

EVALUACION DE TRES METODOS DE EXTRACCION DE ALERGENOS PROVENIENTES DE CUCARACHAS

Olger Calderón;* Claudio Sánchez;* Mayra Solano;* Olman Riggioni.**

Key words: Cockroaches - Allergy - Allergen
Skin Prick-Test Asthma - Rhinitis.

RESUMEN

Se prepararon extractos crudos de las cucarachas *Periplaneta americana* y *Periplaneta australasiae* (Dictyoptera: Blattidae) mediante las metodologías de Bernton & Brown, Mendoza & Snyder y Twarog et. al. Ochenta pacientes alérgicos fueron estudiados mediante pruebas cutáneas (Skin Prick - test) utilizando estos extractos. Los resultados obtenidos mediante los tres métodos demostraron que la reactividad cruzada a estos insectos fue alta. Alguna reactividad individual a cada especie también fue encontrada en este estudio. (Rev. Cost. Cienc. Méd. 1993; 14(1, 2): 19-23).

INTRODUCCION

Algunos artrópodos han sido reconocidos como potenciales fuentes de alergen. Ya ha sido demostrado que los ácaros del polvo casero *Dermatophagoides pteronyssinus* y

Dermatophagoides farinae son una causa importante en la inducción de problemas alérgicos como asma, rinitis, dermatitis y conjuntivitis (1, 2, 3, 4, 5, 6). Otro grupo de artrópodos que ha sido considerado en este tipo de problemas es el de las cucarachas (Dictyoptera) (7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21). Algunas especies como *Periplaneta americana* y *Blattella germanica* han sido extensamente estudiadas. Recientemente, se ha podido evaluar el papel que cumple la cucaracha *Periplaneta australasiae* como inductor de alergia en pacientes alérgicos de Costa Rica (11).

En el presente trabajo comparamos resultados obtenidos en pruebas epicutáneas (skin prick test), utilizando extractos de *Periplaneta americana* y *Periplaneta australasiae*, preparados mediante tres técnicas diferentes. Con ello corroboramos el papel que juegan estas cucarachas como potenciales fuentes de alergen en pacientes costarricenses.

PACIENTES Y METODOS

Se trabajó con la misma población utilizada en un estudio previo (11): 80 pacientes alérgicos severos que asistieron al Servicio de Alergología del Hospital México, San José, Costa Rica durante los meses de febrero, marzo y abril de 1989. Ninguno de estos pacientes recibió tratamiento medicamentoso o de hiposensibilización previo al ensayo. Se prepararon extractos de todo el cuerpo de las cucarachas *Periplaneta americana* y

* Centro de Investigación y Diagnóstico en Parasitología (CIDPA). Facultad de Microbiología. Universidad de Costa Rica.

** Servicio de Alergología. Hospital México. Caja Costarricense de Seguro Social. Facultad de Medicina. Universidad de Costa Rica

Periplaneta australasiae, de acuerdo a las metodologías de Bernton & Brown (7), (Mendoza & Snyder (18) y Twarog y colaboradores (21). La concentración de proteínas se determinó por el método Bradford (22) y se ajustó a una concentración final de 1 ug/uL. Con estos extractos se realizaron pruebas cutáneas en cada paciente. Los resultados obtenidos con el método de Twarog y colaboradores así como la metodología y criterios de evaluación de las pruebas cutáneas fueron dados a conocer previamente (11).

RESULTADOS

Con los extractos preparados de acuerdo al método de Bernton & Brown (7), se obtuvo reactividad a por lo menos una de las dos especies de cucarachas en 55 pacientes (69 %). Cincuenta y un pacientes (64%) lo hicieron para extractos de *Periplaneta americana* y 50 pacientes (62%) reaccionaron a los de *Periplaneta australasiae*. La mayoría de estos pacientes mostraron reactividad cruzada (Cuadro 1).

Con la metodología de Mendoza & Snyder (18), 50 pacientes (62%) fueron positivos a por lo menos una de las especies estudiadas. 47 pacientes (59%) fueron positivos para *Periplaneta americana* y 42 pacientes (52%) lo fueron para *Periplaneta australasiae*. También se encontró reactividad cruzada en la mayoría de los pacientes.

Se pudo además ver que algunos pacientes fueron reactivos a sólo una de las dos especies. Con los extractos preparados mediante el primer método, 5 pacientes (6%) reaccionaron sólo a *Periplaneta americana*, mientras 4 (5%) reaccionaron sólo a *Periplaneta australasiae*. Con el segundo método, 8 pacientes (10%) fueron reactivos solamente a *Periplaneta americana* y 3 pacientes (4%) lo fueron a *Periplaneta australasiae*.

Los resultados obtenidos por el método de Twarog y colaboradores (11) fueron incluidos en el Cuadro 1 de este trabajo. Los

porcentajes de reactividad cruzada obtenidos por los tres métodos no tuvieron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,1$) (Cuadro 1), las diferencias en las reactividades individuales tampoco mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,1$).

DISCUSION

Con los resultados obtenidos se comprobó que la reactividad a los extractos de *Periplaneta australasiae* y *Periplaneta americana* es alta, y es independiente en este experimento de la metodología que se utilice para la preparación del extracto. Esto corrobora el papel que estos insectos pueden desempeñar como potencial fuente de alérgenos y confirmaría la hipótesis de Capriles & Dockhorn (4) y de Ford & Platts-Mills (23) de que las cucarachas pueden ser tan importantes en la inducción de problemas alérgicos como los ácaros del polvo casero, *Dermatophagoides farinae* y *Dermatophagoides pteronyssinus*, ya que éstas, bajo condiciones óptimas de temperatura y humedad pueden alcanzar densidades muy altas dentro de las casas (12). Además por el contacto, inhalación e ingestión de heces, vómitos, insectos muertos o detritos puede ocurrir la sensibilización de los pacientes (8). Con los tres métodos de extracción se obtuvo reproducibilidad de resultados en cuanto a reactividad cruzada e individual a cada extracto de cucaracha, siendo en los tres casos más elevada la reactividad cruzada que la individual, lo que demuestra:

1. La posible existencia de alérgenos comunes en *Periplaneta australasiae* y *Periplaneta americana*, y que en este caso serían reconocidos por la mayoría de la población en estudio. Tal observación sustenta la conclusión de Baldo & Panzani (24), quienes encuentran reactividad común hacia insectos diferentes pertenecientes a familias y órdenes comunes.

2. Existen alergenicos específicos que son reconocidos por una minoría de los pacientes alérgicos (Cuadro 1), lo que ayuda a explicar por qué hay diferencias de alergenidad entre una especie y otra. Tales hallazgos apoyan las observaciones de alergenidad entre *Periplaneta americana* y *Blattella germanica*. Estas reactividades especie-específicas no deben ser subestimadas desde el punto de vista clínico.

Queda pendiente la identificación y caracterización de los principales alergenicos presentes en cepas costarricenses de *Periplaneta australasiae* y *Periplaneta americana* que podrían mejorar el diagnóstico y el tratamiento de las alergias a estos insectos en Costa Rica.

ABSTRACT

Crude extracts of cockroaches Periplaneta americana and Periplaneta australasiae (Dictyoptera: Blattidae) were obtained by three different methods: Berton & Brown, Mendoza & Snyder, Twarog et al. Eighty atopic patients were studied by the skin prick test, using these extracts. A high crossreactivity to these cockroach species was found. We also found some individual reactivity to each cockroach.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Víctor Gómez Ph.D., del Laboratorio de Investigación y Consultoría Estadística (LINCE) de la Universidad de Costa Rica, por la ayuda brindada en el análisis estadístico de este trabajo.

A la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica por el respaldo económico al proyecto 803-089-073.

CUADRO 1

PACIENTES REACTIVOS A EXTRACTOS DE CUCARACHAS PREPARADOS MEDIANTE TRES DIFERENTES METODOLOGIAS

Extracto	Método usado		
	Bernton & Brown (7)	Mendoza & Snyder (18)	Twarog et al. (21)
<i>P. americana</i>	5	8	7
<i>P. australasiae</i>	4	3	6
Reactividad cruzada	46	39	42
No reactivos	25	30	25
TOTAL	80	80	80

BIBLIOGRAFIA

1. Arlian, L. G.; Bernstein, I. L.; Vyszenski-Moher, D. L. & Gallagher, J. S.: Antigenicity and allergenicity of the mite *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). *J. Med. Entomol.* 1987; 24: 254-261.
2. Arlian, L. G.; Bernstein, I. L.; Geis, D. P.; Vyszenski-Moher D. L.; Gallagher, J. S. Martin, D.: Investigations of culture medium free house dust mites. III. Antigens and allergens of body and fecal extract of *Dermatophagoides farinae*. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1987; 79: 457-466.
3. Arlian, L. G.; Bernstein, I. L.; Vyszenski-Moher, D. & Gallagher, J. S.: Investigations of culture medium free house dust mites. IV. Cross antigenicity and allergenicity between the house dust mites *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1987; 79: 467-476.
4. Capriles, A. & Dockhom, R. J.: House dust mite (*Dermatophagoides farinae*) and cockroach allergy in a Midwestern population. *Ann Allergy.* 1979; 42: 160-165.
5. Cuthbert, O. D.: The incidence and causative factors of atopic asthma and rhinitis in Orkney farming community. *Clin Allergy.* 1986; 11:217-225.
6. Muncuoglu, Y.: House dust mites in Switzerland. III. Allergenic properties of the mites. *Acta Allergol.* 1977; 32: 333-349.
7. Bernton, H. S. & Brown, H.: Insect allergy preliminary studies of the cockroach. *J. of Allergy.* 1964; 35: 506-513.
8. Bernton, H. S. & Brown, H.: Cockroach allergy II. The relation of infestation to sensitization. *South. Med. J.* 1967; 60: 852-855.
9. Bernton, H. S. & Brown, H.: Cockroach allergy. Age of onset skin reactivity. *Ann Allergy.* 1970; 28: 420-422.
10. Bernton, H. S. Brown, H.: Insect allergy: The allergenicity of the excrement of the cockroach. *Ann Allergy.* 1970; 28: 543-547.
11. Calderón, O.; Riggioni, O.; Solano, M.E.; Sánchez, C.: Reactividad de ochenta pacientes alérgicos a extractos de dos especies de cucarachas domiciliarias de Costa Rica. *Rev. Cost. Cienc. Med.* 1992; 13: 3-7.
12. Comwell, P. B.: Can cockroaches cause asthma? *Brit. Med. J.* 1977; 1:1159.
13. Kang, B.: Specificity of Cockroach antigen as causative agent in bronchial asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1976; 57: 237-238.
14. Kang, B.: Specificity of Cockroach antigen as probable causative agent in bronchial asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1976; 58: 357-365.
15. Kang, B. & Suilt, N.A.: Comparative study of prevalence of skin hypersensitivity to cockroach and house dust antigens. *Ann. Allergy.* 1978; 41: 333-336.
16. Kang, B.; Vellody, D.; Homburger, H. & Yunginger, J. W.: Cockroach cause allergic asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1979; 63: 80-86.
17. Neelan, T.; Brata-Maitra, S.; Saha, G.; Modak, A & Hati, A.: Role of cockroaches in allergy to house dust in Calcutta, India. *Ann. Allergy.* 1990. 64: 155-157.
18. Mendoza, J. & Snyder, R. D.: Cockroach sensitivity in children with bronchial asthma. *Ann. Allergy.* 1970; 28: 156-162.

19. Richman, P. G.; Khan, H. A.; Turkeltaub, P. C.; Maiveaux, F. J. & Baer, H.: The important sources of Gorman cockroach allergens as determined by RAST analyses. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1984; 73: 590-595.
20. Schulaner, F. A.: Sentitivity to cockroach in three groups of allergic children. *Pediatrics.* 1970; 45: 465-466.
21. Twarog, F. J.; Picone, F. J.; Strunk, R. S.; So, J. & Colten, H.: Immediate Hipersensitivity to cockroach. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1977; 59: 154-160.
22. Bradford, M. A.: rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Ann. Biochem.* 1976; 72: 248-254.
23. Ford, A.; Platts-Mills, T.: Standarized extracts, dust mites and another arthropods (Inhalants). *Clin. Rev. Allergy.* 1987; 5:49-73.
24. Baldo, B. A. & Panzani, A.: Detection of IgE antiboides to a wide range of insects species in subjects with suspected inhalant allergies to insects. *Int. Arch. Allergy.* 1988; 85: 278-287.