

ACTAS Derma-Sifiliográficas

Full English text available at
www.elsevier.es/ad



ORIGINAL

Patrón de sensibilización por contacto a parafenilendiamina y su detección en tintes capilares

J.M. Fernández-Vozmediano*, M. Padilla-Moreno, J.C. Armario-Hita y C. Carranza-Romero

Servicio de Dermatología, Hospital Universitario de Puerto Real, Universidad de Cádiz, Cádiz, España

Recibido el 25 de marzo de 2010; aceptado el 31 de marzo de 2010

Accesible en línea el 18 de febrero de 2011

PALABRAS CLAVE

Parafenilendiamina;
Detección de
alérgenos;
Tintes capilares

Resumen

Introducción: Uno de los retos más difíciles en el campo de la Dermatología laboral es la identificación de las sustancias químicas con las que trabaja el enfermo para poder determinar su capacidad alérgica. Se han descrito múltiples técnicas para poder identificar las distintas sustancias alérgicas contenidas en la composición de las sustancias que maneja el enfermo. Estas pruebas de detección de alérgenos deben ser sensibles, específicas y seguras. Presentamos un estudio experimental cuyo objetivo es detectar la presencia de parafenilendiamina en tintes capilares comercializados en nuestro país.

Material y métodos: Hemos realizado un estudio experimental con el fin de realizar una detección cualitativa y semicuantitativa de parafenilendiamina en tintes capilares comercializados en nuestro país. Como técnica cualitativa utilizamos la técnica de identificación descrita consistente en la dilución del tinte con alcohol isopropílico y con posterioridad se añade la solución reactiva (1 g de vainilla en 15 ml de alcohol isopropílico y 7,5 ml de ácido clorhídrico). Esta prueba da una respuesta colorimétrica que indica la presencia o no del alérgeno en el tinte capilar. Con posterioridad hemos procedido a realizar un estudio cualitativo mediante la extracción del colorante con etanol 96°, seguido de una cromatografía en capa fina monodimensional.

Resultados: Se estudiaron un total de 15 tintes de color castaño o moreno y 12 tintes de color rubio. Este estudio nos permitió identificar la PPD en todos los tintes capilares morenos estudiados, con independencia de que su presencia estuviera indicada (n=12) o no (n=3) en la composición del tinte. Comprobamos la presencia de PPD en 6 de los 9 tintes rubios que indicaban la presencia de PPD en su composición y en 2 de los 3 que no la indicaban. La valoración semicuantitativa mediante cromatografía de capa fina nos permitió confirmar que la concentración de PPD utilizada en los tintes capilares de color moreno era superior (media del 3%) a la de los tintes rubios (media del 0,1-0,3%).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: fdezvozmediano@dermasur.com (J.M. Fernández-Vozmediano).

KEYWORDS

Paraphenylenediamine;
Allergen detection;
Hair dyes

Conclusión: La presencia de PPD en tintes capilares está en relación con la coloración del tinte, siendo constante en los de color oscuro y de intensidad baja en los rubios. Este estudio pone de manifiesto la importancia clínica y epidemiológica que tiene la identificación de alérgenos en la Dermatología, y de forma más concreta, en el campo de la Dermatología laboral.
© 2010 Elsevier España, S.L. y AEDV. Todos los derechos reservados.

Pattern of Contact Sensitization to Paraphenylenediamine and its Detection in Hair Dyes**Abstract**

Background: One of the greatest challenges in occupational dermatology is the identification of chemical substances used by patients in their work in order to determine their allergenic potential. Numerous techniques have been described for the identification of allergenic compounds. These tests must be sensitive, specific, and safe. We describe a study to detect the presence of paraphenylenediamine (PPD) in hair dyes that are commercially available in Spain. **Material and methods:** We undertook an experimental study involving qualitative and semi-quantitative detection of PPD in hair dyes sold in Spain. The qualitative technique we used was a previously described colorimetric method involving dilution of the dye with isopropyl alcohol followed by addition of a reagent solution (1 g of vanilla in 15 ml of isopropyl alcohol and 7.5 ml of hydrochloric acid). A quantitative study was then done in which the dye was extracted in 96% ethanol and subjected to 1-dimensional thin-layer chromatography.

Results: A total of 15 brown and 12 blonde dyes were analyzed. PPD was identified in all of the brown dyes analyzed, irrespective of whether it was indicated (n = 12) or not (n = 3) in the composition. PPD was found in 6 of the 9 blonde dyes that indicated it in the composition and 2 of the 3 in which it was not indicated. Semiquantitative analysis by thin-layer chromatography revealed that the concentration of PPD in brown hair dyes (mean, 3%) was higher than in blonde dyes (mean, 0.1-0.3%).

Conclusions: The presence of PPD in hair dyes is related to the color of the dye. It is consistently present in darker dyes and at low levels in blonde dyes. This study highlights the clinical and epidemiological importance of identifying allergens in dermatology, particularly in occupational dermatology.

© 2010 Elsevier España, S.L. and AEDV. All rights reserved.

Introducción

La parafenilendiamina (PPD) es un agente que posee una elevada capacidad para crear sensibilización por contacto. Se utiliza como ingrediente de los colorantes de los tintes capilares y textiles, de gomas, lacas, pieles, sombra de ojos y betunes, entre otras utilidades. También se ha empleado como antioxidante de plásticos, de tinta de impresión, de máquinas de fax, de productos de fotografía, de líquidos para películas de rayos X y en litografía¹. En el caso concreto de la peluquería la PPD es el principal sensibilizante de contacto, seguido por sus derivados para-aminodifenilamina (PAD), o-nitro-p-fenilendiamina (ONPPD) y paratoluendiamina (PTD). La sensibilización a derivados de la PPD puede estar justificada por la posibilidad de desarrollo de reacciones cruzadas entre ellos². Debido a la gran frecuencia de sensibilizaciones, y con el fin de establecer su relevancia, se han diseñado diferentes métodos para la identificación de la presencia de PPD, teniendo presente que las técnicas de detección de alérgenos deben ser sensibles, específicas y seguras.

Presentamos un estudio cuyo objetivo era establecer la frecuencia de reacciones positivas a PPD, su relevancia y definir las características de los pacientes con riesgo de

sensibilización activa. Con posterioridad presentamos los resultados de un estudio cualitativo y semicuantitativo sobre la presencia de PPD en tintes capilares.

Material y método**Fase 1. Estudio epidemiológico**

Se realizó un estudio epidemiológico retrospectivo de 10 años. Durante este período se realizaron pruebas epicutáneas con la batería estándar del Grupo Español de Investigación en Dermatitis de Contacto (GEIDC) (tabla 1) a un total de 1.878 pacientes que acudieron a las consultas de la Unidad de Alergia Cutánea del Servicio de Dermatología del Hospital Universitario de Puerto Real, por presentar sospecha de dermatitis alérgica de contacto. Se utilizaron alérgenos de Chemotechnique® aplicados en Finn Chamber®. Las lecturas se llevaron a cabo a las 48 y 96 horas.

Fase 2. Detección de parafenilendiamina en tintes capilares

Hemos llevado a cabo un estudio experimental con el objetivo de realizar una detección cualitativa y semicuantitativa

Tabla 1 Alérgenos incluidos en la batería estándar

Alcoholes de lana 30%
Bálsamo de Perú 25%
Mezcla cainas 7%
Mezcla carbamatos 3%
Cloruro de cobalto 1%
Colofonio 20%
Dicromato potásico 0,5%
Resina epoxi 1%
Etilendiamina 1%
Formaldehido 1%
Mezcla fragancias 8%
Katon CG 0,02%
Mezcla mercapto 1%
Mercaptobezotiazol 2%
Mercurio 0,5%
Sulfato de neomicina 20%
Sulfato de níquel 5%
Dicloruro de paladio 1%
Mezcla de parabenos 16%
p-fenilendiamina 1%
Mezcla p-fenilendiamina 1%
Resina p-tercbutilfenol-formaldehido (PTBP) 1%
Cuaternium-15 1%
Mezcla de quinolina 16%
Tiomersal 0,6%
Mezcla tiuranes 1%

de PPD en los tintes capilares comercializados en nuestro país. Para ello utilizamos un total de 27 tintes capilares (15 de color moreno y 12 de color rubio), de los cuales se indicaba en el prospecto de empleo la presencia de PPD en su composición en 12 de los 15 morenos y en 9 de los 12 rubios, siendo 26 de los más usados por el público en general, que se encuentran con facilidad en grandes superficies y uno cuya publicidad informa de su dispensación en Farmacias, como reclamo de calidad e inocuidad (tabla 2).

Método cualitativo

Hemos utilizado la técnica colorimétrica de detección de PPD. En primer lugar se procede a la dilución del tinte problema con alcohol isopropílico en proporción 1:1 (v/v) y a la preparación se le añade una solución reactiva formada por 1 g de vainilla en 15 ml de alcohol isopropílico, y poco antes del análisis se añaden 7,5 ml de ácido clorhídrico concentrado. La solución control se prepara con 0,5 g de PPD o de sus sales y 10 ml de NH_4OH . Para mayor seguridad se puede preparar una solución de PPD, que se somete al mismo tratamiento y se usa como control para comparar la tonalidad obtenida con la que se observa en la solución problema. A continuación se diluye la muestra problema con alcohol isopropílico en proporción 1:1 (v/v), se coloca una gota de la dilución del tinte problema así preparada sobre un papel de filtro, se espera un minuto y se añade una gota de la solución reactiva (fig. 1). La respuesta positiva consiste en la aparición de un color rojo-ladrillo característico de la presencia de PPD (fig. 2).

Tabla 2 Relación de tintes incluidos en el estudio experimental de detección de parafenilendiamina

Morenos	Rubios
1M – G. Belle Color	1R – G. Belle Color
2M – L. Recital	2R – L. Recital
3M – LL. Color Advance	3R – LL. Color Advance
4M – C. Rojo Fuego	4R – N. Rubio
5M – JFM. Negro	5R – JFM Castaño
6M – F. Negro	6R – F. Rubio
7M – N. Negro	7R – C. Eugene perma
8M – G. Ilumia	8R – G. Nutrisse
9M – L. Casting	9R – L. Excellence
10M – LL. Baño de color	
11M – G. Nutrisse	
12M – L. Excellence	
13M – C. Eugene perma	
No indican PPD	
1M – S. Country	1R – G. Ilumia
2M – W. Kolestin	2R – W. Kolestin
3M – S. Brillance	3R – S. Brillance

Método semicuantitativo

Con posterioridad hemos procedido a realizar un estudio semicuantitativo mediante la extracción del colorante con etanol 96°, seguido de una identificación por cromatografía en capa fina monodimensional. Para ello se introducen en un tubo de centrifugar 300 mg de ácido ascórbico, 3 g de la crema o del líquido problema homogeneizado, se produce un cambio de color, así como varias concentraciones de PPD que se utilizarán de control, unas gotas de amoniaco y etanol 96° hasta completar 10 ml. Este tubo se tapa y se centrifuga a 4.000 rpm durante 10 minutos. Se obtiene la separación en dos fases.

A continuación se utiliza una placa de cromatografía de sílice en la que deposita 1 μl de cada solución problema que se toma del sobrenadante en varios puntos de partida y de cada una de las concentraciones de PPD utilizadas como control. La placa de sílice se introduce en una cubeta saturada con el disolvente adecuado (acetona-cloroformo-tolueno a

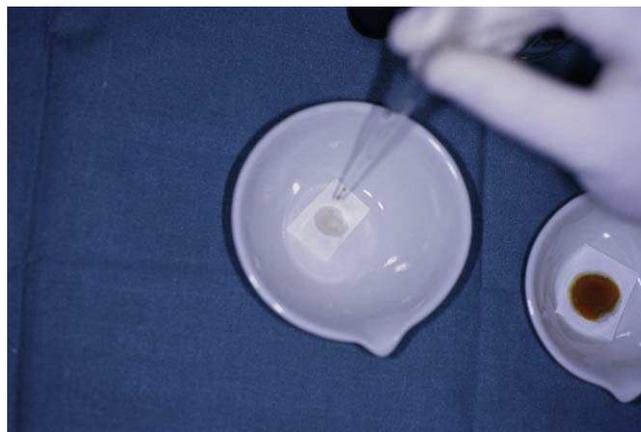
**Figura 1** Método cualitativo. Adición de la solución reactiva a la solución problema.



Figura 2 Método cualitativo. Resultado de la solución problema y comparación con el control.

35-25-40) y se deja desarrollar a temperatura ambiente en oscuridad hasta que el frente de disolvente haya recorrido unos 15 cm. Por último, se saca la placa, se seca y se pulveriza con un revelador.

La identificación y cuantificación se realiza por comparación entre los valores de referencia y las coloraciones obtenidas para la muestra con la de las sustancias de referencia depositadas. En la determinación semicuantitativa se compara de manera visual la intensidad de la sustancia de la imagen cromatográfica, identificada con una gama patrón de concentración conocida de la sustancia de referencia con la imagen de las soluciones a diferente concentración de los productos de referencia.

Resultados

Estudio epidemiológico

De los 1.878 pacientes testados el 60,96% (1.145) presentaron al menos una respuesta positiva. De ellos 50 (4,36%) mostraron positividad para PPD, entre los cuales encontramos relevancia positiva en el 66% (33 casos). Este grupo estaba formado por 38 mujeres (76%) y 12 hombres (24%). La edad variaba entre 17 y 81 años, con una media de $38,75 \pm 4,48$ años (IC 95%). Las localizaciones más frecuente de las lesiones fueron las manos (56%), seguida a distancia por la difusa (21%) y el cuero cabelludo (13%). La alta frecuencia de lesiones localizadas en el cuero cabelludo puede estar relacionada con la utilización de tintes capilares que contengan PPD. Los alérgenos que presentaron pruebas positivas con mayor frecuencia en el grupo de pacientes con prueba positiva a PPD fueron: sulfato de níquel (24%), cloruro de cobalto (9%), mezcla de caínas (9%) y dicloruro de paladio (8%), de forma similar a lo que se ha descrito en la población general. Es llamativa la alta frecuencia de prueba positiva asociada a bálsamo del Perú (7%) y mezcla de fragancias (7%). La mayor parte de los pacientes estudiados eran amas de casa (44%). Las actividades laborales más importantes fueron peluquería (14%) y hostelería (12%). Hemos encontrado una asociación con significación estadística entre la prueba positiva a PPD y la actividad laboral relacionada con la peluquería ($p < 0,01$; OR: 8,49 con IC 95%: $3,60 < OR < 19,97$).



Figura 3 Resultados del método cualitativo de detección de PPD.

Estudio experimental

Se estudiaron un total de 15 tintes de color castaño o moreno y 12 tintes de color rubio. Este estudio nos permitió identificar la PPD en todos los tintes capilares morenos estudiados, con independencia de que su presencia estuviera indicada (en 12) o no (en 3) en la composición del tinte. Comprobamos la presencia de PPD en 6 de los 9 tintes rubios que indicaban la presencia de PPD en su composición y en 2 de los 3 que no la indicaban (fig. 3). La valoración semicuantitativa mediante cromatografía de capa fina nos permitió confirmar que la concentración de PPD utilizada en los tintes capilares de color moreno era superior (0,5-3%) a la de los tintes rubios (0,1-1%) (fig. 4).

Discusión

La PPD es un compuesto levemente coloreado que actúa como un intermediario primario en los tintes capilares. Se oxida por el peróxido de hidrógeno y se polimeriza con el

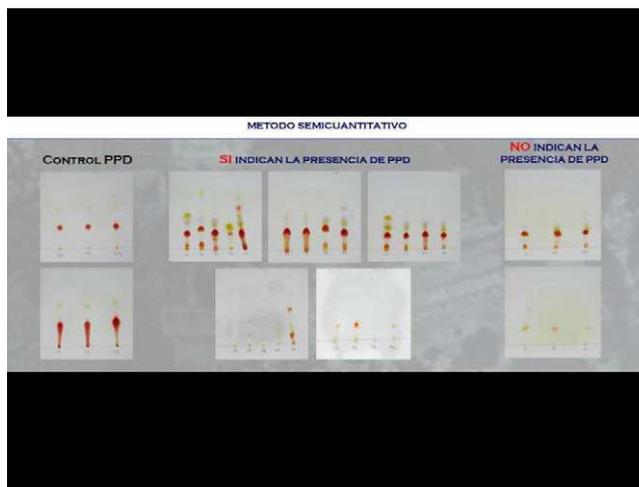


Figura 4 Resultados del método semicuantitativo de detección de PPD.

aire. La PPD sigue siendo un agente sensibilizante frecuente y relevante. Aunque durante los años 1985 y 1988 se observó una disminución de su frecuencia, estos datos se debían a los falsos negativos debidos al uso en los trot epicutáneos de dihidrocloruro de PPD al 0,5% en vaselina³. Una vez reemplazada de nuevo por PPD base al 1% en vaselina los índices de positividad a PPD se sitúan alrededor del 3,2%⁴, aunque en un trabajo reciente del Grupo Norteamericano de Dermatitis de Contacto se sitúa en el 6,8%⁵, y en otros países llega al 11,5%⁶. En nuestra serie el 4,36% de los pacientes con una respuesta positiva mostraban positividad a PPD. Hay que tener en cuenta que se ha descrito un mayor número de positividades a PPD en las pruebas epicutáneas cuando se utiliza Finn Chamber® frente a True TEST®⁷. Con menor frecuencia se ha descrito urticaria de contacto⁸, leucoderma de contacto⁹ y erupciones liquenoides¹⁰ por PPD.

La mayor parte de las sensibilizaciones a PPD se producen por el contacto con tintes capilares, tanto en profesionales de la peluquería como en usuarios, hecho que hemos comprobado en nuestro estudio. En un estudio para valorar la frecuencia de positividades a PPD y a sus derivados se ha observado que el 45,4% de 66 peluqueros estaban sensibilizados a la PPD. El índice de sensibilización a derivados de la PPD es bastante inferior y se sitúa en el 7,2% a PTD, 4,5% a PAD y 3% a ONPPD¹¹. En la actualidad existe comercializada una formulación en espuma con agentes colorantes (Arianor dyes, Williams Co., United Kingdom) que no ha demostrado hasta el momento reacción cruzada con PPD¹². La sensibilización profesional por contacto en la peluquería también puede estar producida por sulfato de níquel, sustancias conservantes (metilisotiazolinona, formaldehído), agentes de superficie (cocamido-propilbetaína, proteínas animales hidrolizadas) e ingredientes de los perfumes¹³.

En el caso de los peluqueros la sensibilización se produce en épocas precoces de su actividad profesional, y en la mayor parte de los casos obliga a abandonar la profesión. Como factores favorecedores se han descrito la existencia de una dermatitis irritativa de manos previa por detergentes, lociones y humedad. De hecho, la dermatosis profesional más frecuente entre los profesionales de la peluquería es la dermatitis irritativa¹⁴. Por otro lado, los estilistas o técnicos en tintes capilares muestran una menor proporción de sensibilizaciones a tintes capilares, tal vez por una irritación cutánea menos significativa al no realizar otros trabajos como el lavado del cabello¹⁵. La dermatitis atópica no actúa como un claro factor favorecedor de la sensibilización, y bajo las mismas condiciones de exposición la sensibilización a PPD es similar en pacientes atópicos o no atópicos¹⁶.

Existen pocos trabajos relacionados con la detección de PPD en tintes capilares, y la mayor parte de ellos se basan en la utilización de complejos sistemas de detección cuantitativa basados en cromatografía líquida¹⁷ o en cromatografía de gases y espectrometría de masas¹⁸. También existen publicaciones sobre detección de PPD en fluidos biológicos mediante un análisis iónico, aunque estos sistemas tienen una aplicación más limitada al campo de la medicina forense¹⁹. En nuestra experiencia los métodos cualitativos y cuantitativos basados en la cromatografía líquida en capa fina que hemos presentado en nuestro trabajo son sencillos y fáciles de aplicar en la práctica diaria, permitiendo resultados útiles para establecer la relevancia de las pruebas epicutáneas²⁰.

Con ellos hemos podido demostrar la presencia de PPD en tintes capilares, que está en relación con la intensidad de la coloración del tinte. Es una constante en los de color oscuro y su presencia es mucho más escasa en los de color rubio. No en todos los tintes se indica en el envase la presencia de PPD, pero hemos demostrado su presencia en todos los tintes de color oscuro y a menor concentración en algunos de los de color rubio. En nuestro estudio sobre los tintes capilares de color rubio se ha identificado la presencia de PPD en un tinte que no indica su presencia (Wella®) y en dos que sí lo indican (Color Cream® y Just for Men Castaño®).

Conclusiones

La PPD sigue siendo un agente sensibilizante frecuente en nuestro medio, por lo que es fundamental seguir manteniéndolo en la batería estándar. El paciente prototipo es una mujer con eczema de manos, trabajadora o cliente frecuente de las peluquerías, que se sensibiliza por el contacto con tintes capilares. En nuestro caso hemos encontrado una relación estadísticamente significativa ($p < 0,01$; OR: 8,49 con IC 95%: 3,60 < OR < 19,97).

Este estudio revela la importancia clínica y epidemiológica que tiene la identificación de alérgenos en la Dermatología y, de forma más concreta, en el campo de la Dermatología laboral. Por último, es necesario el establecimiento de normativas internacionales que regulen de forma estricta la información suministrada en los productos cosméticos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Liden C, Brehmer-Andersson E. Occupational dermatoses from colour developing agents. *Acta Derm Venereol.* 1988;68:514–22.
2. MacKie BS, Mackie LE. Cross sensitization in dermatitis due to hair dyes. *Aust J Dermatol.* 1964;7:189.
3. Doms-Goosens A, Scheper RJ, Andersen KE. Comparative patch testing with PPD-base and PPD-dihydrochloride: human and animal data compiled by the European Environmental and Contact Dermatitis Research Group. En: Frosch PJ, Doms-Goosens A, Lachappelle JM., Rycroft RJG, Sheper RJ, editors. *Current topics in contact dermatitis.* Berlin: Springer; 1989. p. 281–5.
4. Armstrong DKB, Jones AB, Smith HR, Ross JS, White IR, Rycroft RJG, et al. Occupational sensitization to p-phenylenediamine: a 17-year review. *Contact Dermatitis.* 1999;41:348–9.
5. Marks JG, Belsito DV, DeLeo VA, Fowler JF, Fransway AF, Maibach HI, et al. North American Contact Dermatitis Group patch test results for the detection of delayed-type hypersensitivity to topical allergens. *J Am Acad Dermatol.* 1998;38:911–8.
6. Sharma VK, Chakrabarti A. Common contact sensitizers in Chandigarh, India. A study of 200 patients with the European standard series. *Contact Dermatitis.* 1998;38:127–31.
7. Goh CL. Comparative study of TRUE test and Finn Chamber patch test techniques in Singapore. *Contact Dermatitis.* 1992;27:84–9.

8. Edwards EK, Edwards EK. Contact urticaria and allergic contact dermatitis caused by paraphenylenediamine. *Cutis*. 1984;34:87–8.
9. Taylor JS, Maibach HI, Fisher A, Bergfeld WF. Contact leukoderma associated with the use of hair colors. *Cutis*. 1993;52:273–80.
10. Sharma VK, Mandal SK, Sethuraman G, Bakshi NA. Paraphenylenediamine-induced lichenoid eruptions. *Contact Dermatitis*. 1999;41:40–1.
11. Lynde CW, Mitchell JC. Patch test results in 66 hairdressers 1973-1981. *Contact Dermatitis*. 1982;8:302–7.
12. Maibach HI. Paraphenylenediamine-free hair coloring mousse. *Contact Dermatitis*. 1986;15:103.
13. Frosch PJ, Burrows D, Camarasa JG, Doooms-Goossens A, Ducombs G, Lahti A, et al. Allergic reactions to a hairdressers' series: results from 9 European centres. *Contact Dermatitis*. 1993;28:180–3.
14. Borelli S, Moormann J, Dungenmann H, Manok M. Ergebnisse einer uierjährigen Untersuchungsreihe bei Berufsanfängern des Friseurgewerbes. *Berufsdermatosen*. 1965;13:216–38.
15. Nethercott JR, MacPherson M, Choi BCK, Nixon P. Contact dermatitis in hairdressers. *Contact Dermatitis*. 1986;14:73–9.
16. Sutthipisal N, McFadden JP, Cronin E. Sensitization in atopic and non-atopic hairdressers with hand eczema. *Contact Dermatitis*. 1993;29:206–9.
17. Andrisano V, Cavrini V, Summer P, Passuti S. Determination of impurities in oxidation hair dyes as raw materials by liquid chromatography (HPLC). *Int J Cosmet Sci*. 1995;17:53–60.
18. Di Gioia ML, Leggio A, Le Pera A, Liguori A, Napoli A, Perri F, et al. Determination by gas chromatography/mass spectrometry of p-phenylenediamine in hair dyes after conversion to an imine derivative. *J Chromatogr A*. 2005;25:143–8.
19. Stambouli A, Bellimam MA, El Karni N, Bouayoun T, El Bouri A. Optimization of an analytical method for detecting paraphenylenediamine (PPD) by GC/MS-iontrap in biological liquids. *Forensic Sci Int*. 2004;146:587–92.
20. Koh D, Tan C, Ng SK, Tan BT, Leow YH, Goh CL. Screening for p-phenylenediamine (PPD) in hair-care products by thin layer chromatography (TCL). *Contact Dermatitis*. 2000;43:182–3.