

## CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA REAÇÃO À TRICOFITINA NAS DERMATOFIToses

Fátima Regina VILANI-MORENO (1) & Maria Suelli Parreira de ARRUDA (2)

### RESUMO

Os autores investigaram a competência imunológica específica de 31 indivíduos portadores de dermatofitose, utilizando o antígeno tricofitina. Destes, 54,8% mostraram-se reatores à fase tardia dessa prova (48 h) nas seguintes proporções: **tinea inguinale**, 75%; **tinea pedis**, 61,5%; **tinea unguium**, 50% e **tinea corporis**, 20%. 62,5% dos casos apresentaram positividade à fase imediata (30 m) da reação. A associação entre essas reações revelou que, embora a maioria dos pacientes com reação imediata positiva apresentasse negatividade à reação tardia, 20,8% apresentaram positividade para as duas fases da reação.

Dos pacientes não reatores à fase tardia, oito foram submetidos a outros testes cutâneos: PPD, estreptoquinase, candidina, vacínia e DNCB, verificando-se imunidade celular conservada em 75% dos casos. Estes resultados sugerem que, quando da utilização dessa prova na avaliação imunológica de pacientes com dermatofitose, deve-se considerar o estado imune geral do paciente, a presença de hipersensibilidade imediata e a localização da infecção.

**UNITERMOS:** Dermatofitoses; Tricofitina.

### INTRODUÇÃO

As dermatofitoses são infecções causadas por fungos que parasitam tecidos ceratinizados humanos<sup>3</sup>. A susceptibilidade a estas infecções varia de indivíduo para indivíduo<sup>15</sup>, e estudos efetuados nessa área sugerem a participação do sistema imunológico no seu desenvolvimento<sup>12,25,26</sup>.

Embora os dermatófitos induzam tanto resposta humoral como mediada por células, acredita-se que o ramo celular seja o mais diretamente envolvido na defesa contra esses microrganismos. Esse conceito advém de observações que demonstram que a resolução da infecção está usualmente associada com desenvolvimento de hipersensibilidade tardia, enquanto presença de altos títulos de anticorpos é característica de infecção crônica<sup>6</sup>.

Investigações prévias tem demonstrado que os pacientes podem exibir anticorpos tipo IgE, que

interferem no desenvolvimento da imunidade mediada por células e, conseqüentemente, na defesa do hospedeiro contra a infecção<sup>12</sup>. Tem sido sugerido que a maioria dos pacientes portadores de dermatofitoses, apresenta anergia seletiva à antígenos destes fungos e que, em apenas alguns desses indivíduos a depressão seria generalizada<sup>6</sup>.

Frente a esses dados, o presente estudo teve por objetivo avaliar a competência imunológica específica de pacientes portadores de dermatofitoses.

### MATERIAL E MÉTODOS

Participaram deste estudo 31 indivíduos com dermatofitose diagnosticada através de sinais clínicos e provas laboratoriais. Destes pacientes, 8 apresentavam concomitantemente, hanseníase, sendo 7 virchovianos e 1 dimorfo. Amostras de descamativos de pele e unha foram coletadas e submetidas ao micológico direto, de acordo com metodologia con-

(1) Bolsista CAPES, Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru, SP.

(2) Professora Assistente, Depto. Ciências Biológicas, FC, UNESP, Bauru, SP; Bióloga, Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru, SP.  
Endereço para correspondência: Maria Suelli Parreira de Arruda - Rod. Cte. João Ribeiro de Barros, km 225/226; Caixa Postal 62. 17100 Bauru, SP, Brasil.

vencional. O material coletado de 29 pacientes, foi cultivado em meio "Mycobiotic" (Difco), mantido à temperatura de 25°C e o crescimento de colônias foi observado durante 3 semanas. A seguir, realizou-se microcultura e, com base nos resultados, procedeu-se a identificação do dermatófito.

A avaliação da imunidade celular específica foi investigada através de teste intradérmico com antígeno tricofitina (Fundação Ataulpho de Paiva, lote nº 3, Rio de Janeiro, Brasil). A reação foi observada após 30 m e 48 h. Foram considerados como parâmetro de positividade: a) reação imediata (30 m) - eritema irradiado lembrando os raios de uma roda<sup>2</sup>; b) reação tardia (48 h) - induração com diâmetro igual ou superior a 5,0 mm<sup>7</sup>.

Oito pacientes que apresentaram-se não reatores à fase tardia da reação à tricofitina, foram submetidos a outros antígenos cutâneos: PPD, estreptoquinase, candidina, vacínia e 2,4 dinitroclorobenzeno - DNCB (Fundação Ataulpho de Paiva, Rio de Janeiro, Brasil). As provas de candidina, vacínia e estreptoquinase foram consideradas positivas quando a média aritmética dos dois maiores diâmetros da induração foi igual ou superior a 5,0 mm. Foram considerados reatores ao PPD, pacientes que apresentaram reações iguais ou superiores a 10,0 mm de diâmetro<sup>2</sup>.

Para sensibilização ativa com DNCB foi utilizada dose de 2000 mg/0,1 ml em acetona. Após 20 dias, os pacientes foram submetidos a 100 mg/0,1 ml. As reações foram avaliadas como segue: a) reação negativa: eritema e ausência de induração; b) reação positiva (+): eritema e induração mínima; c) reação positiva (++) : eritema e induração acentuada e pequenas vesículas; d) reação positiva (+++): vesículas maiores ou bolhas e ulceração<sup>19</sup>.

## RESULTADOS

Dos 31 pacientes estudados, 54,8% foram reatores à fase tardia da reação à tricofitina. A associação entre essa resposta e as formas clínicas observadas demonstrou positividade à tricofitina em 75% dos pacientes com *tinea inguinale*, 61,5% com *tinea pedis*, 50% com *tinea unguium* e 20% com *tinea corporis* (tabela 1).

Com relação a reação imediata, dos 24 pacientes em que a mesma foi avaliada verificou-se positividade em 62,5% dos casos. A associação entre as reações imediata e tardia está representada na

tabela 2. Embora a maioria dos pacientes com reação imediata positiva apresentasse negatividade à reação tardia, pode ser observado em 20,8% dos pacientes, positividade para as duas fases da reação. A correlação entre intensidade da reação tardia e manifestação da reação imediata demonstrou presença de reações tardias intensas (> 15,0 mm) em associação com reações imediatas positivas (tabela 3).

Das 32 amostras submetidas à cultura, 15 resultaram positivas. A associação entre dermatófitos isolados e respostas imediata e tardia à tricofitina está representada na tabela 4. Em 2 casos, cujo

Tabela 1  
Distribuição das formas clínicas de dermatofitose segundo a resposta ao teste da tricofitina

Formas Clínicas de Dermatofitose	Número de casos	
	Positivos	Negativos
<i>tinea pedis</i>	08	05
<i>tinea unguium</i>	03	03
<i>tinea pedis/tinea unguium</i>	01	01
<i>tinea inguinale</i>	03	01
<i>tinea pedis/tinea inguinale</i>	01	00
<i>tinea corporis</i>	01	04

Tabela 2  
Distribuição dos pacientes portadores de dermatofitose segundo resposta às fases tardia e imediata ao antígeno tricofitina

Reação	Reação Imediata	Reação		
		positiva	negativa	total
positiva		5	5	10
negativa		10	4	14
Total		15	9	24

Tabela 3  
Correlação entre intensidade da resposta tardia (RT) e manifestação da resposta imediata (RI) ao antígeno de tricofitina

Intensidade da reação tardia (mm)	Números de casos		Total
	RI +	RI -	
Negativo	10	04	14
1,0 ≤ 5,0	01	01	02
5,0 ≤ 7,0	01	01	02
7,0 ≤ 9,0	00	01	01
9,0 ≤ 15,0	01	02	03
> 15,0	02	00	02
Total	15	09	24

Tabela 4

Freqüência dos resultados do teste da tricofitina observada em pacientes portadores de dermatofitose, segundo as espécies de dermatófitos isolados

Dermatófitos Isolados	Total de Amostras	Reação imediata à tricofitina				Total de amostras	Reação tardia à tricofitina			
		+	%	-	%		+	%	-	%
<b>T. rubrum</b>	8	8	100	0	0	8	5	62,5	3	37,5
<b>T. mentagrophytes</b>	4	2	50	2	50	6	4	66,6	2	33,4
<b>M. canis</b>	1	0	0	1	100	1	1	100	0	0

fungo isolado foi **T. mentagrophytes**, a reação imediata não pode ser avaliada.

Os resultados obtidos nos 8 pacientes submetidos a avaliação frente a outros antígenos cutâneos estão relacionados na tabela 5, onde verifica-se imunidade celular conservada em 75% dos casos.

Tabela 5

Freqüência de resposta a testes cutâneos observados em pacientes portadores de dermatofitose

Número de testes positivos	Número de casos	%
1	02	25,0
>1	06	75,0

## DISCUSSÃO

A imunidade mediada por células contra fungos dermatófitos pode ser avaliada através do teste da tricofitina<sup>24</sup>. Este consiste na injeção intradérmica de pequena quantidade de extrato antigênico de várias culturas de dermatófitos<sup>3</sup>, em área sadia do antebraço, e na observação do local da aplicação após 30 m (reação imediata) e 48 h (reação tardia)<sup>6</sup>.

A freqüência de positividade da reação de hipersensibilidade do tipo tardio nos casos de dermatofitose varia de autor para autor. Tem sido sugerido que tais discrepâncias poderiam ser devidas ao tempo de evolução da doença, à natureza e ao local da lesão, ou ainda, à espécie de dermatófito envolvida<sup>10, 17, 21, 24</sup>. Contudo, nem todos os autores são concordes com essas hipóteses<sup>5, 20</sup>.

Neste estudo, 54,8% dos pacientes apresentaram-se reatores à fase tardia da reação à tricofitina nas seguintes proporções: **tinea inguinale** 75%; **tinea pedis** 61,5%; **tinea unguium** 50%; e **tinea corporis** 20%. Esses resultados dão apoio à hipó-

tese de que a resposta imune do paciente pode variar de acordo com o local da infecção<sup>10, 23, 24</sup>.

A espécie do dermatófito isolado não afetou essa positividade. Embora alguns pesquisadores tenham observado maior porcentagem de reações positivas nos casos onde o **T. mentagrophytes** foi isolado<sup>8, 24</sup>, resultados semelhantes aos do presente estudo também foram verificados<sup>5, 20</sup>.

A infecção pelo **T. rubrum** tem sido frequentemente associada à presença de reação imediata à tricofitina<sup>15</sup>. Neste estudo, reações imediatas foram verificadas em pacientes com **T. rubrum** e com **T. mentagrophytes**, embora nos primeiros a freqüência dessa manifestação tenha sido de 100%. Esses resultados estão de acordo com aqueles verificados por JILLSON<sup>13</sup> e LEWIS<sup>18</sup>, e sugerem que embora a reação imediata seja mais freqüente em pacientes infectados pelo **T. rubrum**, esta pode manifestar-se também em pacientes infectados por outros dermatófitos.

Vários autores<sup>11, 14, 15, 16</sup>, tem demonstrado que a maior parte dos indivíduos que desenvolvem reação imediata não manifestam reação tardia. Nos casos em que as duas ocorrem, as reações tardias são de baixa intensidade<sup>15</sup>. Esses dados sugerem a possibilidade de anticorpos da classe IgE interferirem na manifestação tardia da reação. Os mecanismos envolvidos nesse evento não se encontram totalmente esclarecidos<sup>9</sup>. Tem sido sugerido que tais anticorpos poderiam tanto esgotar antígenos fúngicos disponíveis por unirem-se a eles, como formarem complexos que afetariam inespecificamente a resposta de hipersensibilidade tardia<sup>15</sup>.

BROSTOFF & ROITT (1969)<sup>4</sup>, estudando pacientes reatores apenas à fase imediata, verificaram que, com o uso local de clorfemiramina, alguns desses indivíduos manifestavam resposta positiva à fase tardia da reação. JONES et al. (1974)<sup>15</sup> em estudo semelhante, mas administrando clorfemiramina associ-

ada a tricofitina, confirmaram esses resultados. Verificaram ainda que, em indivíduos que manifestavam as duas reações, o uso dessa mistura resultou em reações tardias maiores e mais intensas. Persistindo nesse estudo, os autores sensibilizaram passivamente, pele de indivíduos que reagiam somente à fase tardia da reação. A injeção de tricofitina nesse local resultou na redução moderada ou completa da hipersensibilidade tardia. Redução semelhante, se não mais intensa, foi obtida com a administração de histamina associada a tricofitina. Frente a esses resultados, os autores concluíram que a manifestação da reação de hipersensibilidade tardia à tricofitina pode ser mascarada pelo desenvolvimento da reação imediata.

No presente estudo, 62,5% dos pacientes avaliados frente às manifestações imediata e tardia da tricofitina, apresentaram positividade à reação precoce. Destes, 66,7% não apresentaram a fase tardia da reação, confirmando os resultados presentes na literatura<sup>11, 14, 15, 16</sup>.

JONES et al. (1974)<sup>15</sup> empregando o teste de transformação linfocitária, demonstraram que linfócitos de indivíduos que manifestam a reação imediata, mas não a tardia à tricofitina, respondem à estimulação específica "in vitro". Esse resultado reforça o conceito de que pacientes não reatores à fase tardia à tricofitina podem apresentar hipersensibilidade ao antígeno tricofitina.

As duas manifestações, reações imediata e tardia, ao antígeno tricofitina foram verificadas em 33,3% dos nossos casos; sendo que em três desses, as respostas foram consideradas como de moderadas a intensas. Essa observação sugere que outros mecanismos que não aqueles da reação imediata, poderiam estar envolvidos na não resposta à fase tardia da reação à tricofitina.

A ausência de hipersensibilidade tardia à tricofitina tem sido considerada como sendo relativamente específica, uma vez que alguns autores tem relatado que pacientes tricofitina negativos geralmente respondem a outros antígenos<sup>1, 22</sup>. Neste estudo, 75% dos pacientes apresentaram positividade a pelo menos dois outros antígenos, sugerindo imunidade celular preservada. Nesses casos, a ausência de reatividade à fase tardia da reação pode ser considerada como reflexo de depressão imune celular específica aos dermatófitos<sup>6</sup>. Cabe salientar, contudo, que três desses pacientes apresentaram reação imediata, o que poderia ter mascarado a expressão da hipersensibilidade tardia.

A ausência de resposta a outros antígenos testados intradermicamente foi verificada em dois casos. Tal observação não é única, HANIFIN et al.<sup>8</sup>, a verificaram em 56,8% dos pacientes por eles testados e, SORENSEN & JONES<sup>22</sup>, em 5% de seus casos. Esses dados, em conjunto, sugerem que o defeito imunológico, quando verificado em pacientes portadores de dermatofitoses, pode não ser antígeno-específico. À semelhança de SORENSEN & JONES<sup>22</sup>, nossos pacientes não apresentavam sinais clínicos frequentes em condições de imunodeficiência.

Quanto aos indivíduos hansenianos estudados, verificou-se que 62,5% mostraram-se reatores ao teste intradérmico da tricofitina, com reações tardias bastante intensas. Os dois pacientes tricofitina negativos que foram submetidos à avaliação inespecífica da resposta imune, apresentaram resultados compatíveis com aqueles observados na população normal. Estes dados reforçam o conceito de que tais pacientes não exibem uma depressão generalizada da imunidade celular.

Os dados obtidos neste estudo, indicam que a reatividade à tricofitina é multifatorial. Assim, quando da sua utilização na avaliação imunológica específica de pacientes portadores de dermatofitose, deve-se considerar o estado imune geral do paciente, a presença de hipersensibilidade imediata e o local da infecção.

## SUMMARY

### Contribution to the study of the tricophyitin reaction in dermatophytosis

The authors investigated the specific immunological competence of 31 patients with dermatophytosis using tricophyitin antigen. Among them, 54.8% showed reaction to the delay phase (48 h) in the following proportions: *tinea inguinale*, 75%; *tinea pedis*, 61.5%; *tinea unguium*, 50% and *tinea corporis*, 20%. Other 62.5% showed positive result to the early phase (30 m). The association between these reactions revealed that, although the majority of cases with early positive reaction showed negativity to the delayed reaction, 20.8% presented positivity to both phases of the reaction.

Out of the non-reactive patients to the delayed phase, 8 were submitted to the other cutaneous tests such as PPD, streptokinase, candidin, vaccinia and DNCB and showed preserved cellular

immunity in 75%. These results suggest that, while using this reaction for immunological evaluation of patients with dermatophytosis, one should consider the overall immune status of the patient, the presence of early hypersensibility and the localization of the infection.

### AGRADECIMENTOS

Às biólogas Denise Aparecida Cardia Prado e Ana Carolina Villas Boas, pela realização das provas micológicas.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AHMED, A. R. - Immunology of human dermatophyte infections. *Arch. Derm.*, 118:521-525, 1982.
2. ARRUDA, M. S. P.; ARRUDA, O. S.; FLEURY, R. N.; GARCIA, D. O.; OPROMOLLA, D. V. A. & URA, S. - Estudo da imunidade celular em pacientes branqueados. *Med. cut. ibero lat-amer.*, 10:231-238, 1982.
3. AZULAY, R. D. - Micoses superficiais. *Rev. bras. Clin. Terap.*, 14:154-158, 1985.
4. BROSTOFF, Y. & ROITT, I. M. - Cell-mediated (delayed) hypersensitivity in patients with summer hay-fever. *Lancet*, 27:1269-1272, 1969.
5. CRIEP, L. H. - *Dermatologic allergy*. Philadelphia, W. B. Saunders, 1967.
6. DAHL, M. V. - Host defense: fungus. In: *Clinical immuno-dermatology*. Chicago, Year Book Medical Publishers, 1981. p.127.
7. ENGLISH, M.P. - Tinea pedis as a public health problem. *Brit. J. Derm.*, 81:105-107, 1969.
8. HANIFIN, J. M.; RAY, L. F. & LOBITZ, W. C. - Immunological reactivity in dermatophytosis. *Brit. J. Derm.*, 90:1-8, 1974.
9. HAY, R. J. - Failure of treatment in chronic dermatophyte infections. *Postgrad med. J.*, 55:608-610, 1979.
10. HAY, R.J. & SHENNAN, G. - Chronic dermatophyte infections. II - Antibody and cell-mediated immune responses. *Brit. J. Derm.*, 106:191-198, 1982.
11. HELANDER, I. - Leukocyte migration agarose test in dermatophytosis. *Mykosen*, 21:167-175, 1978.
12. HONBO, S.; JONES, H. E. & ARTIS, W. M. - Chronic dermatophyte infection: evaluation of the Ig class-specific antibody response reactive with polysaccharide and peptide antigens derived from *Trichophyton mentagrophytes*. *J. invest. Derm.*, 82:287-290, 1984.
13. JILLSON, O. F. & HUPPERT, M. - The immediate wheal and the 24-48 hour tuberculin type edematous reactions to trichophytin. *J. invest. Derm.*, 12:179-185, 1949.
14. JONES, H. E.; REINHARDT, J. H. & RINALDI, M. G. - A clinical, mycological and immunological survey for dermatophytosis. *Arch. Derm.*, 108:61-65, 1973.
15. JONES, H. E.; REINHARDT, J. H. & RINALDI, M.G. - Immunologic susceptibility to chronic dermatophytosis. *Arch. Derm.*, 110:213-220, 1974.
16. KAAMAN, T. - The clinical significance of cutaneous reactions to *Trichophyton* in dermatomycosis. *Acta dermat. venerol. (Stockh.)*, 58:139-143, 1978.
17. LEWIS, G.M. - Trichophytin test: its value as diagnostic aid. *Arch. Derm. Syph.*, 38:713-726, 1938.
18. LEWIS, G. M. - *An introduction to medical mycology*. 4.ed. Chicago, Year Book Publishers, 1958. p.228-230.
19. MOTA, N. G. S. - Comportamento de provas cutâneas para avaliação de imunidade celular em pacientes com hanseníase virchoviana. Botucatu, 1973. (Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu - FCMBB).
20. NEVES, H. - Trichophytin reaction in natural and experimental dermatophytosis and tuberculosis. *Sabouraudia*, 1:197-202, 1962.
21. PER, M. & BRAUDE, R. - Contribution à la question de la valeur de la trichophytine pour le diagnostic et le traitement des dermatomycoses à la lumière des connaissances actuelles sur l'allergie et l'immunité. *Acta dermat. venerol. (Stockh.)*, 9:1-51, 1928.
22. ROOK, G. O. W.; CARSWELL, J. W. & STANFORD, J. L. - Preliminary evidence for trapping of antigen-specific lymphocytes in lymphoid tissue of anergic tuberculosis patients. *Clin. exp. Immunol.*, 26:129-132, 1976.
23. SORENSEN, G. W. & JONES, H. E. - Immediate and delayed hypersensitivity in chronic dermatophytosis. *Arch. Derm.*, 112:40-42, 1976.
24. VILANOVA, X. & CASANOVAS, M. - Les tests intradermiques à la trichophytine et à la levurine dans les mycoses cutanées et autres dermatoses. *Ann. Derm. Syph. (Paris)*, 88:601-612, 1961.
25. WANKE, N. C. F. & FRAGA, S. - O teste da tricofitina como subsídio diagnóstico nas dermatofitoses. *An. bras. Derm.*, 52:7-23, 1977.
26. WILSON, J. W. - Cushing's syndrome and dermatomycosis: discussion. *Arch. Derm.*, 80:709-710, 1959.
27. WILSON, J. W. & PLUKETT, O. A. - *The fungus diseases of man*. Berkeley, University of California Press, 1965. p.232-233.

Recebido para publicação em 24/1/1992  
Aceito para publicação em 27/10/1992