dermatitis atópica presentaron cultivos positivos a *Staphylococcus aureus* aislados de la piel.

ANEXO A.

MATERIAL Y REACTIVOS.

MATERIAL.

- Jeringas de plástico desechables de 1, 5 , 10 y 20 cc.
- Torundas de algodón.
- Tubos de ensaye de 13 X 100 mm. y 12 X 75 mm.
- Gradillas.
- Pipetas Pasteur.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Agitadores de vidrio.
- Papel parafilm.
- Asa bacteriológica y micológica.
- Hisopos estériles.

EQUIPO.

- Centrífuga clínica refrigerada.
- Cámara de Neubauer
- Baño María.
- Microscopio.
- Micropipetas de 50, 200, 250 y 1000 microlitros.
- Espectrofotómetro.

- Refrigerador.
- Congelador a -70 C.
- Bomba de vacío.
- Incubadora de 37 + 2 C con 15 % de CO₂.
- Aspirador.

REACTIVOS.

a) QUÍMICOS.

- Solución de Alsever.
- Solución de Hanks.
- Solución fisiológica.
- Agarosa.
- Medio mínimo esencial suplementado. (2 mM de glutamina + penicilina 100 u/ml. + estreptomycin 100 ug/ml).
- Metanol absoluto.
- Buffer de formalina al 47 %.
- Colorante de Wright.
- Eosina
- Azul metileno.
- Colorantes para tinción de Gram.
- KOH al 20 %.
- Equipo para determinación de IgE total. Quantizyme IgE, Bigaux Diagnostica S.A.
- Equipo para determinación de IgE específica. Allercoat RAPID EAST. Conjugate PACK.

- Bicarbonato de sodio.
- Alcohol al 70 %.
- Reactivos para la determinación de inmunidad humoral in vitro. por el método de EAST.

Atún.	Centeno.
Bacalao.	α -Lactoalbumina.
Cacahuete.	β -Lactoglobulina.
Camarón	Leche de vaca.
Carne de cerdo.	Llema de huevo.
Carne de vaca.	Tomate.
Caseína.	Trigo.

<i>Alternaria tenuis.</i>	<i>Lepidoglyphus destructor.</i>
<i>Amaranthus retroflexus.</i>	<i>Ligustrum vulgare</i>
<i>Blatella germanica..</i>	<i>Lolium perenne.</i>
<i>Candida albicans.</i>	<i>Protopsis juriflora.</i>
<i>Cladosporium herbarum.</i>	<i>Salsola pestiffer.</i>
<i>Dermatophagoides farinae.</i>	<i>Taraxacum officinale.</i>
<i>Dermatophagoides pteronyssinus.</i>	

b) BIOLÓGICOS.

- Suero humano.
 - Cepa *S. cereviciae.*
 - Factor quimiotáctico.
 - Antígenos para determinación de inmunidad celular in vivo.
- . PPD Dirección general de Reactivos biológicos S.S.

- . Candidina. Lab. de Micología básica. Fac Medicina
 - . Tricofitina. UNAM.
 - . Pitirosporina. Lab. de Micología Medica. Hosp. Juárez
 - . Varidasa. de México. S.S.A.
- Alergenos para la determinación de inmunidad humoral in vivo.
- Aeroalergenos. (1 : 20 p/v glicerinados)

Arboles.

Nombre científico	Nombre común.
<i>Fraxinus americanus.</i>	Fresno.
<i>Ligustrum vulgare.</i>	Trueno.
<i>Populus alba.</i>	Alamo.
<i>Prosopis juliflora.</i>	Mezquite.
<i>Quercus vellutina.</i>	Encino.
<i>Shinus molle.</i>	Pirul.

Malezas.

<i>Amaranthus palmeri.</i>	Quelite..
<i>Ambrosia elatior.</i>	Ambrosía.
<i>Artemisa ludoviciana.</i>	Altamiza.
<i>Atriplex bracteosa.</i>	Costilla de vaca
<i>Cosmos bipinnatus.</i>	Mirasol.
<i>Chenopodium album.</i>	Epazote.
<i>Franseria tenuifolia.</i>	Amargosilla.
<i>Helianthus annuus.</i>	Girasol.
<i>Plantago major.</i>	Lianten.

- | | |
|---|-----------------|
| <i>Rumex crispus.</i> | Lengua de vaca. |
| <i>Salsola sp.</i> | Rodadora. |
| Pastos. | |
| <i>Cynodon dactylon.</i> | Pata de gallo. |
| <i>Holcus halapensis.</i> | Zacate común. |
| <i>Lolium perenne.</i> | Pasto inglés. |
| - Fungicos. | |
| <i>Alternaria alternata.</i> | |
| <i>Aspergillus fumigatus.</i> | |
| <i>Candida albicans.</i> | |
| <i>Cladosporium cladosporoides.</i> | |
| <i>Helminthosporium halodes.</i> | |
| <i>Mucor racemosus.</i> | |
| <i>Penicillium nonatum.</i> | |
| <i>Rhizopus nigricans.</i> | |
| <i>Rhodotorula rubra.</i> | |
| - Pelos, caspas y epitelios de animales . | |
| Conejo, caballo, perro, gato, plumas (gallina). | |
| - Acaros del polvo casero. | |
| <i>Dermatophagoides pteronyssinus.</i> | |
| <i>Dermatophagoides. farinae.</i> | |
| - Diversos. | |
| Tabaco, pochote, lana y algodón. | |

- ALIMENTARIOS.

Pescados y mariscos.

Atún.

Camarón.

Jaiba.

Frutas.

Cacahute. Naranja.

Fresa. Nuez.

Manzana. Platano.

Melón. Sandía.

Verduras y especias.

Ajo. Frijol

Calabaza. Haba

Calabacita. Lechuga.

Cebolla. Lenteja.

Chicharo. Papa.

Coliflor. Tomate.

Elote. Zanahoria.

Alimentos básicos.

Arroz.

Carne de cerdo.

Carne de res.

Caseína.

Chocolate.

Leche.

Queso.

Trigo.

Extractos alergénicos donados por Alergenos Freeman S.A.

de C.V. Mexico D.F.

ANEXO B

PREPARACION DE SOLUCIONES Y MEDIOS.

- SOLUCION DE HANKS.

Glucosa	1.0 g.
Cloruro de sodio	8.0 g.
Cloruro de potasio	0.4 g.
Cloruro de calcio	0.14 g.
Sulfato de magnesio	0.1 g.
Cloruro de magnesio	0.1 g.
Fosfato monopotásico	0.06 g.
Fosfato disodico.	0.06 g.
Bicarbonato de sodio	0.35 g.
Rojo de fenol.	0.02 g.
Agua tridestilada.	1000 ml.

- SOLUCION DE ALSEVER.

Glucosa	20.50 g.
Citrato de Na. dihidratado	8.00 g.
Acido citrico monohidratado	0.55 g.
Cloruro de sodio	4.20 g.
Agua destilada	1000 ml.

- Hidróxido de potasio al 10%.

Hidróxido de potasio (KOH) 10 g. agua destilada 90 ml.

- AGAR SANGRE.

Infusión de músculo cardíaco	375 g.
Peptona de carne	10 g.
Agar	15 g.
Cloruro de sodio	5 g.

pH final 7.3

- AGAR B110

Extracto de levadura	2.5 g.
Peptona de caseína	10.0 g.
Gelatina	30.0 g.
Lactosa	2.0 g.
D-manitol	10.0 g.
Cloruro de sodio	75.0 g.
Fosfato dipotásico	5.0 g.
Agar	15.0 g.

pH final 7.0

- AGAR DE MAC CONKEY.

Peptona	17.0 g.
Polipeptona	3.0 g.
Lactosa	10.0 g.
Sales biliares	1.5 g.
Cloruro de sodio	5.0 g.
Agar	13.5 g.
Rojo neutro	0.030 g.
Cristal violeta	0.001 g.

Agua destilada 1000 ml.

pH final 7.1.

- AGAR DEXTROSA SABOURAUD.

Dextrosa 20 g.

Peptona 10 g.

Agar bacteriológico 20 g.

Agua destilada 1000 ml.

pH final 6.5.

- AGAR MICOSEL.

(Medio Sabouraud + antibiótico)

Medio Sabouraud 100 ml.

Cicloheximida 400 mg.

Cloramfenicol 500 mg.

pH final 6.5.

- AGAR PARA *Pityrosporum ovale*.

Agar micosel 1 lt.

Aceite de olivo 15%

AGAR BIGGY

Citrato de amonio y bisuto 5.0 g.

Sulfito de sodio 3.0 g.

Dextrosa 10.0 g.

Glicina 10.0 g.

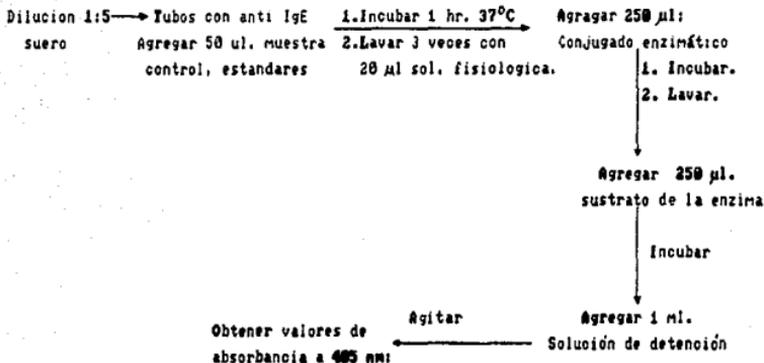
Extracto de levadura 1.0 g.

Agar 16.0 g.

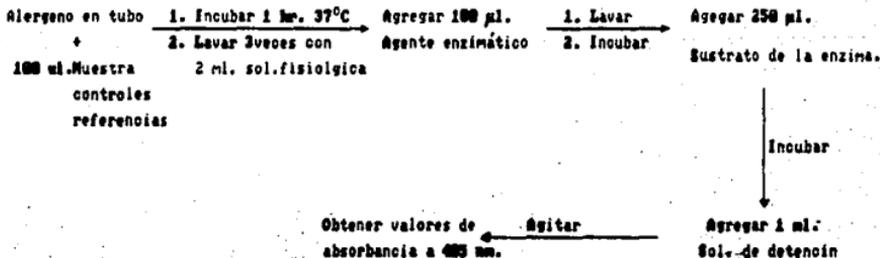
pH final 6.8

APENDICE

IgE TOTAL



IgE ESPECIFICA



QUINIOXONIS

Sangre heparinizada → Separar leucocitos → Resuspender en 3 ml. Hanks suplementado → Ajustar a 2.5×10^6 °C.

Cajas petri de 60 x 10 mm con 5 ml. de agarosa → Realizar 6 series de 3 pozos → En la serie de pozos agregar: pozo externo 10 ul. de Hanks. pozo intermedio 10 ul. células

Incubar 2 hr. cámara húmeda $37^{\circ}\text{C} + \text{CO}_2$

Observar $40 \times$ ← Teñir con Wright

REMOVER EL GEL

Fijar con 3 ml. de retanol 30 min.

3 ml. buffer de formalina 30 min.

PHAGOCITOSIS

Sangre venosa → Separar capa de cel. blancas → Centrifugar a 1200 rpm. 15 min. a 4°C

Lisar G.R.

Lavar 2 veces con Alsever

Ajustar 20×10^6 PML/0.1 ml → Resuspender en 3 ml. sol. fisiologica

TUBO	SEW 0.1x	LAVADURA	SEW	CÉLULAS
1	0.1	0.1	0.7	0.1
2	0.1	0.1	0.7	0.1
3	0.1	---	0.8	0.1
4	0.1	---	0.8	0.1
5	0.1	0.1	0.7	0.1
6	0.1	0.1	0.7	0.1
7	0.1	---	0.8	0.1
8	0.1	---	0.8	0.1
9	0.1	0.1	0.8	---
10	0.1	0.1	0.8	---

INCUBAR 30 min. a 37°C .

PARA LA REACCION CON 10 μl . DE H_2SO_4 0.1 N.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ABSTRACTS (1991) : J. Allergy Clin. Immunology. B7 : 1, part 2.
- 2.- ADINOFF, A., D. (1988) : Atopic dermatitis and aeroallergen contact sensitivity. J. Allergy Clin. Immunol B1 : 4
- 3.- ARENAS, R. (1987) : Dermatología, atlas, diagnóstico y tratamiento. Ed. Mc. Graw Hill de México S.A. de C.V., México.
- 4.- BARKER, A., F.; HIRSHMAN, C., A., et al : (1991) Airway Responsiveness in atopic dermatitis. J. Allergy Clin. Immunol.
- 5.- BERG, T., L., O.; JOHANSSON, S., G., O. (1974) : Allergy diagnosis radicoallergosorbent test. J. Allergy Clin. Immunol
- 6.- BLAYLOCK, W., K. : Atopic dermatitis (1976) : Dignosis and Pathobiology. J. Allergy Clin. Immunol.
- 7.- BONIFAZ, A., Micología médica básica. (1990) Ed. Francisco Mendez Cervantes. México D.F.
- 8.- BUSINCO, L.; CANTANI, A. : Food allergy and atopic dermatitis. Allergy today 20. 3 : 4.
- 9.- DAHL, M., V. : Flare factors and atopic dermatitis: (1990) : The role of allergy. J. Dermatol Sci.

- 10.- DHANJAL, M.,K.; et al. (1972) : The detection of IgE secreting cells in the peripheral blood of patients with atopic dermatitis. J. Allergy Clin. Immunol.
- 11.- DOHI, M.; MORITA, Y.; et al. (1990) : Basophil histamine release and airway response to mite allergen in atopic dermatitis. Annals of allergy. 65.
- 12.- FADAL, G., R.; NALEBAFF, J., D. (1981) : Rast in clinical allergy .Ed. Year book Medical Publishers
- 13.- FOREMAN, P. (1989) : clinicas pediaticas de Norteamerica Enfermedades alergicas. Nueva Editorial Interamericana S.A. de C.V. 5
- 14.- GONZALEZ, de B., J., M. (1990) : Tecnologia y métodos del laboratorio clínico. Ed. Salvat.
- 15.- HANIFIN, J., M. (1984) : Atopic dermatitis. Journal of allergy and clinical immunology. 73 : 2.
- 16.- HANIFIN, J., M. (1990) : The role of antihistamines in Atopic dermatitis J. Allergy Clin. Immunol. 86:4, Part2.
- 17.- HANIFIN, J., M. (1990) : Immunologic aspects of atopic dermatitis. Dermatol Clin. 18 : 4 .
- 18.- HARVING, H.; KORSGAARD, J. (1990) : House dust mite and atopic dermatitis. A cass - control study on the significance of house dust as etiologic allergens in atopic dermatitis. Annals of allergy. 65.
- 19.- HICKS, G., J; DIAZ, Z., J. (1988) : Bioquímica e

Immunología Ed UNAM. Vol II. México .

- 20.- HOFFMAN, R., D. (1974); HADDAD, H., Z.: Diagnosis of IgE - mediated reactions to food antigens by radioimmunoassay. J. Allergy Clin. Immunol. 54 : 3.
- 21.- JACKSON, W.,F.; CERIO,R. (1988); Atlas en colores sobre alergia. Schering Corporation USA. Wontel Medical Publications LTD, London .
- 22.- JENSEN - JAROLIM, E.;POULSEN, L., K.(1992) : Atopic dermatitis of theface, scalp, and neck: Type I reaction to the yeast *Pityrosporum ovale*? J. Allergy Clin. Immunol. 89 :1 P. 1.
- 23.- JOHNSON, E., E.; IRONS, J.,S.(1974); Serum IgE concentration in atopic dermatitis. J. Allergy Clin. Immunol. 54 : 2.
- 24.- KONDO, N.; AGATA, H.; et al. (1990); Lymphocyte responses to food antigens in patients with atopic dermatitis who are sensitive to food. J. Allergy Cli. Immunol. 86 : 2
- 25.- KONEMAN, W., E.; et al. (1989) : Diagnostico Microbiológico. Ed Médica panamericana S.A. México D.F.
- 26.- KUSTER, W.; PETERSEN,M. (1990) : Afamily study of atopic dermatitis, Clinical and genetic characteristics of 188 patients and 151 family members Arch. Dermatol Res. 82 : 2.

- 27.- LAWLOR, G., J.; FISHER, T., J. (1988) : Manual de
alergia e inmunología. Ed.Salvat editores. Barcelona
España.
- 28.- LEUNG, D., Y.; RHODES, A., R.; et al. (1981) :
Enumeration of T cell subsets in atopic dermatitis
using monoclonal antibodies. J. AllergyClin. Immunol.
67 : 6.
- 29.- LEUNG, D., Y., et al. (1990) : Thymopentin therapy
reduces the clinical severity of atopic dermatitis. J.
Allergy Clin. Immunol. 85 : 5.
- 30.- LOCKEY, R., F.; BUKANTZ, S., C. (1988) : Inmunología y
alergia. Ed. Médica Panamericana, Argentina .
- 31.- MARAZZINI, L.; BOZZPNI, M.; et al. (1988) : The effect
of adrenoceptor agonists and antagonists on histamine -
wheal response in the skin of normal subjects and atopic
patients. Annals of allergy. 60.
- 32.- MARTINO, M.; ROSSI, E.; et al. (1988) : Occurrence and
subclass distribution of IgG antibodies to dietary
antigens in children with atopic dermatitis and their
mother. Annals of Allergy. 61 .
- 33.- MENEGHINI, C., L.; BONOFAZI, E. (1985) : Correlation
between clinical and immunological findings in atopic
dermatitis. Acta Derm. Venerol Suppl. (Stockh). 114.

- 34.- MIDDLETON, E., Jr.; REED, E., C.; ELLIS, E. (1988) ;
Allergy principles and practice. Ed. Mosby Co. 3 ed.
St Louis Missouri, USA (1988).
- 35.- MUDDE, G., C.; VAN REIJSSEN, F., C.; et al. (1990) ;
Allergen presentation by epidermal Langerhans cells from
patients with atopic dermatitis is mediated by IgE
Immunology. 69 : 3 .
- 36.- NEUBER, K.; KONIG, W. (1992) ; Effects of *Staphylococcus*
aureus cell wall products and anteroxin B in
immunoglobuli IgE, IgA, IgG synthesis and CD23
expression in patients with atopic dermatitis.
Immunology. 75 .
- 37.- NAKAGAWA, T.; MUKOYAMA, T.; et al. (1986) ; Egg white-
specific IgE and IgG4 antibodies in atopic dermatitis.
Annals of allergy. 57 .
- 38.- NAWATA, Y.; KOIKE, T.; et al. (1985) ; Anti- IgE
autoantibody in patients with atopic dermatitis. The
Journal of Immunology. 135 : 1.
- 39.- NELSON, R., D. (1975) ; Chemotaxis under agarose: a
new and simple method for measuring chemotaxis and
spontaneous migration of human polymorphonuclear
leukocytes and monocyte. The Journal of Immunopathology.
115 : 6..

- 40.- PATTERSON, R. (1984): Enfermedades alérgicas. Ediciones CEA S.A. España .
- 41.- PILOTO, V., L., J.; VALDES, S., A., F., et al. (1988): Immunology of atopic dermatitis. Allergol Immunopathol. (Madr) 16 : 4 .
- 42.- PULLA, B., S.; EZEKOWITZ R., A. (1992): Monocyte from patients with atopic dermatitis are primed for superoxide production. J. Allergy Clin Immunol. 89 : 2.
- 43.- ROBBINS, S., L.; COTRAN, S. (1984) : Patología estructural y funcional. Ed. Interamericana. 2a edición México .
- 44.- ROITT, I., M. (1988) : Essential Immunology. 4a ed. Ed. Blackwell Scientific Publication. Boston, Melbourne U.S.A.
- 45.- ROITT, I., M.: Inmunología, 2a ed. Ed. Salvat Editores S.A.
- 46.- RUDZKI, E.; LITEWSKA D. (1990): RAST and PRIST in children with atopic dermatitis. Dermatologic. 80 : 2 .
- 47.- SALAZAR, M., M. (1958): La alergia en la teoría y en la práctica. Ed. Mendez Oteo. México .
- 48.- SAMFER, M. (1990): Immunological diseases. Ed. Little brown and company. Boston Toronto Vol II .
- 49.- SAMPSON, H., A. (1983): Role of imediated food hypersensitivity in the pathogenesis of atopic

- dermatitis. J. Allergy Clin. Immunol. 71 : 5.
- 50.- SAMPSON, H., A. (1988): Comparason of results of skin tests, RAST and double-blind, placebo-controlled food changes in children with atopic dermatitis. J. Allergy Clin. Immunol. 81 : 4 .
- 51.- SAMPSON, H.,A. (1986): Immediate hypersensitivity reactions to foods: blinded food challenges in children with AD. Annals of Allergy. 57.
- 52.- SAMPSON, H., A. (1988): The role of food allergy and mediator release in atopic dermatitis. J. Allergy Clin. Immunol. 81 : 4 .
- 53.- SAXON, A., MORROW C.; et al. (1980): Subpopulations of circulating B cells and regulatory T cells involved in vitro immunoglobulin E. Production in atopic patients with elevated serum Immunoglobulin E. J.Clin. Invest. 65.
- 54.- SCHUSTER, D., L.; et al. (1979) : Suppressor cell function in atopic dermatitis associated with elevated immunoglobulin E. J. Allergy Clin. Immunol. 64 : 2.
- 55.- SENET, S., C.; et al. (1985): Alergología. Luzan S.A.de ediciones. Madrid .
- 56.- STITES, P., D.; HUGH F., H; et al. (1988): Inmunología Básica y Clínica. 6a ed. Ed. Manual Moderno S.A. de C.V. México .
- 57.- STONE, S., P. (1976): Atopic Dermatitis and IgE. Arch.

Dermatol. 112 .

- 58.- SVEJGAARD, E. (1990) : The role of microorganisms in atopic dermatitis. Semin Dermatol. 9 : 4.
- 59.- VANNESTE, D.; DOUKA M. (1985) : Epidermal changes in atopic dermatitis. Acta Derm. Venereol suppl (Stockh) 114
- 60.- VENTURA, A. (1989) : The effect of bacterial infection in the worsening of atopic dermatitis correlations with humoral immunologic patterns. Annals of Allergy. 63 .
- 61.- VIRELLA, G.; GOUST J.,M.; et al. (1990) : Introduction to Medical Immunology. Ed Marcel Dekker INC. 2a ed. New York and Basel .