

PRUEBA MULTIPLE Y SIMULTANEA DE LA TUBERCULINA*

SOL ROY ROSENTHAL, M.D., Ph.D.,^a Y J. E. P. LIBBY S. B.^b

El tamaño e intensidad de una reacción a la tuberculina pueden resultar afectados por diversos factores. En este trabajo, sus autores describen un experimento designado para averiguar si el tamaño e intensidad de la reacción producida por una dosis de tuberculina de potencia determinada será el mismo administrando dicha dosis sola o al mismo tiempo que otra dosis de potencia distinta. En este experimento, 611 niños lactantes que habían sido vacunados con BCG a los 2-5 días de edad, fueron sometidos a la prueba de tuberculina entre los 3 y los 5 meses después, aplicando a 306 de dichos lactantes una prueba única de 10 UT y a los 305 restantes una prueba doble (10 UT y 100 UT). Los resultados ponen de manifiesto una diferencia sumamente importante entre ambos grupos, tanto en el tamaño medio de las reacciones, como en el grado de induración; las reacciones mayores y enérgicas se dieron en el grupo sometido a la prueba única.

El tamaño de la reacción a la tuberculina se ha relacionado recientemente con la aparición eventual de la enfermedad activa (1, 2), con la eficacia de las vacunas antituberculosas (3) y con la especificidad de la reacción (1, 4).

Con frecuencia se hacen pruebas múltiples simultáneas (4, 5). El experimento de que trata este trabajo, en el cual se compararon las reacciones a las pruebas simultáneas múltiples con las correspondientes a las pruebas únicas, es digno de atención puesto que

mediante él se descubrió que el tamaño de las reacciones con respecto a dosis similares, variaba en estas condiciones. Las diferencias fueron muy significativas desde el punto de vista estadístico.

Desde 1937, ha sido norma en la Clínica de Prevención de la Tuberculosis, del Sanatorio Municipal de Tuberculosis, de Chicago, medir y registrar el diámetro longitudinal y el transversal, así como la intensidad y la rojez de la induración de las reacciones a la tuberculina consecutivas a la vacunación con BCG. Al principio, se empleó una prueba única de 20 UT (0,1 ml. de 1:500 Tuberculina Vieja (OT) ó 100 UT (0,1 ml. de 1:100 OT), pero, más adelante, al generalizarse el uso de 10 UT (0,1 ml. de 1:1000 OT o su equivalente), se adoptó una prueba de 10 UT. A fin de tener un punto de referencia, se administraron simultáneamente dos pruebas, una de 10 UT y otra de 100 UT, una en cada brazo. Sin embargo, la dosis mayor causó uniformemente reacciones excesivas y, por tanto, se abandonó y se utilizó tan sólo la dosis menor. Al adoptar este método, se observó que la reacción a esta dosis única (10 UT) era mayor que la correspondiente a la misma dosis cuando se aplicaba juntamente con 100 UT. Ante la posibilidad de que hubiera habido variaciones de la vacuna, del método de inyección y de lectura de la prueba de tuberculina, de la época del año, etc., se concibió un experimento en el que se realizaron alternativamente los dos tipos de prueba para reducir al mínimo el número de estas variables.

METODO

Los recién nacidos (de 2 a 5 días de edad) fueron vacunados con BCG por el método de punción múltiple (6), y de 3 a 5 meses después fueron sometidos a prueba con diluciones de OT al 1:100 ó al 1:1000, o bien con las dos. Las diluciones (0,85 %) se hicieron

* Publicado en inglés en el *Bulletin of the World Health Organization*, Vol. 23, No. 4-5, 1960.

^a Director, Institución para la Investigación de la Tuberculosis, Universidad de Illinois; Director de Investigación Preventiva de la Tuberculosis, Sanatorio Municipal Antituberculoso de Chicago, Chicago, Illinois, Estados Unidos.

^b Estadístico Principal, Institución para la Investigación de la Tuberculosis, Universidad de Illinois, Chicago, Illinois, E. U. A.

ron en solución fisiológica salina. La dilución 1:100 se utilizó antes de transcurrir una semana a partir de su preparación; la dilución al 1:1.000 se hizo a base de una concentración al 1:100 y se utilizó inmediatamente. Se emplearon únicamente frascos completamente llenos.

Se inyectó una décima de mililitro de una o de ambas diluciones de tuberculina en el tercio superior de la cara anterior del antebrazo. Se empleó una aguja de acero de calibre 26 ó 27 (0,45 ó 0,40 mm.). La dosis de 10 UT se administró en el antebrazo derecho y a de 100 UT, cuando se utilizó, se inyectó en el antebrazo izquierdo. Caso de administrar las dos dosis, la de 10 UT se inyectó primero en la gran mayoría de los casos, ya que causa menos "picazón" que la dosis de 100 UT. Se administraron alternativamente los niños lactantes dosis correspondientes las pruebas única y doble. La lectura de las pruebas fue llevada a cabo pasadas 48 horas, por un médico de la institución como parte del trabajo de rutina del programa clínico. En total participaron en esta tarea un número de tales médicos, ninguno de los cuales tenía en ese momento conocimiento del estudio de que aquí se da cuenta. El método de lectura ya se ha descrito en otra ocasión (7). En total, 306 lactantes fueron sometidos a la prueba de una sola dosis, y 305 a la de ambas dosis.

RESULTADOS

Se obtuvo el promedio de los diámetros transversal y longitudinal (en milímetros) de la induración individual de todos los niños de ambos grupos. El cuadro No. 1 indica la induración media, el error estándar de la media y la desviación estándar correspondiente a cada grupo. Las dos distribuciones se indican en la figura que se acompaña. La diferencia de las medias es de 4,2 mm. y tiene un valor P menor de 0.001, lo que indica una significación muy elevada. La media correspondiente al grupo de la prueba única excede en 31% a la correspondiente al grupo de la prueba doble. Para que sirviera de referencia, se halló la media de 305 reacciones al

CUADRO No. 1.—Comparación de las pruebas de tuberculina única y múltiple en niños lactantes vacunados con BCG.

	Grupo de prueba única (1:1000 OT)	Grupo de prueba múltiple (1:1000 OT)
Media	17,6 mm.	13,4 mm.
Error estándar de la media	0,33 mm.	0,30 mm.
Desviación estándar	5,84 mm.	5,24 mm.
Número en el grupo.	306	305

Diferencia entre promedios = 4,2 mm.; P < 0,001.

CUADRO No. 2.—Grado de induración en pruebas de tuberculina únicas y múltiples realizadas con niños lactantes vacunados con BCG.

Induración ^a	1:1000 OT únicamente		1:1000 OT en prueba doble	
	Número	Tanto por ciento del total	Número	Tanto por ciento del total
Negativa	0	0	10	3,3
Huella	1	0,3	6	2,0
+	38	12,4	105	34,4
++	230	75,2	175	57,4
+++	37	12,1	9	3,0
Total	306	100	305	100

^a Designación arbitraria

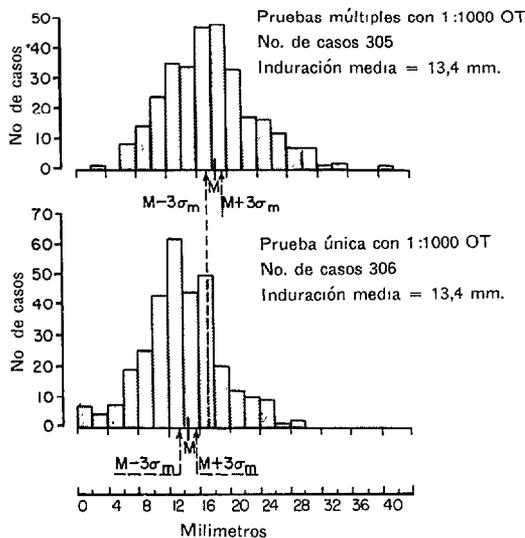
- Huella = ± induración;
- + = hasta 4 mm. de espesor;
- ++ = más de 4 mm. de espesor;
- +++ = cuando no es posible medir el espesor;

X² (3) = 65,04; P < 0,001.

1:100 OT; esta cifra, 21,5 mm., excede a la media de las 305 reacciones al 1:1000 OT de los mismos niños en 61%. Así pues, la prueba única en vez de la doble aumenta el tamaño de la reacción en más de la mitad al aumentar diez veces la concentración de la prueba.

En el histograma (véase figura) se observará que la distribución de las reacciones al 10 UT, con arreglo a los diámetros (en milímetros), es unimodal en ambos grupos. En cada histograma se han colocado flechas a una distancia de tres errores estándar por encima y por debajo de cada media. Como se observará, estos valores no se superponen.

HISTOGRAMAS DE LOS DIAMETROS DE INDURACION EN PRUEBAS DE TUBERCULINA UNICAS Y MULTIPLES LLEVADAS A CABO EN NIÑOS LACTANTES VACUNADOS CON BCG.



De los datos relativos a la induración se obtuvo más información sobre la reacción a las pruebas única y múltiple. En el cuadro No. 2 aparece la distribución relativa a ambos grupos de los casos que dieron nivel de induración del tipo negativo, \pm , $+$, $++$, y $+++$.

Se ve que 1:1000 OT como prueba única cuenta con menos casos en los tres niveles inferiores, y con más casos en los dos superiores que 1:1000 OT administrada como prueba doble con 1:100 OT. El valor X^2 se obtuvo después de agrupar los dos primeros niveles y hacer las correcciones impuestas por la continuidad. El resultado fue $X^2(3) = 65,04$, $P < 0,001$. Esto indica que, de ignorarse el tamaño de la reacción, la simple medida del nivel de induración pondría de manifiesto una diferencia altamente significativa en favor de que, como antes se dijo, la prueba única da reacciones más intensas que la prueba múltiple.

OBSERVACIONES

Hay muchos factores que pueden afectar las dimensiones de la reacción a la tubercu-

lina. Quizás la variable más importante y más común sea el factor humano. Dado que la adecuada aplicación y lectura de la prueba de tuberculina constituye una tarea en extremo exigente, los grupos de la Empresa Mixta* a cargo de las pruebas de tuberculina y vacunaciones con BCG por todo el mundo, tuvieron que seguir un curso bimensual de adiestramiento previo para acreditar las calificaciones requeridas para el trabajo sobre el terreno.

Otros factores que pueden afectar la reacción a la tuberculina por parte del huésped son las repetidas pruebas de tuberculina (8), la administración de repetidas inyecciones en el mismo punto (9), etc. Finalmente, la propia tuberculina, los diluyentes empleados, el grado de exposición a la luz y al aire, etc., son factores importantes que hay que tener en cuenta (7, 10, 11).

Por cuanto se pudo averiguar mediante un sumario examen del vasto número de publicaciones sobre el tema de la prueba de tuberculina, esta es la primera comunicación sobre el efecto de la prueba simultánea múltiple en el tamaño de la reacción a la tuberculina en el hombre. Es de notar, sin embargo que Paterson y Leech (12) observaron un fenómeno paralelo al hacer extensivos los experimentos a cobayos.

¿Cómo explicar este fenómeno? En la dermatitis por contacto, se ha citado el fenómeno de interferencia, en virtud del cual un potente sensibilizador cutáneo por contacto puede obstaculizar hasta cierto punto la sensibilización cutánea por contacto de un alérgeno más débil, cuando ambos se aplican simultáneamente—"el alérgeno más potente se apropia del mecanismo sensibilizador del anticuerpo" e impide la sensibilización al alérgeno más débil (13). Inmunológicamente, la aglomeración o competencia

* La Empresa Mixta es el título dado al programa de vacunación colectiva antituberculosa realizado, a finales de la quinta y comienzos de la sexta década del siglo, por la Cruz Roja Danesa, la Cruz Roja Sueca y la Ayuda Noruega a Europa, con ayuda material del UNICEF y asistencia técnica de la Organización Mundial de la Salud.

de antígenos es un fenómeno bien conocido en virtud del cual, en circunstancias especiales, la inyección de un antígeno inhibe la formación de anticuerpos de otro antígeno no afín (14, 15).

El fenómeno que se da a conocer en este trabajo difiere del precedente en que este último es primordialmente un fenómeno de inmunización o sensibilización, mientras que en el presente estudio la inmunización o sensibilización ya se ha efectuado. En el caso que nos ocupa, la "competencia" es por el mismo anticuerpo con un antígeno determinado de distinta concentración. Por tanto, en este caso queda descartada la competencia por el mecanismo de sintetización; más bien sugiere la actual interacción un esfuerzo competitivo sobre una producción limitada de anticuerpos en el período de la reacción.

CONCLUSIONES

1. Se advirtió que, al aplicar una dosis única de 10 UT, el diámetro de la induración mostraba una diferencia muy significativa con respecto al diámetro de la induración resultante de la aplicación de la misma dosis 10 UT, no sola como antes, sino simultáneamente con 100 UT.

2. Las reacciones a 10 UT de OT de 611 recién nacidos vacunados con BCG por el método de punción múltiple, midieron 13,4 mm. al aplicar esta dosis simultáneamente con otra de 100 UT, y 17,6 mm. cuando se aplicó sólo la primera.

3. En cuanto a los niveles de induración altos y bajos, la prueba única dio reacciones más intensas que la prueba múltiple, y la diferencia fue muy importante desde el punto de vista estadístico.

REFERENCIAS

- (1) Palmer, C. E., *Bull. Int. Un. Tub.*, 27:106, 1957.
- (2) Tuberculosis Vaccines Clinical Trials Committee, Medical Research Council of Great Britain: *Brit. Med. Jour.*, 11:379, 1959.
- (3) Tuberculosis Program, Public Health Service, USA: *Bull. Wld. Health Org.*, 12:31, 1955.
- (4) Pollack, T. M.; Sutherland, I., y D'Arcy Hart, P.: *Tubercle (Lond.)*, 40:336, 1959.
- (5) Furcolow, W. L., Hewell, B., y Nelson, W. E.: *Am. Rev. Tub.*, 45:504, 1942.
- (6) Rosenthal, S. R.: *Am. Rev. Tub.*, 39:128, 1939.
- (7) Rosenthal, S. R.: *BCG Vaccination Against Tuberculosis*, Boston Mass., 1957, p. 215.
- (8) Magnus, K., y Edwards, L. B.: *Lancet*, 2:643, 1955.
- (9) WHO Tuberculosis Research Office: *Bull. Wld. Health Org.*, 12:197, 1955.
- (10) Guld, J.; Magnus, K., y Magnusson, M.: *Am. Rev. Tub.*, 72:126, 1955.
- (11) WHO Tuberculosis Research Office and Biophysics Laboratory of the University of Copenhagen: *Bull. Wld. Health Org.*, 12:179, 1955.
- (12) Paterson, A. B., y Leech, F. B.: *Am. Rev. Tub.*, 69:86, 1954.
- (13) Epstein, W. L., y Kligman, A.: *Jour. Invest. Derm.*, 31:103, 1958.
- (14) Edsall, G.: *Jour. Allergy*, 28:1, 1957.
- (15) Wilson, G. S., y Miles, A. A.: *Principles of Bacteriology and Immunology*, Baltimore, Md., 1955, p. 1263.