

## Prueba cutánea retardada, IgE total y anticuerpos específicos frente a la vacuna cubana Heberbiovac-HB en asmáticos cubanos

### Delayed skin test, total IgE and specific antibodies against the Cuban Heberbiovac-HB vaccine in Cuban asthmatic patients

Dra. Leticia Caridad Sosa González <sup>I</sup>; Dra. Alina Alerm González <sup>II</sup>; Dra. Milena Rodríguez Álvarez <sup>III</sup>; Dra. Teresa Rodríguez Fernández <sup>IV</sup>; Dr. Luis Miguel Sosa González <sup>V</sup>

<sup>I</sup> Instituto de Hematología e Inmunología, Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>II</sup> Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón", Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>III</sup> Instituto Nacional de Endocrinología, Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>IV</sup> Hospital Clínicoquirúrgico "Calixto García", Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>V</sup> Policlínico Principal de Urgencias "Antonio Guiteras", Ciudad de La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

La hipótesis higiénica intenta dar explicación coherente al incremento del asma en países desarrollados. Diversos estudios centran su atención en el papel que desempeñan las inmunizaciones sobre el sistema inmune y la influencia que ejercen sobre la atopia. El objetivo de este trabajo fue determinar las diferencias entre las concentraciones séricas de anticuerpos contra el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (anti-AgsHB), IgE total (IgE) y área de la prueba cutánea con el antígeno (Ag) vacunal, de la vacuna cubana contra la hepatitis B, Heberbiovac-HB, en niños asmáticos y no asmáticos. Se evaluó la influencia de la gravedad del cuadro clínico del asma sobre la respuesta inmune frente al Ag: se realizó estudio prospectivo y transversal, constituido por 103 niños asmáticos atendidos en el Hospital Infantil Docente "William Soler" y 37 no asmáticos de un área de salud del Centro de Atención Primaria "Julián Grimau" de la Ciudad de La Habana, Cuba. Todos los niños fueron vacunados con la vacuna Heberbiovac-HB, según esquema cubano de vacunación. Se realizó el *test* de ANCOVA para determinar las diferencias entre ambos grupos. En el grupo de niños asmáticos, se realizó un *test* de Duncan *pos-hot*, para establecer las diferencias, según la severidad del asma. Las diferencias significativas se

---

centraron en las pruebas cutáneas, siendo menor el área de la prueba cutánea en asmáticos con respecto a los no asmáticos; la prueba cutánea control (PCC) y la prueba cutánea vs. antígeno vacunal de la hepatitis B (PCHB), PCC (166,5 vs. 233,6 mm<sup>2</sup>; p= 0,0077) y la PCHB (1 020,4 vs. 1 318,15 mm<sup>2</sup>; p= 0,0173). La severidad del cuadro clínico en asmáticos se relacionó de manera directa con las concentraciones de IgE e inversa con el área de la PCHB. Los niños asmáticos respondieron con menor área en la prueba cutánea retardada al compuesto vacunal, que los no asmáticos. La respuesta se deterioró a medida que se incrementó la gravedad del asma y las concentraciones de IgE.

**Palabras clave:** atopia, asma, prueba cutánea retardada, IgE, severidad del asma, Anti-AgsHB.

---

## ABSTRACT

The hygienic hypothesis tries to give a coherent explanation to the increase of asthma in the developed countries. Several studies focus their attention on the role played by immunizations in the immune system and on the influence they exert on atopy. The objective of this paper was to determine the differences among the serum concentrations of antibodies against the hepatitis B surface antigen (anti-AgsHB), the total IgE (IgE) and the area of the skin test with the vaccinal antigen (Ag) of the Cuban vaccine against hepatitis B, Heberbiovac-HB, in asthmatic and non-asthmatic children. The influence of the severity of the clinical picture of asthma on the immune response against Ag was evaluated. A prospective and cross-sectional study that included 103 asthmatic children attended at "William Soler" Children Teaching Hospital and 37 non-asthmatics from a health area of "Julián Grimau" Primary Care Center in Havana City, Cuba, was conducted. All the children were vaccinated with the Heberbiovac-HB vaccine according to the Cuban vaccination scheme. ANCOVA test was made to determine the differences between both groups. In the group of asthmatic children, Duncan's post-hoc test was carried out to establish the differences according to asthma severity. The significant differences were centered on the skin tests. The area of the skin test in asthmatics was lower than that of the non-asthmatics; the control skin test (CST) and the skin test against the hepatitis B vaccine antigen (STHB), CST (166.5 vs. 233.6 mm<sup>2</sup>; p=0.0077) and STHB (1 020.4 vs. 1 318.15 mm<sup>2</sup>; p=0.0173). The severity of the clinical picture in asthmatics was directly related to the IgE concentrations and inverse to the area of STHB. The asthmatic children responded with less area to the vaccinal compound in the delayed skin test. The answer deteriorated as the severity of asthma and the IgE concentrations increased.

**Key words:** atopy, asthma, delayed skin test, IgE, asthma severity, Anti-AgsHB.

---

## INTRODUCCIÓN

El incremento en la prevalencia de las enfermedades alérgicas en los países desarrollados en el último siglo, principalmente en las 3 últimas décadas, ha sido bien argumentada.<sup>1</sup> En Cuba se observa una tendencia similar, con una prevalencia del 14 % en la población infantil.<sup>2</sup>

---

Las marcadas diferencias en la prevalencia entre poblaciones con igual fondo genético, apuntan a que esta epidemia está condicionada por cambios ambientales, más que por cambios genéticos.<sup>3,4</sup>

La hipótesis higiénica es una probable explicación a la progresión epidémica de estas afecciones.<sup>5</sup> La mengua del tamaño familiar, los cambios en el estilo de vida y la mejoría de las condiciones higiénicas, con la consecuente disminución de la exposición a infecciones en la infancia, han favorecido la expresión de las enfermedades alérgicas en países con amplio desarrollo y sólidos sistemas de salud.<sup>1,5</sup>

Los programas de vacunación en la infancia temprana ofrecen un vasto campo de estudio, al constituir intervenciones inmunológicas planificadas. Es además conocido que determinadas vacunas son capaces de inducir o reforzar un patrón de secreción de citocinas, predominantemente Th2, lo que pudiera modificar la respuesta inmunológica en un niño, haciéndolo más o menos susceptible a la formación de IgE, fenómenos atópicos y respuestas diferentes a antígenos (Ags) inocuos.

En Cuba se realizó un estudio en niños menores de 3 años, vacunados con la vacuna cubana contra la hepatitis B, en el que se observó que los porcentajes de hiperrespuesta y las medias geométricas de concentración sérica de anticuerpos (Acs) específicos fue menor en niños asmáticos que en los no asmáticos.<sup>6</sup>

En un estudio controversial realizado en niños japoneses, se encontró que existía asociación inversa significativa entre la respuesta a la prueba cutánea de tuberculina y síntomas de asma, donde fue menor la prevalencia y gravedad del cuadro clínico en aquellos niños tuberculina positivos.<sup>7</sup>

Los resultados anteriores sugieren que el "fenotipo atópico" de un individuo lo predispone a tener respuestas diferentes ante inmunizaciones con respecto a individuos normales, o bien que la inmunización con determinados Ags que favorecen respuestas Th1, podría ejercer algún efecto protector contra enfermedades alérgicas.

En el presente estudio determinamos las diferencias entre las concentraciones séricas de Acs contra el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (anti-AgsHB), IgE total (IgE) y área de la prueba cutánea con el Ag vacunal, de la vacuna cubana contra la hepatitis B, Heberbiovac-HB, en niños asmáticos y no asmáticos. Se evaluó la influencia de la gravedad del cuadro clínico del asma sobre la respuesta inmune frente al Ag.

## MÉTODOS

Se estudiaron 103 niños asmáticos atendidos en el Hospital Pediátrico Docente "William Soler" y 37 no asmáticos procedentes de un área de salud del municipio Arroyo Naranjo, con edades entre 7 meses a 12 años, desde marzo del 2002 hasta enero del 2003, en la Ciudad de La Habana, Cuba. Todos los niños habían completado el esquema de vacunación contra el virus de la hepatitis B, con la vacuna cubana Heberbiovac-HB (20µg/mL). El esquema utilizado fue: 1ra. dosis al nacimiento, 2da. dosis 1 mes, 3ra. dosis 6 meses de edad, según el programa cubano de vacunación.

El grupo de niños asmáticos se clasificó de acuerdo con la gravedad del cuadro clínico y las pruebas funcionales respiratorias en:

- Leve intermitente: síntomas y signos de asma < 1 vez/semana; exacerbaciones leves; síntomas nocturnos < de 2 veces/mes; pruebas funcionales respiratorias: volumen

---

espiratorio forzado en 1 segundo (FEV1) o flujo espiratorio máximo (PEF) 80 %, variabilidad de FEV1 o PEF 20 %.

- Leve persistente: síntomas y signos de asma 1 vez/semana, pero no diarios; exacerbaciones que pueden limitar la actividad física y el sueño; síntomas nocturnos 2 veces/mes; FEV1 o PEF 80 %; variabilidad de FEV1 o PEF de 20-30 %.

- Moderada persistente: síntomas diarios; exacerbaciones que pueden limitar la actividad física y el sueño; síntomas nocturnos 1 vez/semana; FEV1 o PEF 60-80 %; variabilidad de FEV1 o PEF 30 %; uso de  $\beta$  miméticos diarios.

- Severa persistente: síntomas nocturnos frecuentes; limitación física continua; exacerbaciones frecuentes; FEV1 o PEF  $\leq$  60 %; variabilidad de FEV1 o PEF 30 %. La clasificación de la gravedad se basó en las recomendaciones del Comité de Expertos de la WHO/IAC.<sup>8</sup> Se excluyeron todos aquellos niños con antecedentes maternos de hepatitis B durante el embarazo.

En los niños no asmáticos se excluyeron aquellos que tuvieran antecedentes personales de: enfermedades atópicas, crónicas o del sistema inmune, infecciones agudas un mes antes del estudio y tratamiento inmunomodulador en el último año. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital "William Soler".

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción venosa antecubital. Se dejó retraer el coágulo y el suero obtenido se dispuso en alícuotas de 1,5 mL, que se conservaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta la realización de las determinaciones de las concentraciones de IgE y anti-AgsHB.

### **Ensayo para las determinaciones de anti-AgsHB e IgE**

Se realizó ELISA cuantitativo tipo *sandwich* de doble antígeno para la cuantificación de anti-AgsHB, UMELISA-AgsHB, que posee una sensibilidad de 10 UI por litro, según las normas del fabricante (*Kit* comercial, Centro de Inmunoensayo, Cuba). Los resultados se expresan en UI/L.

Se realizó un ensayo cuantitativo, ultramicroanalítico inmunoenzimático de captura, UMELISA-IgE, según las normas del fabricante (*Kit* comercial, Centro de Inmunoensayo, Cuba), para determinar las concentraciones de IgE total (UI/L). Este método detecta concentraciones superiores a 10 UI/L.

La solución para la prueba cutánea control (solución PCC) consistió en una mezcla de glicerol al 10 % más *buffer* fosfato salino (PBS), y para la prueba cutánea específica de hepatitis B (PCHB), se añadió a la solución PCC una concentración de 62,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , del antígeno de superficie de la hepatitis B, obtenido por tecnología de ADN recombinante, autorizado para su uso en humanos y que es el componente antigénico de la vacuna cubana Heberbiovac-HB, procedente del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB). La escarificación para la prueba cutánea (*Prick test*) se realizó con lanceta estéril, en la cara anterior del antebrazo izquierdo, y se aplicaron 20  $\mu\text{L}$  de las soluciones PCC y PCHB (1,25  $\mu\text{g}$  por aplicación), con una separación de  $\pm$  4 cm entre ambas. La respuesta se midió a las 48 horas, delimitando el infiltrado con un objeto de punta roma, y una vez precisado, se sombreó y transfirió a un papel. Se midió el área en milímetros cuadrados ( $\text{mm}^2$ ) en un equipo DIGIPAG (Easysoft, Cuba) de colimador redondo. Todas las soluciones fueron preparadas en el Laboratorio de Inmunología Celular del Instituto de Vacunas "Carlos J Finlay".

### **Análisis estadístico**

---

El análisis estadístico se realizó con la transformación logarítmica de los valores de anti-AgsHB e IgE para calcular la media geométrica de las concentraciones de ambos anticuerpos. Mediante el *test* de Kolmogorov-Smirnov se determinó el ajuste a la normalidad de las variables anti-AgsHB, IgE, PCC y PCHB antes de proceder al resto de los análisis. Se calcularon las medias de PCC, PCHB, anti-AgsHB e IgE total. Se compararon las medias PCC, PCHB, anti-AgsHB e IgE, mediante un análisis de covarianza (ANCOVA) estratificando la muestra en asmáticos y no asmáticos. Se controló como covariante, en el caso de los logaritmos de anti-AgsHB y de IgE, la variable tiempo transcurrido desde la culminación del esquema de vacunación (TCESq). En el caso de la PCHB, además de la variable anterior, se controló la PCC. En el de la IgE se removió la edad del niño. Se realizó ANCOVA en los niños asmáticos, para determinar diferencia entre medias según la gravedad del cuadro clínico para las variables anti-AgsHB, IgE, PCHB. Se realizó el *test* de Duncan *pos-hoc*, para determinar cuáles medias diferían entre sí. Se consideró significativa una probabilidad (p) menor de 0,05. Para el procesamiento de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 10.0 (Mcintosh ind.)

## RESULTADOS

En el grupo de niños asmáticos se encontró disminución de las áreas de PCC y PCHB, así como un incremento de las concentraciones de IgE con respecto a los niños no asmáticos. Estas diferencias fueron significativas para la PCC (166,5 vs. 233,6 mm<sup>2</sup>, p=0,0077) y la PCHB (1020,4 vs. 1318,15 mm<sup>2</sup>, p=0,0173). Las concentraciones de anti-AgsHB se comportaron de manera similar en ambos grupos (tabla1).

**Tabla 1.** Medias de anti-AgsHB, IgE y pruebas cutáneas (control y hepatitis).  
Resultados del ANOVA

Variabes	Asmáticos	No asmáticos	F	P
Anti-AgsHB	74,574	75,539	0,16	0,691
IgE	129,61	96,226	2,01	0,159
PCC	166,5	233,649	7,32	0,0077 (**)
PCHB	1020,395	1318,149	5,81	0,0173 (*)

Anti-AgsHB: anticuerpo anti-antígeno de superficie del virus de la hepatitis B; PCC: área de la prueba cutánea control; PCHB: área de la prueba cutánea de antígeno de hepatitis B.

En los niños con cuadro clínico moderado persistente y severo persistente, con respecto a los clasificados con asma leve intermitente y leve persistente, se observó un incremento significativo de las concentraciones de IgE (131,22, 173,38 vs. 71,78, 74,21; p=0,0209) y disminución del área de PCHB (813,256, 869,486 vs. 1254,753, 1152,606; p=0,0071). No se observaron diferencias en las concentraciones de anti-AgsHB entre los grupos estudiados (tabla 2).

**Tabla 2.** Relación entre la gravedad del cuadro clínico de asma bronquial y las medias de las áreas de la prueba cutánea hepatitis (PCHB), IgE y anti-AgsHB

Gravedad	Media PCHB	F	p	Media IgE	F	p	Medias anti-AgsHB	F	p
Leve intermitente	1254,753	4,26	0,0071 (**)	71,78	3,3968	0,0209 (*)	52,40	0,792	0,5011
Leve persistente	1152,606			74,21			53,06		
Moderada persistente	813,256			131,22			98,22		
Severa persistente	869,486			173,38			195,27		

Sin síntomas: sin síntomas ni signos de asma en el último año antes de iniciar el estudio; leve intermitente: síntomas y signos de asma < 1 vez/ semana, síntomas nocturnos <2 veces/mes; moderada persistente: síntomas nocturnos >1 vez/ semana, uso de β miméticos diarios; severa persistente: síntomas nocturnos frecuentes, limitación física continua.

## DISCUSIÓN

En los últimos años se han realizado varios estudios dirigidos a dilucidar el papel que desempeñan las inmunizaciones, promoviendo o contrarrestando la tendencia al incremento de la prevalencia de las enfermedades atópicas y de los fenómenos de formación de IgE. En este contexto, se han obtenido resultados controvertidos entre diferentes investigadores.

Se ha descrito un probable papel protector de la vacunación con BCG y la aparición de asma. *Shirakawa* y col., en un estudio realizado en Japón, encontraron la existencia de asociación inversa entre la respuesta cutánea a la tuberculina y concentraciones séricas de IgE total y específica, secreción de citocinas Th2 y síntomas atópicos,<sup>7</sup> de lo que se derivó que una respuesta positiva a la tuberculina es capaz de predecir una menor incidencia de asma.

En este sentido, en un estudio multicéntrico en diferentes ciudades de España, se encontró que la vacunación con BCG ofrecía una discreta protección en la aparición de asma,<sup>9</sup> lo que coincidió con estudios realizados en niños africanos.<sup>10</sup> Sin embargo, otros autores no han encontrado el papel protector de la vacunación con BCG y aparición de síntomas de la enfermedad,<sup>11-13</sup> y tampoco asociación entre el diámetro de la prueba cutánea de hipersensibilidad retardada al *Mycobacterium tuberculosis* y la atopía.<sup>14,15</sup>

En un estudio en 5 ciudades alemanas con una muestra de 1 381 niños inmunizados con vacunas de compuestos proteicos solamente (toxide tetánico y diftérico, DT), se reportó que estas favorecían significativamente la formación de IgE total y específica contra tétanos y difteria, así como de IgG4 específica; ambos anticuerpos son representativos de patrón de respuesta inmune Th2, comparados con niños vacunados con DPT (vacuna de toxide

tetánico y diftérico, asociado con el microorganismo completo muerto de *Bordetella pertussis*).<sup>3</sup>

Coincidentemente con algunos resultados descritos en la literatura<sup>7,9,10</sup> y en desacuerdo con otros,<sup>11-13,16</sup> en el presente estudio se encontró una significativa disminución de la respuesta de hipersensibilidad cutánea retardada para el antígeno de la hepatitis B (PCHB) en asmáticos, con respecto a niños no asmáticos. Este comportamiento pudiera ser el reflejo del desbalance de la respuesta inmune en el atópico frente a retos antigénicos y su tendencia a la secreción de citocinas Th2,<sup>14-19</sup> con disminución de la secreción de INF- $\gamma$ , principal mediador de la respuesta inmunitaria celular.<sup>7,19,20</sup> Este desequilibrio en la proporción Th1/ Th2, no fue corroborado con la medición de citocinas representativas de cada patrón, lo que nos impide dar conclusiones en este sentido. Basándonos en los resultados de las pruebas cutáneas y la literatura relacionada, podemos decir que esta pudiera ser la causa del comportamiento en nuestros niños. No encontramos resultados reportados que describan, en individuos atópicos, el comportamiento del diámetro o área de una prueba cutánea de hipersensibilidad retardada contra el antígeno de la hepatitis B.

Las concentraciones de IgE total fueron mayores en niños asmáticos, aunque sin significación estadística. La ausencia de significación podría estar en concordancia con la terapéutica empleada en los asmáticos o debido a que las infestaciones parasitarias todavía constituyen un problema de salud en nuestra población infantil.<sup>21</sup> También estos resultados pueden estar condicionados por la exigüidad de la muestra. Otros autores han encontrado que la administración de algunas vacunas a individuos asmáticos, inducen un aumento significativo de las concentraciones de IgE total y específica.<sup>6,7,22</sup>

Al comparar los resultados para la PCC en ambos grupos, resulta curioso que el comportamiento fue similar a la PCHB; a diferencia de lo reportado por los productores de *Prick test* comerciales<sup>23-26</sup> para pruebas cutáneas retardadas; se encontraron diferencias significativas entre asmáticos y no asmáticos. Una probable explicación pudiera ser que el glicerol, sustancia de amplio uso en la vida moderna, se comporta como un Ag ya conocido, ya que la prueba cutánea evalúa la capacidad de memoria y respuesta del sistema inmune. Otro hecho que pudiera relacionarse con este comportamiento, es que el *Prick test* comercial, no rompe las barreras naturales (epidermis), mientras que nosotros realizamos escarificación de la piel, por lo que la puesta en contacto del sistema inmune con el antígeno (glicerol) es mucho más eficiente, donde se activan sistemas inespecíficos de defensa, que coadyuvan con las citocinas liberadas, al reclutamiento y activación de clones de células T específicas.

Al analizar la influencia de la gravedad del cuadro clínico sobre nuestras variables, observamos que los niños clasificados con asma moderada y severa, tenían mayores concentraciones séricas de IgE total y menor área de prueba cutánea, de manera significativa, comparados con los no asmáticos. Esto pudiera reflejar que mientras más intensa es la afectación mayor es la desviación de la respuesta a un patrón Th2, con la inhibición sucesiva de la secreción de citocinas Th1.<sup>7,27</sup> Nuestros resultados coinciden con lo encontrado por varios estudios, que analizan la respuesta de niños asmáticos a diferentes tipos de vacunas. En estos se encontró asociación inversa entre la gravedad de los síntomas de asma y respuesta de hipersensibilidad cutánea retardada, así como incremento de las concentraciones séricas de IgE,<sup>7,10-13</sup> a pesar de no encontrar el papel protector de estimuladores de respuestas Th1, como el BCG.<sup>10-12</sup>

Concluyendo, en nuestro trabajo encontramos que los niños asmáticos tuvieron menor magnitud en la repuesta cutánea retardada al compuesto antigénico vacunal contra la hepatitis B, comparados con niños no asmáticos. La severidad del cuadro clínico se relacionó inversamente con la capacidad de respuesta cutánea y directamente con las concentraciones séricas de IgE total, lo que sugiere que niños con "fenotipo alérgico", presentan un comportamiento diferente frente a la vacuna cubana *Hebervibac HB*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ramsey DC, Celedón JC. The hygiene hypothesis and asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2004;11:14-20.
2. Fabr  DE, Cabrera JF, Armas L, González E. Asthma mortality in Cuba during 1972-1993. *Allergol Immunopathol* 1997;25:289-92.
3. Gruber Ch, Lau S, Dannemann A, Sommerfeld Ch, Wahn U, Aalberse RC. Down-regulation of IgE and IgG4 antibodies to Tetanus Toxoid and Diphtheria Toxoid by covaccination with cellular Bordetella pertussis vaccine. *J Immunol* 2001;167:2411-7.
4. Braback L, Breborowicz A, Julge K, Knutsson A, Riikjarv MA, Vasar M, et al. Risk factors for respiratory symptoms and atopic sensitization in the Baltic area. *Arch Dis Child* 1995;72:487-93.
5. Strachan DP. Family size, infection and atopy: the first decade of "the hygiene hypothesis". *Thorax* 2000;55:22-10.
6. Alerm A, González Griego A, Ramírez Albaj z V, Martínez Pérez M, Sosa Rodríguez S, Dacourt Flores A. Respuesta post-vacunal y persistencia de anticuerpos contra el virus de la Hepatitis B en niños asmáticos y no asmáticos vacunados con Heberbiovac-HB. *Rev Cubana Invest Biomed* 2000;19:72-81.
7. Shirakawa T, Enamoto T, Shimazu SJ, Hopkin JM. The inverse association between tuberculin response and atopic disorders. *Science* 1997;275:77-9.
8. WHO/NCD/CRA. Informal consultation on the asthma guidelines. Implementation Project. WHO/IAC. Toronto, Canada; 1998. Report.
9. García-Marcos L, Suárez-Varela MM, Canflanca IM, Garrido JB, Quiros AB, López-Silvarrey Varela A, et al. BCG immunization at birth and atopic diseases in a homogeneous population of Spanish schoolchildren. *Int Arch Allergy Immunol* 2005;137:303-9.
10. Aaby P, Shaheen SO, Heyes CB, Goudiaby A, Hall AJ, Shiell AW, et al. Early BCG vaccination and reduction in atopy in Guinea-Bissau. *Clin Exp Allergy* 2000;30:644-50.
11. Strannegard IL, Larsson LO, Wennergren G, Strannegard O. Prevalence of allergy in children in relation to prior BCG vaccination and infection with atypical mycobacteria. *Allergy* 1999;54:285-6.
12. Von Hertzen L, Klaukka T, Mattila H. Mycobacterium tuberculosis infection and subsequent development of asthma and allergy conditions. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:1211-4.
13. Annus T, Montgomery SM, Riikjav MA, Bjorksten B. Atopic disorders among Estonian schoolchildren in relation to tuberculin reactivity and the age at BCG. *Allergy* 2004;59:1068-73.
14. Nuhoglu Y, Nuhoglu C, Ozcay S. The association between delayed type hypersensitivity reaction to Mycobacterium tuberculosis and atopy in asthmatic children. *Allergol Immunopathol* 2003;31:14 -7.

15. Ma Y, Li XF, Zhao J, Wong GW, Zhou CS, Chen YZ. Relationships between the diameters of Bacille Calmette-Guerin scars and asthma, atopy in urban and rural Beijing children. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2003;26:526-30.
16. Krause TG, Hviid A, Koch A, Friborg J, Hjuler T. BCG vaccination and risk of atopy. *JAMA* 2003;26:1012-5.
17. Smart JM, Kemp AS. Increased Th1 and Th2 allergen-induced cytokine responses in children with atopic disease. *Clin Exp Allergy* 2002;32:796-802.
18. Heaton T, Rowe J, Turner S, Aalberse RC, de Klerk N, Suriyaarachchi D, et al. An immunoepidemiological approach to asthma: identification of in-vitro T-cell response patterns associated with different wheezing phenotypes in children. *Lancet* 2005; 365:142-9.
19. Renz H, Herz U. The bidirectional capacity of bacterial antigens to modulate allergy and asthma. *Eur Respir J* 2002;19:158-71.
20. Karp M. IL-12/ IL-13 axis in allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:9-18.
21. Núñez FA, González OM, Bravo JR, Escobedo AA, González I. Intestinal parasitosis in children admitted to the Pediatric Teaching Hospital of Cerro, Havana City, Cuba. *Rev Cubana Med Trop* 2003;55:19-26.
22. Rowe J, Yerkovich ST, Richmond P, Suriyaarachchi D, Fisher E, Feddema L, Loh R, Sly PD, Holt PG. Th2- associated local reactions to the acellular Diphtheria-Tetanus-Pertussis vaccine in 4- to 6- year-old children. *Infect Immunol* 2005;73:8130-5.
23. García Sabrido JL. Multitest: un nuevo método de multipuntura instantánea para estudio de la inmunidad "in vivo". Informe preliminar: respuesta en individuos sanos. *Cir Esp* 1983;37:39-43.
24. Lesourd B, Winters WD. Specific immune responses to skin test antigens following repeated multiple antigen skin test in normal individuals. *Clin Exp Immunol* 1982; 50:635-43.
25. Adami G, Vitale B, Bach V. Delayed hypersensitivity serial evaluation by means of a multitest system. *IRCS Med Science* 1981;9:1132.
26. Christon NV, Broadhead M, Mearkins JL. A comparison of two techniques of intradermal injections of the skin test antigens for the assessment of host resistance. XVIII<sup>th</sup> Congress of European Society for Surgical Research 1983;74:5.
27. Colavita AM, Reinach AJ, Peters SP. The pathobiology of asthma: Implications for treatment. *Clin Chest Medicine* 2000;21:2.

Recibido: 3 de marzo de 2008.

Aprobado: 14 de mayo de 2008.

Dra. *Leticia Caridad Sosa González*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800, Ciudad de La Habana, Cuba. Tel (537) 643 8268, 643 8695. Fax (537) 644 2334. e-mail: [ihidir@hemato.sld.cu](mailto:ihidir@hemato.sld.cu)